

Pitiose cutânea equina de localização atípica tratada topicamente com solução de anfotericina B e DMSO

Topical Treatment Using Amphotericin B and DMSO for an Atypically Located Equine Cutaneous Pythiosis

Deborah Penteado Martins Dias¹, Renata Gebara Sampaio Dória², Rodrigo Norberto Pereira³,
Paulo Alécio Canola⁴ & Paula Alessandra Di Filippo⁵

ABSTRACT

Background: Cutaneous lesions by *Pythium insidiosum* infection are commonly observed in horses, especially in those living at flooded environments. Equine pythiosis is characterized by the development of tumoral masses that are frequently located at distal limbs, ventral abdomen, thorax, breast and face. The lesions are usually granulomatous, serosanguineous and ulcerated, most often destroyed by self-mutilation due to the intense pruritus. The proposed treatment includes surgical excision followed by antifungal drugs administration, which can be done systemically or topically. Amphotericin B and dimethyl sulfoxide (DMSO) in association has been successfully used for cutaneous pythiosis topical treatment due to the DMSO property to carry any substance through plasmatic membranes.

Case: The present report concerns a 12-year-old mixed breed gelding presenting with self-mutilation of a tumoral mass located at the left flank. The owners reported that the horse had initially presented a small wound that had evolved to a 20-cm in diameter mass in 4 weeks. Tissue samples were collected, processed and stained by the Gomori's methenamine silver (GMS) method. The histopathological analysis revealed *Pythium insidiosum* hyphae in a granulomatous tissue, especially located at peripheral region, where kunkers were present. Surgical excision of the mass followed by cauterization was indicated as initial treatment, and due to financial reasons, the owners elected only the topical antifungal therapy to control the fungus infection after surgery. Flunixin meglumine was also administrated for five days aiming the control of pain and inflammation. The wound was cleaned with povidone-iodine solution and rinsed with a solution containing 50 mg of amphotericin B in 10 mL of sterile water and 10 mL of DMSO. This procedure was carried out twice a day. The wound healed fast due to an excellent centripetal epithelialization, and the horse was discharged after 64 days showing only 5% of the initial wound area. The owner reported by telephone the complete healing and hair growth 10 days after discharge.

Discussion: Despite the atypical location of the tumoral lesion described at the present report, the history and clinical manifestations, especially the intense pruritus, showed similarity with other characteristic reports of equine cutaneous pythiosis. The diagnosis was confirmed by the histopathological examination showing hyphae structures, as described to be evidences of the presence of *Pythium insidiosum* in the tissue. The surgical procedure was the first step to provide remission of clinical signs, and one day after surgery the pruritus disappeared. After excision of the granulomatous tissue and cauterization, daily topical administration of amphotericin B associated with DMSO was effective in destroying the infectious agent, as observed by the excellent epithelialization. A pink granulation tissue grew up providing an ideal surface for epithelial migration and the healing process progressed quickly. Centripetal epithelialization reduced the wound area until 3% of the initial area in 64 days of treatment, when the remaining wound was found almost completely healed and covered with hair. At the present report, the horse presenting pythiosis was only topically treated. The recommended therapy using amphotericin B and DMSO solution was effective, economically viable and low risk, considering that the systemic antifungal therapy usually suggested is expensive and extremely nephrotoxic. The atypical location of the lesion on the left flank shows that any anatomical region can be affected by the fungus, since the conditions for its development were present.

Keywords: amphotericin B, dimethyl sulfoxide, flank, horse, pythiosis.

Descritores: anfotericina B, dimetilsulfóxido, equino, flanco, pitiose.

Received: June 2012

www.ufrgs.br/actavet

Accepted: August 2012

¹Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV), Universidade Estadual Paulista (Unesp), Jaboticabal, SP, Brazil. ²Departamento de Zootecnia, Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos (FZEA), Universidade de São Paulo (USP), Pirassununga, SP, Brazil. ³Departamento de Ciências Veterinárias (DCV), Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal da Paraíba (UFPB), Areia, PB, Brazil. ⁴Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia (EMVZ), Universidade Federal do Tocantins (UFT), Araguaína, TO, Brazil. ⁵Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF), Campos dos Goytacazes, RJ, Brazil. CORRESPONDENCE: D.P.M. DIAS [deborah_dias@hotmail.com - Tel: +55 (16) 32092626]. Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane s/n. CEP 14884-900 Jaboticabal, SP, Brazil.

