

PITIOSE GÁSTRICA EM CANINO JOVEM

GASTRIC PYTHIOSIS IN A YOUNG CANINE

RESUMO

Pitiose gástrica canina é uma afecção crônica granulomatosa causada pelo pseudo-fungo *Pythium insidiosum* que ocasiona espessamento transmural do estômago. Relata-se um caso de gastrite fúngica em um canino dobermann de 1 ano, macho, atendido no Hospital Veterinário da Universidade Federal do Mato Grosso, campus Sinop-MT, com sinais clínicos de diarreia escura intermitente, regurgitação, êmese e anorexia progressiva por cerca de três meses. No exame ultrassonográfico, observou espessamento gástrico difuso. Devido ao prognóstico ruim, foi realizado eutanásia. Na macroscopia, havia espessamento difuso da parede do estômago e petéquias multifocais por toda a mucosa. Na microscopia havia acentuado infiltrado inflamatório granulomatoso por toda a submucosa e muscular. Foi realizado coloração de metenamina nitrato de prata de Grocott (GMS), com evidência de hifas cenocíticas, raras septação e diâmetro de 6-10µm. A confirmação do diagnóstico e identificação do agente foi realizado através Imuno-histoquímica com anticorpo primário para *Pythium insidiosum*.

PALAVRAS-CHAVES: Gastrite crônica, pitiose, canino.

SUMMARY

Canine gastric pythiosis is a chronic granulomatous infection caused by the insidious pythi fungus that causes stomach thickening. We report a case of fungal gastritis in a 1-year-old male progressive Doberman canine treated at the Veterinary Hospital of the Federal University of Mato Grosso, Sinop-MT campus, with clinical signs of intermittent diarrhea, regurgitation, vomiting and anorexia for about three months. On ultrasound examination, diffuse gastric thickening was observed. Due to the poor prognosis, euthanasia was performed. Macroscopically, there was diffuse thickening of the stomach wall and multifocal petechiae throughout the mucosa. On microscopy, there was a marked granulomatous inflammatory infiltrate throughout the submucosa and muscle. Production of Grocott silver nitrate methenamine (GMS) was performed, with evidence of cenocytic hyphae, rare septation and diameter of 6-10µm. Confirmation of the diagnosis and identification of the agent was performed through Immunohistochemistry with primary antibody to *Pythium insidiosum*.

KEY-WORDS: Chronic gastritis, pythiosis, canine.

INTRODUÇÃO

A pitiose gástrica canina é uma afecção crônica granulomatosa causada pelo oomiceto aquático ou “pseudo-fungo” zoospórico *Pythium insidiosum*, que pertence ao reino Stramenopila, filo *Oomycota*, família *Pythiaceae* e gênero *Pythium* (MENDONZA et al., 2005). É um micro-organismo que está presente em água parada e seu ciclo biológico depende de produção de hifas em tecido vegetal ou animal através da forma infectante zoospórica que fica livre na água (SANTURIO et al., 2006).

O *P. Insidiosum* tem distribuição mundial, é relatado na América do Norte, América do Sul, alguns países da união europeia, Sudeste asiático, Oceania e África (SANTURIO et al., 2006). No Brasil, ocorre em diversas regiões geográficas, sendo relatado casos em Rio Grande do Sul, Paraná, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Goiás, São Paulo, Rio de Janeiro, Minas Gerais, Espírito Santo, Pará, Bahia, Sergipe, Pernambuco, Paraíba e Ceará, onde se observa climas tropicais, subtropicais e temperados (LEAL et al., 2001. GROOTERS et al., 2003 SANTURIO et al., 2006). Nessas zonas climáticas encontra-se temperaturas entre 30 e 40°C e água acumulada em açudes e lagoas favorecendo o seu desenvolvimento (MILLER et al, 1982). Acomete diversas espécies de animais domésticos, selvagem e humanos (VANITTANAKOM et al., 2004. MARTINS et al., 2012). Após os equinos, os caninos são a segunda espécie mais acometida (LEAL et al, 2001). Nota-se maior prevalência em cães jovens, de grande porte e oriundos de áreas alagadas ou rural (FOIL et al., 1984).

Em caninos, as lesões ocasionadas pelo oomiceto são descritas na pele, tecido subcutâneo e gastrointestinal, cuja a última forma tem maior prevalência. (RODRIGUES et al., 2006. HUNNING et al., 2010. FRADE et al., 2017). As lesões gastrointestinais se caracterizam por espessamento da parede do intestino e do estômago, devido a intensa reação granulomatosa pela presença do patógeno (TROST et al., 2009). Ao exame físico, é comum sentir massa palpável em região abdominal semelhante a massa tumoral (LEAL et al., 2001; SANTURIO et al., 2006).