INTRODUÇÃO

A pitiose é uma doença de manifestação principalmente cutânea em equinos, ocorrendo em áreas tropicais, subtropicais e temperadas [7,13,20,28]. A enfermidade é causada pelo oomiceto zoospórico *Pythium insidiosum* [6]. Este microorganismo filamentosso encontra-se em regiões pantanosas de temperatura superior a 25°C [9,12]. A transmissão é pela penetração de zoósporos por soluções de continuidade da pele, acometendo mais comumente a porção distal dos membros, ventral do abdômen, peito e face [5]. Observa-se granulomas eosinofílicos, ulcerados, com secreção serosanguinolenta e nódulos necróticos amarelo-acinzentados de consistência arenosa denominados *kunkers* [16,18]. Os equinos apresentam dor, apatia, inapetência, perda de peso e prurido intenso que gera auto-mutilação [5,12,16,20].

O tratamento mais utilizado é a associação da excisão cirúrgica com administração de antimicóticos [29,30]. O *Pythium insidiosum* não apresenta esteróis de membrana, o que lhe confere resistência à maioria dos antimicóticos [7]. Além disso, antifúngicos sistêmicos são pouco eficazes, nefrotóxicos e de custo elevado. Os fármacos utilizados são a anfotericina B, cetoconazol, miconazol, fluconazol, itraconazol e compostos iodínicos (iodetos de potássio e sódio) [15,30]. Considerando tais limitações recomendou-se a anfotericina B tópica no tratamento das queratomicoses pela penetração rápida no tecido e menor toxicidade [14]. Posteriormente, se propôs o uso tópico de soluções de anfotericina B em dimetilsulfóxido (DMSO) por aumentar a absorção [1,24]. O Objetivo deste relato é descrever um caso de pitiose equina de localização atípica tratado com sucesso por excisão cirúrgica e terapia tópica com solução de anfotericina B e DMSO.

RELATO DO CASO

Um equino macho, SRD, de 12 anos e 420 Kg, foi encaminhado para atendimento Veterinário apresentando uma massa de formato circular, de aproximadamente 20 cm de diâmetro e 6 cm de altura em relação à borda cutânea normal, localizada no flanco esquerdo. O proprietário relatou que o animal vivia em pasto com área alagadiça e que a lesão se iniciou com pequeno ferimento havia 4 semanas, evoluindo de forma rápida. O único tratamento realizado foi aplicação de pomada cicatrizante e repelente¹. Relatou ainda diminuição de apetite, emagrecimento e que a ferida

era intensamente pruriginosa levando à auto-mutilação. Ao exame físico de admissão, o equino apresentava comportamento alerta e agressivo, frequência cardíaca de 48 batimentos por minuto, frequência respiratória de 27 movimentos respiratórios por minuto, temperatura retal de 38,5°C, mucosas aparentes de coloração rósea e tempo de preenchimento capilar da mucosa oral de 2 segundos. Observou-se ainda extenso edema abdominal ventral, devido ao qual se prescreveu hidroterapia por 20 min a ser realizada duas vezes ao dia até o desaparecimento do edema. A lesão inicial apresentava-se fétida, granulomatosa, ulcerada, com secreção serosanguinolenta (Figura 1) e presença de kunkers (Figura 2). Na suspeita de pitiose, indicou-se excisão cirúrgica do tecido granulomatoso e cauterização. Após o atendimento e determinação da conduta a ser seguida, o animal foi alocado em uma baia individual para jejum, onde mesmo de buçal para evitar mordidas continuou a se auto-mutilar friccionando-o na ferida (Figura 3), sendo então contido com cabresto e amarrado até o momento da cirurgia. O procedimento foi realizado com o animal inicialmente em posição quadrupedal, contido por tronco e anestesiado segundo protocolo de neuroleptoanalgesia descrito a seguir: tranquilização com acepromazina² na dose de 0,1 mg/kg de peso corpóreo por via intramuscular (IM); passados 20 min, administrou-se cloridrato de petidina³ na dose de 2 mg/kg, IM. Realizou-se anestesia local infiltrativa com cloridrato de lidocaína 2% sem vasoconstritor⁴, no tecido muscular e subcutâneo ao redor da lesão, administrando-se 200 mL totais do fármaco. Verificada a eficácia do procedimento anestésico, iniciou-se a excisão do tecido cutâneo da periferia da lesão, incluindo margem de segurança de 3 cm (Figura 4A), até a visibilização de tecido muscular íntegro. Após a excisão, administrou-se éter gliceril guaiacol⁵ para induzir o decúbito e cloridrato de cetamina⁶ na dose de 2 mg/kg para indução de anestesia geral. Tal procedimento foi realizado visando minimizar qualquer sensação dolorosa que o animal pudesse vivenciar pela cauterização com o ferro em brasa. Toda a superfície da ferida foi cauterizada, iniciando-se pelo centro até atingir a periferia. Imediatamente após a excisão cirúrgica e cauterização, a ferida apresentou-se, limpa, plana e livre de secreções (Figura 4B), com aproximadamente 490 cm² em área. Finalizado o procedimento, o animal recuperou-se da anestesia de forma tranquila. Posteriormente ao ato cirúrgico,

realizou-se a administração de flunixin meglumine⁷ na dose de 1,1 mg/kg por via intravenosa, duas vezes ao dia por cinco dias, visando o controle da dor e inflamação pós-cirúrgica. O tratamento preconizado para a pitiose foi essencialmente tópico, incluindo limpeza da ferida com iodo povidine aquoso⁸, irrigação com solução fisiológica seguida de solução contendo 50

mg de anfotericina B⁹, 10 mL de água estéril e 10 mL de DMSO¹⁰. O protocolo descrito foi realizado duas vezes ao dia, por 64 dias. O diagnóstico de pitiose foi confirmado posteriormente pelo exame histopatológico devido à presença de hifas fúngicas no tecido colhido da lesão (Figura 5A) observadas em profusão na periferia dos *kunkers* (Figura 5B).



Figura 1. Aspecto macroscópico de lesão granulomatosa ocasionada pela infecção por *Pythium insidiosum* no flanco esquerdo de equino. Observa-se a presença de secreção serosanguinolenta e extenso edema abdominal ventral.

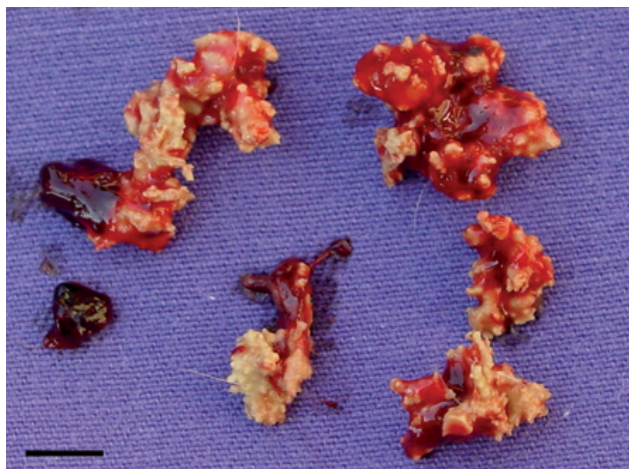
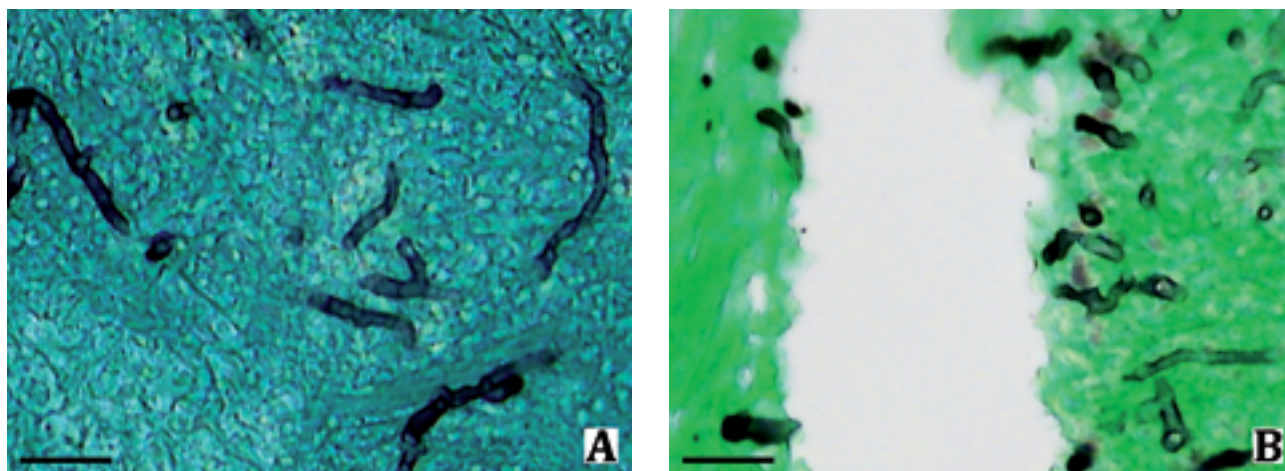
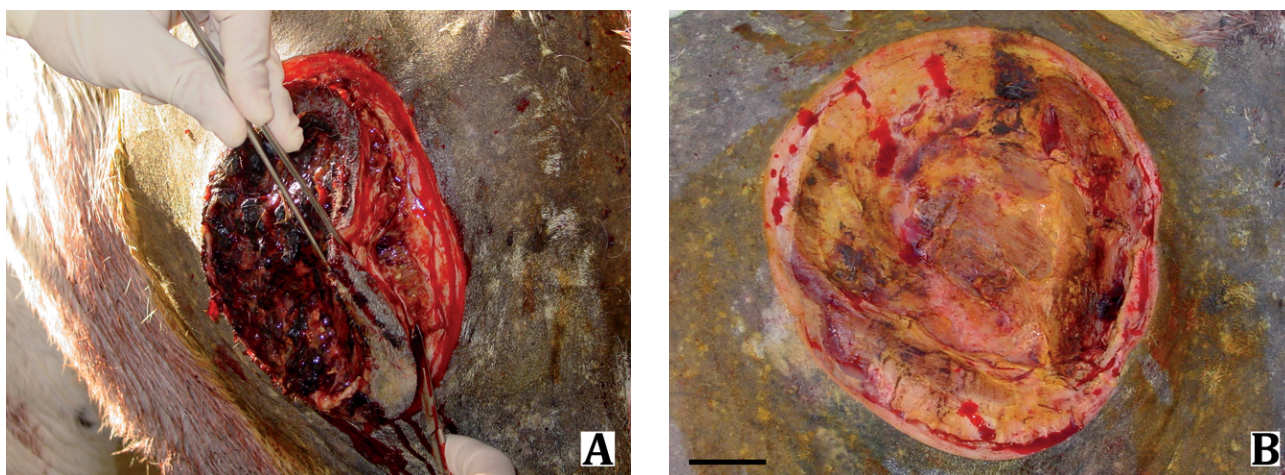