Os zoósporos possuem quimiotaxia com a pele e quando os animais entram em ambiente favorável ao seu crescimento, acabam sendo expostos a infecção através de pequenas lesões cutâneas (MENDOZA et al,1996). O mecanismo de infecção gastroentérica em caninos ainda é desconhecida, mas sugere-se que seja através de ingestão de água contaminada com zoósporos livres de *P. insidiosum* que penetram a camada da submucosa através de lesões preexistente na mucosa, porém não há evidencias científicas que comprove essa hipótese (MILLER 1985, GROOTERS 2003).

Os caninos acometidos pela forma gastrointestinal manifestam dor abdominal, emagrecimento progressivo, vômito e inapetência (MENDOZA et al., 2003). O tratamento pode ser através de excisão cirúrgica, imunoterapia e antimicrobianos, porém a resposta vai depender da extensão da lesão e localização, imunidade do animal e resposta aos antifúngicos, pois o *P. Insidiosum* possui resistência a vários (HUMMEL et al., 2011. PEREIRA et al., 2013).

O diagnóstico é baseado nos aspectos clínicos e depende de achados da necropsia e histologia associado a exames complementares como imuno-histoquímica, reação de cadeia em polimerase (PCR), sorologia, uma vez que apenas as características morfológicas na histologia não são aceitas como diagnóstico conclusivo da identificação da espécie do patógeno. (MENDOZA et al., 1996). Nos diagnósticos diferenciais para pitiose gastrointestinal em caninos deve ser incluídos gastrenterite eosinofílica, enterite granulomatosa regional, corpo estranho gastrintestinal, intussuscepção e neoplasia intra-abdominal (MILLER 1985).

O objetivo deste trabalho é relatar as características anatomopatológicas e imuno-histoquímicas de um caso de pitiose gástrica em um canino jovem.

MATERIAL E MÉTODOS

Foi realizado exame necroscópico de um canino, macho, um ano de idade, da raça dobermann. Alterações macroscópicas foram anotadas e fotografadas e fragmentos de tecidos foram coletados, fixados em formolína a 10%, e processados pelas técnicas histológicas rotineiras (PROPHET et al. 1992), cortadas na espessura de 3-5µm, coradas pela hematoxilina e eosina (HE) e observados em microscopia óptica. Para análise de morfologia do agente foram realizadas colorações especiais de prata metenamina de Grocott (GMS) em secções do estômago.

A técnica de IHQ foi realizada em secções de estômago com anticorpo primário policlonal anti-*Pythium insidiosum* utilizando o complexo estreptavidina-peroxidase e cromógeno 3,3 diaminobenzidina (DAB). Como controle positivo, foram utilizados corte histológico de caso confirmado de pitiose e como controle negativo, as mesmas secções foram utilizadas, com substituição do anticorpo primário por Phosphate Buffered Saline (PBST).

RESULTADOS

Foi encaminhado para o Laboratório de Patologia Animal do Hospital veterinário da Universidade Federal do Mato Grosso, Campus Sinop (HOVET-UFMT) um canino, macho, um ano de idade, dobermann, com escore corporal caquético. Segundo histórico relatado pelo tutor, o animal foi adotado com sete meses de idade, sem conhecimento de como e onde foi criado anteriormente. Desde a adoção o animal já apresentava diarreia escura intermitente, regurgitação, êmese e anorexia progressiva (aproximadamente três meses). Em atendimento

clínico foi submetido a terapia com protetores gástricos, antieméticos, e vermífugos, porém sem resposta ao tratamento. Foi submetido a exame ultrassonográfico de abdômen, com observação de espessamento da parede gástrica. A eutanásia foi realizada devido ao prognóstico ruim e a não resposta ao tratamento medicamentoso.

Ao exame de necropsia, macroscopicamente, na cavidade abdominal havia aumento acentuado do estômago com espessamento transmural difuso acentuado, medindo 1,4 cm de espessura, acinzentada, firme, com pontos multifocais amarelados. A mucosa estava esbranquiçada com pontos enegrecidos a avermelhados (petéquias) multifocais, com superfície irregular, firme (Figura 1). Ao corte na curvatura maior, notou-se diminuição acentuada de luz estomacal. Adjacente havia aumento acentuado dos linfonodos gástrico, esplênicos e hepático. A mucosa do intestino delgado apresentava leve aumento de espessura e difusamente avermelhada. Na cavidade torácica, esôfago apresentava dilatação difusa de lúmen (megaesôfago) em toda sua extensão, medindo 2,9 cm de diâmetro, com moderada quantidade de conteúdo em seu interior.