Figura 2. *Kunkers* colhidos de lesão ocasionada pela infecção por *Pythium insidiosum* em equino [Barra de escala = 2 cm].



Figura 3. Auto-mutilação em equino apresentando prurido intenso na lesão ocasionada pela infecção por *Pythium insidiosum*. Apesar da proteção com o buçal para evitar mordidas, o animal continuou a se auto-mutilar por fricção.



Passados 20 dias do procedimento cirúrgico, o edema ventral desapareceu, a ferida regrediu em sentido longitudinal, tomando forma oval, com aproximadamente 20 cm de altura por 14 cm de largura e 252 cm² em área. A superfície da lesão encontrava-se com presença de tecido de granulação de aspecto liso e brilhante, além de crescimento centrípeto da borda epitelial (Figura 6A). A ferida continuou regredindo de forma constante e 30 dias após a intervenção apresentava formato mais alongado, com aproximadamente 18 cm de altura por 11 cm de largura e 178 cm² em área, incluindo ampla extensão de epitelização periférica (Figura 6B). O mesmo aspecto, entretanto com maior retração cicatricial (aproximadamente 9

cm de altura por 7 cm de largura e 57 cm² em área), foi observado 45 dias após a cirurgia (Figura 6C). Com 64 dias de tratamento as bordas epiteliais periféricas encontravam-se praticamente unidas, a ferida restante apresentava forma alongada (aproximadamente 7 cm de altura por 2 cm de largura e 13 cm² em área) (Figura 6D) e o animal recebeu alta apresentando somente 3% da ferida inicial em área superficial. A prescrição de alta, a ser realizada duas vezes ao dia, indicou limpeza da área não epitelizada com solução fisiológica seguida de aplicação de pomada anti-infecciosa e repelente¹¹, sendo que 10 dias após da alta, o proprietário relatou por telefone cicatrização completa e crescimento dos pelos.