Na Histopatologia, havia acentuado infiltrado inflamatório granulomatoso em mucosa submucosa e muscular do estômago, composta por macrófagos epitelióides, plasmócitos e grande quantidade de células gigantes multinucleadas contendo de 5-10 núcleos (Figura 2 A,B.). Multifocalmente em meio a inflamação haviam áreas de necrose e múltiplas imagens negativas compatíveis com hifas fúngicas cenocíticas, que em coloração especial de GMS, foram coradas e evidenciadas hifas com ramificações irregulares, raras septação e diâmetro de 6-10µm (Figura 1, C). Posteriormente com a técnica de IHQ, foi possível observar marcação positiva para *Pithyium Insidiosum* (Figura 2, D), confirmando o diagnóstico de pitiose gástrica.

DISCUSSÃO

O diagnóstico de pitiose gástrica foi realizado nesse caso baseado nos achados anatomopatológicos e confirmado através da imunohistoquímica com a marcação do agente *Pithyium insidiosum* nas lesões gástricas. Esta doença tem sido relatada com maior frequência em cães com menos de três anos, macho e de grande porte (GROOTERS et al., 2003. TROST et al., 2009), características observadas neste relato.

Devido à falta de histórico dos primeiros meses de vida do animal, não foi possível identificar o local e as condições em que ocorreram a infecção. Entretanto sabe-se que há a necessidade de que o animal tenha acesso a áreas alagadas ou com altos índices de água retida devido as características de reprodução do oomiceto. Todavia, há uma proporção de caninos relatados que não possuíam ambientes com essas características, sendo criados em regiões

urbanas, com baixa umidade ou temperatura e apresentaram a enfermidade (GROOTERS 2003. BERRYESSA et al. 2008).

Os sinais clínicos e lesões macroscópicas e microscópicas observadas nesse caso foram compatíveis com outros relatos de pitiose gastrointestinal em cães (MILLER et al., 1985. MENDOZA et al, 2005. RODRIGUES et al, 2006. BERRYESSA et al., 2008. TROST et al, 2009. FRADE et al, 2017). Diarreia, emagrecimento progressivo, inapetência, vômito e massa abdominal palpáveis são habitualmente observados em animais acometidos com a forma gastrointestinal da pitiose (MENDOZA et al., 2005. TROST et al, 2009). Tais alterações ocorrem devido ao aumento da espessura da parede do estômago ocasionado pela inflamação granulomatosa que ocasiona obstrução parcial ou total do lumém gástrico, e conseqüentemente causa diminuição do fluxo dos alimentos (WRAY et al., 2006). Os linfonodos regionais aumentados (linfadenomegalia) ao redor da lesão é associado a uma reação hiperplásica e inflamatória provocado pelo patógeno (SANTURIO et al., 2006).

Neste caso observou-se dilatação esofágica difusa o que ocasionou um megaesôfago adquirido devido à obstrução parcial do esfíncter gastresofágico provocado pelo aumento transmural crônico do estômago. Isso se deve ao fato de o esôfago dilatar gradativamente, à medida que o alimento se acumula por não conseguir passagem pelo local de compressão (SHERDING et al., 2013).

O uso da radiografia e a ultrassonografia tem se mostrado eficiente para detectar espessamento segmentar da parede gástrica ou intestinal e quando associado a sinais clínicos e epidemiologia é possível obter diagnóstico presuntivo de pitiose gástrica, conforme observado por Berryessa et al., 2008 e Pereira et al., 2013. A maioria dos diagnósticos de infecção por *P. Insidiosum* só é realizado após a morte do animal (RORDRIGUES et al., 2006) e a biópsia através da endoscopia não se torna viável pois permite a coleta apenas da mucosa e lâmina própria do estômago e o patógeno infiltra em submucosa e muscular (LEAL et al., 2001). Neste caso, a suspeita clínica era de neoplasia gástrica, não havendo suspeita de pitiose gástrica canina, já que essa não é uma doença comum e há poucos relatos no Estado de Mato Grosso (SIFUENTES, 2018).