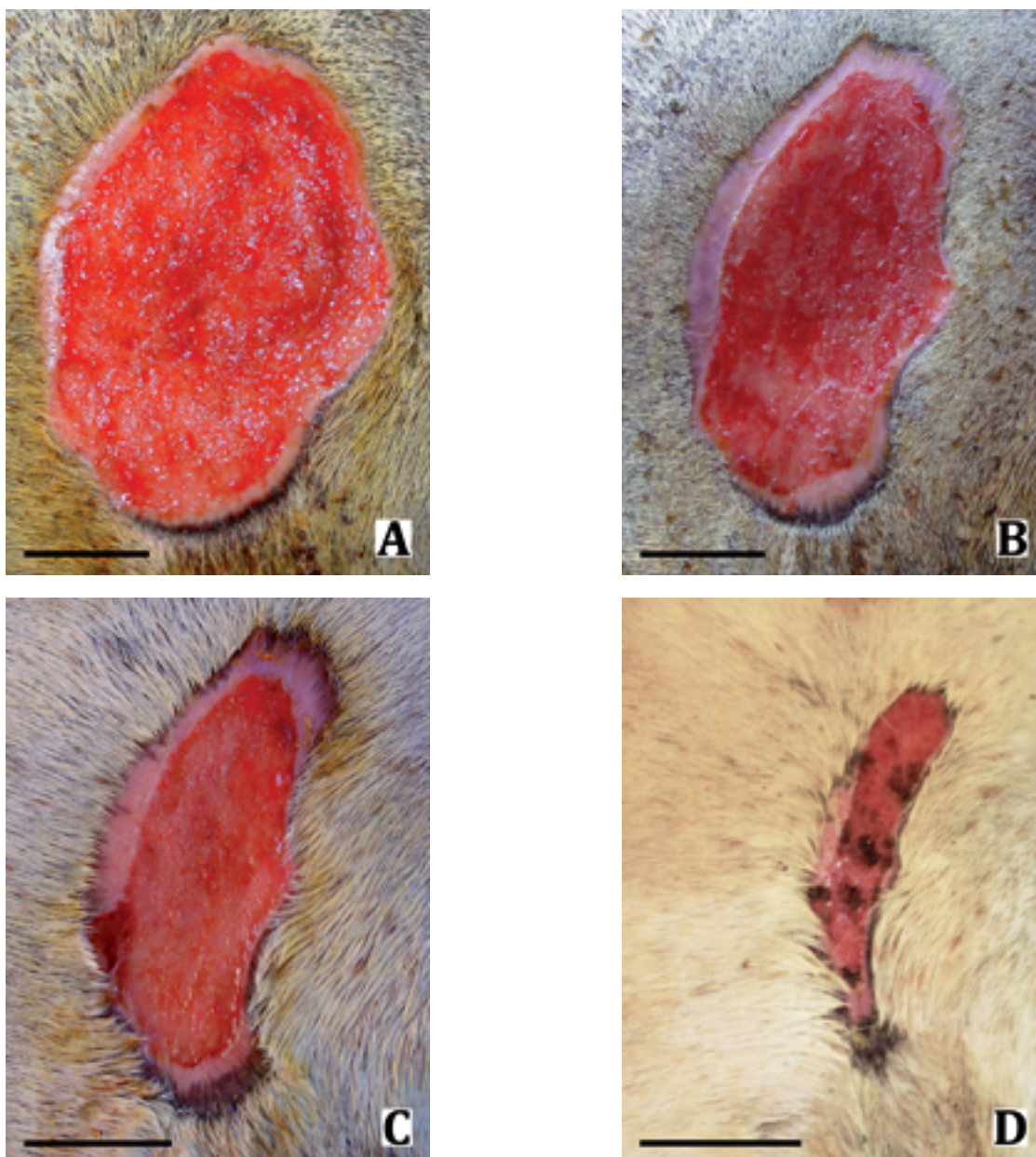


Figura 6. Aspecto macroscópico após excisão cirúrgica de lesão granulomatosa ocasionada pela infecção por *Pythium insidiosum* no flanco esquerdo de equino, durante o período de tratamento tópico com solução de anfotericina B e DMSO. Observa-se crescimento centrípeto progressivo da borda epitelial e tecido de granulação de aspecto normal, liso e brilhante, sem evidências de infecção. **A.** 20 dias após excisão cirúrgica. **B.** 30 dias após excisão cirúrgica. **C.** 45 dias após excisão cirúrgica. **D.** 64 dias após excisão cirúrgica, observa-se áreas de tecido epitelial com pontos pigmentados recobrimdo quase que completamente a ferida [Barras de escala = 5 cm].

DISCUSSÃO

Neste trabalho relata-se um caso de pitiose cutânea em equino com histórico de habitar pasto com área alagadiça, ambiente considerado como predisponente para que ocorra a infecção pelo *Pythium insidiosum* [9,12]. Normalmente os proprietários dos animais procuram tratamento quando as feridas já apresentam caráter crônico, relatando que o surgimento foi repentino e com crescimento rápido das lesões [9],

como observado no presente relato durante a anamnese realizada com o proprietário do equino.

Sabe-se que a pitiose cutânea acomete mais comumente os membros ou as regiões do corpo mais próximas ao solo, que entram mais frequentemente em contato com o material vegetal submerso contaminado pelo “pseudo-fungo”. Ao adentrar os alagados para beber água ou se alimentar de capim, principalmente na época chuvosa, os equinos adquirem a doença. [19,29].

Sendo assim, vale ressaltar que o presente relato de caso difere da maioria das descrições relacionadas à localização das feridas de pitiose em equinos, já que a ferida granulomatosa encontrava-se na região do flanco esquerdo do animal. Embora de localização atípica, o histórico e a manifestação clínica, sobretudo a presença de prurido intenso, observados no equino deste estudo, apresentaram semelhança com outros relatos característicos de pitiose cutânea equina [3,4,20,22,26].

Após a análise histopatológica dos tecidos colhidos da ferida suspeita de pitiose, foram encontradas áreas de necrose com estruturas cilíndricas filamentosas (pseudo-hifas), de coloração verde-escura, paredes espessadas, com septos ramificados em ângulo de dimensão entre 2,5 a 8,5 µm de diâmetro. As pseudo-hifas encontravam-se localizadas principalmente nas margens da massa granulomatosa eosinofílica e nos *kunkers*, sendo evidenciadas por métodos histoquímicos com coloração argêntica. As evidências histopatológicas da presença do *Pythium insidiosum*, associado ao aspecto macroscópico da lesão e apresentação clínica, concluiu o diagnóstico de pitiose, assim como descrito por demais autores [11,20,23].

A pitiose causa prejuízos significativos na criação de equinos no Brasil pela gastos com tratamentos, possível perda da função locomotora nos casos graves ou ainda pela morte dos animais [12]. Uma vez diagnosticada, o tratamento deve ser imediato devido à rápida evolução das lesões. Caso os animais não sejam tratados no início da afecção, estes geralmente entram em debilidade progressiva, o que culmina com anorexia, fraqueza, decúbito irreversível e morte [3]. A causa do óbito é geralmente associada ao choque toxêmico causado pela infecção sistêmica secundária por bactérias gram negativas, associada à perda contínua de sangue e proteínas pela ferida [25,26]. À admissão, observou-se que o equino acometido pela pitiose apresentava-se magro, com costelas evidentes, apresentando pelos secos e ásperos. Após o início do tratamento específico, o animal foi ganhando peso, mudando as características de pelagem e escore corporal, o que demonstra a necessidade de diagnóstico rápido e início imediato do tratamento.

No presente relato, optou-se pela remoção cirúrgica do tecido de granulação exuberante e bordas cutâneas irregulares pelo fato do reparo epitelial das feridas se iniciar apenas na presença de um leito de granulação adequado, pois a existência de um calo

(borda elevada) é fator inibidor da mitose epitelial [8]. A epiteliação observada no período de tratamento foi excelente, concluindo-se que o procedimento cirúrgico foi eficaz em promover as condições necessárias para o recobrimento da ferida por pele íntegra. Recomenda-se nos casos de pitiose, que toda a área atingida deva ser excisada, o que muitas vezes pode ser difícil devido às estruturas anatômicas envolvidas [21]. Tal afirmativa se enquadra principalmente para lesões observadas nos membros, onde estruturas nobres como tendões e ligamentos encontram-se imediatamente sob a pele. No presente relato, devido à localização da lesão no flanco, área onde as camadas musculares da parede abdominal a fazem espessa, foi possível a excisão cirúrgica adequada sem maiores problemas. A termocauterização foi utilizada com sucesso no intuito de conter a hemorragia local após a excisão do extenso tecido granulomatoso.

Atualmente, descreve-se que a infecção por *Pythium insidiosum* pode ser tratada associando-se a excisão cirúrgica com a administração de fármacos antimicóticos via sistêmica, intralesional, tópica ou associando-se imunoterapia [12,13,27,30]. Sabe-se que a administração via sistêmica e via tópica concomitantes aumenta a eficácia do tratamento. Todavia, o uso de antimicóticos sistêmicos mostra-se pouco eficaz, uma vez que a infecção caracteriza-se por dificultar a difusão do fármaco do compartimento intravascular para agir localmente na lesão [10,31,32]. Devido a nefrotoxicidade dos agentes antifúngicos sistêmicos, recomenda-se a monitorização da função renal a cada 72 h, através de urinálise e concentração sérica de uréia e creatinina, bem como a verificação da hidratação [24]. Outrossim, há o risco de desenvolvimento de tromboflebite jugular decorrente da forte irritação endotelial que pode ser causada pela administração intravenosa de tais fármacos. Considerando ainda o elevado custo do tratamento medicamentoso sistêmico, o mesmo acaba se tornando inviável quando se pondera seus riscos e reais benefícios, contra o valor econômico de muitos equinos acometidos pela pitiose [15,21].

Devido ao montante a ser investido para tratamento do animal disponibilizado pelo proprietário, o caso em questão não permitiu a utilização de terapia sistêmica devido ao seu alto custo. Fez-se então a opção pelo tratamento exclusivamente tópico, associando-se o antimicótico anfotericina B com DMSO. O DMSO é um líquido orgânico, límpido,

incolor, ligeiramente oleoso, cuja molécula (C_2H_6SO) é anfipática com grande domínio polar. A presença de dois grupos metil apolares, resulta em solubilidade tanto em meio aquoso como em meio orgânico. O DMSO possui ainda a capacidade de penetrar com extrema facilidade em membranas celulares e intracelulares, o que se deve essencialmente a sua natureza polar, ao pequeno tamanho de sua molécula e a sua estrutura polimolecular compactada [17]. Devido a esta intensa capacidade de penetração na maioria das células, muitas substâncias quando associadas ao DMSO podem ser carregadas através das membranas plasmáticas, aumentando a difusão de um fármaco no tecido lesionado tornando-o mais efetivo [2]. Tal característica do DMSO foi considerada para amplificar o efeito tópico da anfotericina B sobre o *Pythium insidiosum* na proposição de tal associação [1,24].