Alguns autores enfatizam que as lesões histológicas da pitiose em cães são muito semelhantes às observadas em infecções causadas por outros oomicetos, como *Lagenidium* spp. e os fungos zigomicetos *Basidiobolus* Spp e *Conidiobolus* Spp (GROOTERS et al., 2003). Por esse motivo a técnica da IHQ foi essencial para confirmação do diagnóstico neste caso e conforme comprovado por Brown et al. (1988), autor da metodologia da IHQ, há ausência de

reação cruzada com fungos dos gêneros *Conidiobolus*, *Basidiobolus* e o oomiceto *Lagenidium*, demonstrando alta especificidade e sensibilidade para *Pythium Insidiosum*.

O tratamento medicamentoso para pitiose gástrica em cães não é efetivo, pois o patógeno não apresenta ergosterol em sua parede celular, substância alvo da grande maioria dos antifúngicos (TROST et al., 2009). Como não houve suspeita clínica de pitiose gástrica, foi realizado tratamento para verminose e de suporte para os sintomas que animal apresentava. Devido a condição clínica ter piorado gradativamente e a falta de resposta ao tratamento foi realizada eutanásia. O prognóstico da infecção tende a ser ruim, pois o sucesso do tratamento depende do tamanho, tempo, localização da lesão, idade e estado nutricional do animal (MENDOZA et al., 1997), sendo muito frequentemente, relatado insucesso ou recidiva (GROOTERS et al., 2003. TROST et al., 2009. FRADE et al., 2017). Na maioria dos casos, o tratamento é a ressecção cirúrgica da massa infectada, com margens de três a quatro centímetros, quando possível (RODRIGUES et al., 2006. BERRYESSA et al., 2008).

Caninos jovens que manifestam quadro crônico de inapetência, perda de peso, vômito, diarreia e massas palpáveis em abdômen e oriundos de ambientes rurais com acesso a áreas com acúmulo de água ou advindos de área urbana, devem ter a inclusão da pitiose gastroentérica como diagnóstico diferencial, após descartado hipóteses de neoplasia, inflamação crônica idiopática ou corpo estranho (FRADE et al, 2017).

CONCLUSÃO

Com base nos dados epidemiológicos, clínicos, achados de necropsia, histopatológico e imuno-histoquímica foi possível constatar gastrite crônica por *Pythium Insidiosum*. A ocorrência dessa enfermidade é pouco frequente na rotina de clínica médica veterinária e deve ser considerada diagnóstico diferencial para doenças que cursam com lesões gastroentericas crônicas, diarreia, êmese intermitente e anorexia.

REFERÊNCIAS

- ALFARO, A.A.; MENDOZA, L. Four cases of equine bone lesions caused by *Pythium insidiosum*. **Equine Veterinary Journal**, v. 22, p. 295-297, 1990.
- BERRYESSA N. A.; MARKS S. L.; PESAVENTO P. A.; KRASNANSKY T.; YOSHIMOTO S. K.; JOHNSON E. G.; GROOTERS A. M. Gastrointestinal pythiosis in 10 dogs from California. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 22, p. 1065-1069, 2008.
- BROWN C. C.; MCCLURE J. J.; TRICHE P.; CROWDER C.; Use of immunohistochemical methods for diagnosis of equine pythiosis. **American Journal of Veterinary Research**, v. 49, n.11, p.1866-1868, 1988.
- FRADE M. T. S.; DINIZ P. V. N.; OLINDA R. G., MAIA L. A.; GALIZA G. J. N. Pythiosis in dogs in the semiarid region of Northeast Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 37, n. 5, p. 485-490, 2017.
- FOIL, C. S. O.; SHORT, B. G.; FADOK, V. A.; KUNKLE G. A. A report of subcutaneous pythiosis in five dogs and a review of the etiologic agent *Pythium* spp. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v.20, p. 959-966, 1984.
- GOAD, M. E. P. Pulmonary pythiosis in a horse. **Veterinary Pathology**, v. 21, n. 2, p.261-262. 1984.
- GROOTERS, A. M. Pythiosis, lagenidiosis, and zygomycosis in small animals. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**. v.33, n.4, p. 695-720, 200.
- HUNNING, P. S.; RIGON, C. T.; PAVARINI, A.; SAMPAIO, D. S., BEHEREGARAY, W. K.; DRIEMEIER, D. Obstrução intestinal por *Pythium insidiosum* em um cão: relato de caso. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 62, n. 4, p. 801-805, 2010.
- HUMMEL, J.; GROOTERS A.; DAVIDSON G.; JENNINGS S.; NICKLAS J.; BIRKENHEUER A. Success management of gastrointestinal pitiosis in a dog using itraconazole, terbinafine, and mefenoxam. **Medical Mycology**, v. 49, p. 539–542, 2011
- LEAL A.T.; LEAL A. B. M.; FLORES E. F.; SANTURIO J. M. Pitiose: revisão bibliográfica. **Ciência Rural**, v. 31, n. 4, p. 735-743, 2001.
- MARTINS T. B.; KOMMERS, M. E.; TROST, M. A.; INKELMANN, R. A.; FIGHERA, A. L.; SCHILD, A. Comparative Study of the Histopathology and Immunohistochemistry of Pythiosis in Horses, Dogs and Cattle. **Journal of Comparative Pathology**, v. 146 (2–3), p. 122-131, 2012.
- MENDOZA L.; MANDY W.; GLASS R.. An improved *Pythium insidiosum*-vaccine formulation with enhanced immunotherapeutic properties in horses and dogs with pythiosis. **Vaccine**, v.21, p. 2797-2804, 2003.
- MENDOZA L.; ARIAS M.; COLMENAREZ V; PERAZZO Y. Intestinal canine pythiosis in Venezuela confirmed by serological and sequencing analysis. **Mycopathologia**, v.159, n 2, p. 219-222, 2005.
- MENDOZA L.; AJELLO L.; MCGINNIS M. R. Infections caused by the Oomycetous pathogen *Pythium insidiosum*. **Journal of Medical Mycology**, v. 6, n. 4, p. 151-164, 1996.