Após excisão cirúrgica do tecido de granulação exuberante e termocauterização, a administração tópica diária da anfotericina B associada ao DMSO resultou no combate ao *Pythium insidiosum*, favorecendo a cicatrização da ferida. O primeiro sinal de remissão da infecção observado foi a ausência de prurido logo no dia seguinte à cirurgia. Na sequência, formou-se um tecido de granulação rosado, liso, brilhante e não exuberante provendo uma superfície ideal para a migração epitelial. O processo cicatricial evoluiu de forma excelente, sendo possível observar epitelização centrípeta acelerada, sendo que após 64 dias a ferida encontrava-se quase que totalmente cicatrizada e recoberta por pelos.

Apesar da extensão da lesão, o tratamento tópico com anfotericina B associada ao DMSO mostrou-se eficaz no combate ao *Pythium insidiosum*, economicamente viável e de baixo risco, visto que a terapia antifúngica sistêmica sugerida pela maioria dos autores é de custo elevado e extremamente nefrotóxica. A localização atípica da lesão no flanco esquerdo mostra que qualquer região anatômica pode ser acometida pelo pseudo-fungo, desde que haja ambiente propício para seu desenvolvimento.

NOTAS INFORMATIVAS

¹Ungüento Pearson, Eurofarma Laboratórios Ltda., Rio de Janeiro, Brasil.

²Acepran 1%, Univet S/A, São Paulo, Brasil.

³Petinan, BioChimico Indústria Farmacêutica Ltda., Itatiaia, Brasil.

⁴Xylestesin 2% (sem vasoconstritor), Cristália Produtos Químicos e Farmacêuticos Ltda., Itapira, Brasil.

⁵Éter Gliceril Guaiacol, Henrifarma Produtos Químicos e Farmacêuticos Ltda., São Paulo, Brasil.

⁶Cetamina 10%, Syntec do Brasil Ltda., Cotia, Brasil.

⁷Banamine, Schering Plough S.A., Rio de Janeiro, Brasil.

⁸Todo povidine tópico, Indústria Farmacêutica Rioquímica Ltda., São José do Rio Preto, Brasil.

⁹Anfotericin B, Cristália Produtos Químicos e Farmacêuticos Ltda., Itapira, Brasil.

¹⁰Dimetilsulfóxido P.A. – ACS, Dinâmica Química Contemporânea Ltda., Diadema, Brasil.

¹¹Ganadol, Eurofarma Laboratórios Ltda., São Paulo, Brasil.

Declaration of interest. The authors report no conflicts of interest. The authors alone are responsible for the content and writing of the paper.

REFERÊNCIAS

- 1 Biava J.S., Ollhoff D.R., Gonçalves R.C. & Biondo A.W. 2007. Zigomicose em equinos - Revisão. *Revista Acadêmica*. 5(3): 225-230.
- 2 Brayton C.F. 1986. Dimethyl sulfoxide (DMSO): a review. *The Cornell Veterinarian*. 76(1): 61-90.
- 3 Bridges C.H. & Emmons C.E. 1961. A phycomycosis of horse caused by *Hyphomyces destruens*. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 138: 579-589.
- 4 Carvalho E.C.Q., Rosa C.A.R.R., Cruz L.C.H. & Scaff R.M. 1984. “*Hyphomyces destruens*”: agente da “ferida brava” (hifomicose) em eqüinos do Pantanal de MT. In: *Resumos do XIX Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária* (Cuiabá, Brasil). p.311.
- 5 Chaffin M.K., Schumacher J. & McMullan W.C. 1995. Cutaneous pythiosis in the horse. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*. 11(1): 91-103.
- 6 De Cock A.W.A.M., Mendoza L., Padhye A.A., Ajello L. & Kaufman L. 1987. *Pythium insidiosum* sp. nov., the etiologic agent of pythiosis. *Journal of Clinical Microbiology*. 25(2): 344-349.
- 7 Foil C.S. 1996. Update on pythiosis (Oomycosis). In: *Proceedings of The North American Veterinary Conference* (Orlando, U.S.A.). pp.57-63.

- 8 Fossum T.W., Hedlund C.S., Hulse D.A., Johnson A.L., Seim H.B., Willard M.D. & Carroll G.L. 2002. Cirurgia do Sistema Tegumentar. In: Fossum T.W. (Ed). *Cirurgia de Pequenos Animais*. São Paulo: Roca, pp.101-171.
- 9 Frey Jr. F., Velho J.R., Lins L.A., Nogueira C.E.W. & Santurio J.M. 2007. Pitiose equina na região sul do Brasil. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*. 102(561-562): 107-111.
- 10 Hardy D.J., Hanson C.W., Hensey D.M., Beyer J.M. & Fernandes P.B. 1988. Susceptibility of *Campylobacter pylori* to macrolides and fluoroquinolones. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 22(5): 631-636.
- 11 Headley S.A. & Arruda Junior H.N. 2004. Pitiose cutânea equina: um relato de quatro casos. *Ciência Rural*. 34(1): 289-292.
- 12 Leal A.B.M., Leal A.T., Santurio J.M., Kommers G.D. & Catto J.B. 2001. Pitiose equina no Pantanal brasileiro: aspectos clínicos-patológicos de casos típicos e atípicos. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 21(4): 51-156.
- 13 Leal A.T., Leal A.B.M., Flores E.F. & Santurio J.M. 2001. Pitiose. *Ciência Rural*. 31(4): 735-743.
- 14 Malecaze F., Linas M.D., Gazagne C., Pagot V., Mathis A. & Seguela J.P. 1992. Diffusion intraoculaire des antifongiques et conséquences thérapeutiques dans les mycoses oculaires. *Journal de Mycologie Médicale*. 2(2): 73-76.
- 15 McMullan W.C., Joyce J.R., Hanselka D.V. & Heitmann J.M. 1977. Anfotericin B for the treatment of localized subcutaneous phycomycosis in the horse. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 170(11): 1293-1298.
- 16 Meireles M.C.A., Riet-Correa F., Fischman O., Zambrano A.F., Zambrano M.S. & Ribeiro G.A. 1993. Cutaneous pythiosis in horses from Brazil. *Mycoses*. 36(3-4): 139-142.
- 17 Melo J.U.S., Vasconcelos P.R.L., Santos J.M.V., Campos Júnior M.M., Barreto M.V.A. & Kimura O.S. 2008. Efeitos do dimetilsulfóxido no estresse oxidativo e na regeneração hepática pós-hepatectomia em ratos. *Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgia*. 35(2): 103-108.
- 18 Mendoza L. & Alfaro A.A. 1986. Equine pythiosis in Costa Rica: report of 39 cases. *Mycopathologia*. 94(2): 123-129.
- 19 Mendoza L., Hernandez F. & Ajello L. 1993. Life cycle of the human and animal oomycete pathogen *Pythium insidiosum*. *Journal of Clinical Microbiology*. 31(11): 2967-2973.
- 20 Mendoza L., Ajello L. & McGinnis M.R. 1996. Infections caused by the oomycetous pathogen *Pythium insidiosum*. *Journal de Mycologie Médicale*. 6(4): 151-164.
- 21 Miller R.I. 1981. Treatment of equine phycomycosis by immunotherapy and surgery. *Australian Veterinary Journal*. 57(8): 377-382.
- 22 Miller R.I. & Campbell R.S.F. 1982. Clinical observations on equine phycomycosis. *Australian Veterinary Journal*. 58(6): 221-226.
- 23 Miller R.I. & Campbell R.S.F. 1984. The comparative pathology of equine cutaneous phycomycosis. *Veterinary Pathology*. 21(3): 325-332.
- 24 Moriello K.A., De Boer D.J. & Semrad S.D. 2000. Enfermidades da pele. In: Reed S.M. & Bayly W.M. (Eds). *Medicina Interna Equina*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, pp.442-480.
- 25 Poole H.M. & Brashier M.K. 2003. Equine Cutaneous Pythiosis. *Compendium*. 25(3): 229-235.
- 26 Reis Jr. J.L. & Nogueira R.H.G. 2002. Estudo anatomopatológico e imunoistoquímico da pitiose em equinos naturalmente infectados. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 54(4): 358-365.
- 27 Santos C.E.P., Juliano R.S., Santurio J.M. & Marques L.C. 2011. Eficácia da imunoterapia no tratamento de pitiose facial em equino. *Acta Scientiae Veterinariae*. 39(1): 955.
- 28 Santurio J.M., Monteiro A.B., Leal A.T., Kommers G.D., Sousa R.S. & Catto J.B. 1998. Cutaneous Pythiosis insidiosi in calves from the Pantanal region of Brazil. *Mycopathologia*. 141(3): 123-125.
- 29 Santurio J.M., Catto J.B., Comastri Filho J.A., Leal A.T. & Leal A.B.M. 2004. Ferida da moda: epidemiologia, diagnóstico, tratamento e experiência com equinos infectados no Pantanal. *Comunicado Técnico Embrapa Pantanal*. 34: 1-8.
- 30 Santurio J.M., Alves S.H., Pereira D.B. & Argenta J.S. 2006. Pitiose: uma micose emergente. *Acta Scientiae Veterinariae*. 34(1): 1-14.
- 31 Smith S.M., Eng R.H. & Cherubin C.E. 1988. Conditions affecting the results of susceptibility testing for the quinolone compounds. *Chemotherapy*. 34(4): 308-314.
- 32 Stengel D., Bauwens K., Schouli J., Ekkernkamp A. & Porzolt F. 2001. Systematic review and meta-analysis of antibiotic therapy for bone and joint infections. *Lancet Infectious Diseases*. 1(3): 175-188.