MILLER R. I.; CAMPBELL R. S. F. Clinical observations on equine phycomycosis. **Australian Veterinary Journal**, v. 58, p. 221-226, 1982.

MILLER R.I. Gastrointestinal phycomycosis in 63 dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 186, n. 5, p. 473-478, 1985.

PROPHET E. B.; MILLS B.; ARRINGTON J.B.; SOBIN L. H. Laboratory Methods in Histotechnology. **American Registry of Pathology, Armed Forces Institute of Pathology, Washington, DC**, p. 279, 1992.

RODRIGUES, D.L.; GRAÇA, C.; FONTOURA, A.S.; CAVALHEIRO, A. HENZEL, S.E. SCHWENDLER, ALVES S.H.; SANTURIO J.M. Intestinal dog pythiosis in Brazil. **Journal de Mycologie Médicale**, v. 16, n. 1, p. 37-41, 2006.

SANTURIO, J.M.; ALVES, S.H.; PEREIRA, D.B.; ARGENTA, J.S. Pitiose: uma micose emergente. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 34, n.1, p.1-14, 2006.

SHERDING, R.G. Esophagus: diagnostic evaluation. In: WASHABAU, R.J.; DAY, M.J. (eds.) **Canine & Feline Gastroenterology**. United States of America: Elsevier Saunders, 2013. 573 – 580.

SIFUENTES, M. V. Pitiose gastrintestinal canina: relato de caso. Universidade Federal de Mato Grosso, Faculdade de Medicina Veterinária, Cuiabá, 2018. 19 f. Tese, (Especialização em Residência Uniprofissional em Medicina Veterinária), 2018.

TROST M. E.; GABRIEL A. L.; MASUDA E. K.; FIGHERA R.A.; IRIGOVEN L.F; KOMMERS G.D. Aspectos clínicos, morfológicos e imuno-histoquímicos da pitiose gastrintestinal canina. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 29, n.8, p. 673-679, 2009.

VANITTANAKOM, N.; SUPABANDHU, J.; KHAMWAN, C.; PRAPARATTNANAPAN, J.; THIRACH, S.; PRASERTWITAYAKIJ, N.; LOUTHRENOO W.; CHIEWCHANVIT S.; TANANUYAT, N. Identification of emerging human-pathogenic *Pythium insidiosum* by serological and molecular assay-based methods. **Journal of clinical microbiology**, v. 42, n.9, p. 3970–3974, 2004.

WRAY, J. D.; SPARKES, A. H. Use of radiographic measurements in distinguishing myasthenia gravis from other causes of canine megaesophagus. **Journal of Small Animal Practice, Oxford**, v.47, n.5, p.256-263, 2006.



Figura 1: Gastrite crônica por *Pythium Insidiosum* em um canino jovem. Espessamento transmural do estomago com pontos necróticos amarelados multifocais. Mucosa irregular, esbranquiçada com pontos enegrecidos a avermelhados (petéquias).

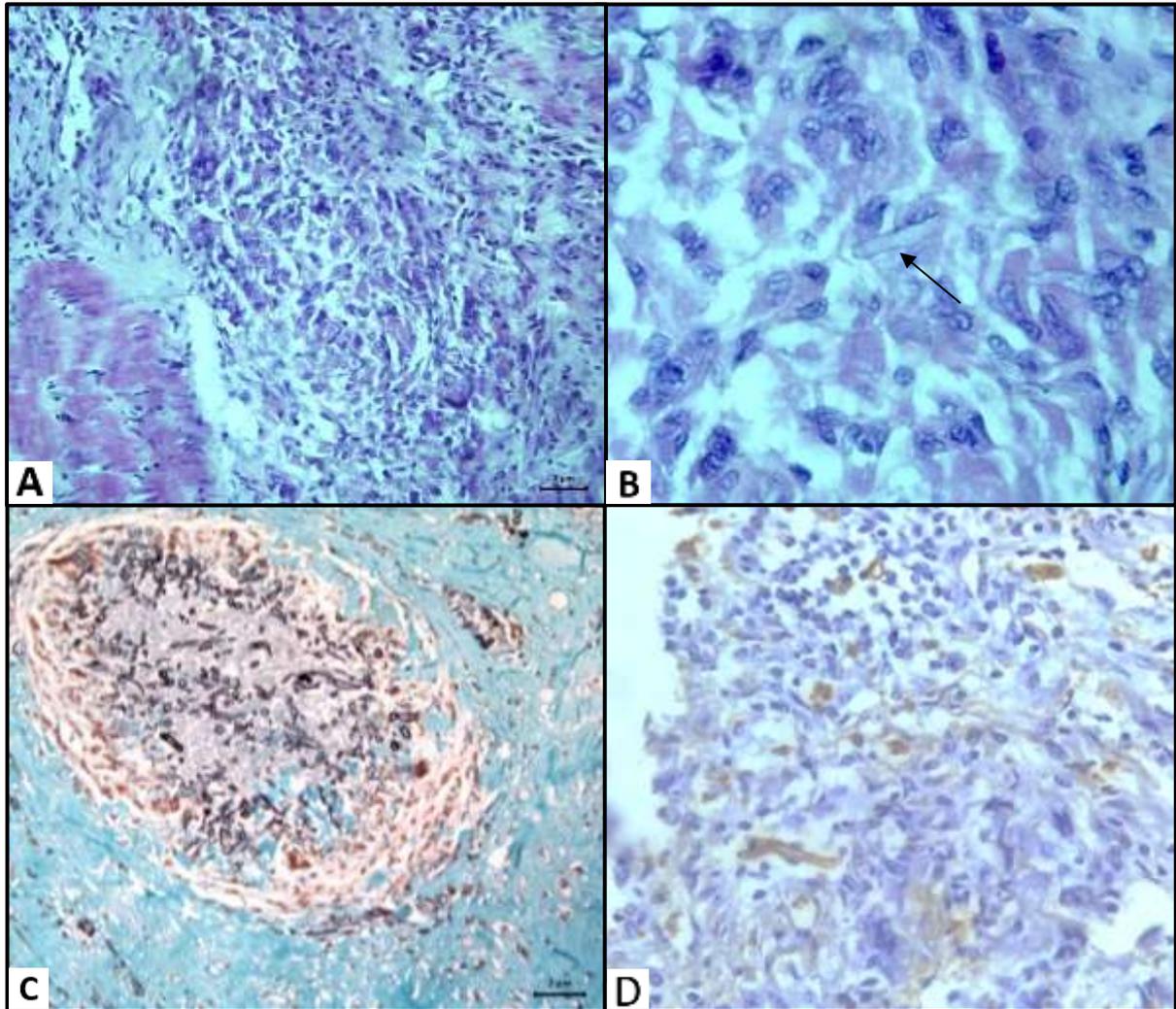


Figura 2: Gastrite crônica por *Pythium Insidiosum* em um canino jovem. Estômago. **A:** Acentuada reação granulomatosa composta por células epitelióides, grande quantidade de células gigantes multinucleadas e fibroblastos. HE. Obj. 20x. **B:** Imagem negativa de *Pythium Insidiosum* em meio a inflamação granulomatosa (seta). HE. Obj.40x. **C:** Numerosas hifas espessas de *Pythium Insidiosum* coradas de preto por metenamina nitrato de prata de Grocott. GMS. 20x.**D:** Imunomarcção de hifas cenocítica de *Pithyum insidiosum* (coloração marrom).IHQ. 20x.