

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

***Pythium insidiosum* e pitiose: uma revisão de literatura**

Aluna: Rayane Thayse Moreira dos Santos Carnaúba

Professora responsável/Orientadora: Sandra de Moraes Gimenes Bosco

Professora Co-orientadora: Simone Baldini Lucheis

Instituições: Departamento de Ciências Químicas e Biológicas, Setor de Microbiologia e Imunologia, Instituto de Biociências de Botucatu – UNESP;

Departamento de Produção Animal e Medicina Veterinária Preventiva, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, UNESP/Botucatu

BOTUCATU – SÃO PAULO

JUNHO – 2023

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

***Pythium insidiosum* e pitiose: uma revisão de literatura**

RAYANE THAYSE MOREIRA DOS SANTOS CARNAÚBA

Dissertação apresentada junto ao programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, como requisito para obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Sandra de Moraes Gimenes Bosco.

Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Simone Baldini Lucheis.

BOTUCATU-SP

JUNHO - 2023

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Carnaúba, Rayane Thayse Moreira dos Santos. *Pythium*
insidiosum e pitiose : uma revisão de literatura / Rayane
Thayse Moreira dos Santos Carnaúba. - Botucatu, 2023
Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista
"Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina
Veterinária e Zootecnia
Orientador: Sandra de Moraes Gimenes Bosco
Coorientador: Simone Baldini Lucheis
Capes: 50502034

1. Pele - Doenças. 2. Tegumento comum. 3. Pitiose.
4. *Pythium*. 5. Fungos. 6. Zoósporos.

Palavras-chave: Kunker; Oomiceto; Swamp cancer; Zoósporos.

TÍTULO: *Pythium insidiosum* e pitiose: uma revisão de literatura

COMISSÃO EXAMINADORA

Profª. Drª. Simone Baldini Lucheis

Co-orientadora

Departamento de Produção Animal e Medicina Veterinária Preventiva
FMVZ – UNESP/ Botucatu

Profª. Drª. Karla Patrícia Chaves da Silva

Departamento de Microbiologia Veterinária

Universidade Federal de Alagoas - UFAL

Drª. Virgínia Bodelão Richini Pereira

Instituto Adolfo Lutz, Bauru/SP

Data da defesa: 15 de maio de 2023.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus, por estar sempre presente em todos os momentos da minha vida, sendo meu alicerce e me amparando nos momentos de aflição e saudades. Colocou em minha vida pessoas maravilhosas, que me ajudaram nesta caminhada, do início ao fim.

Aos meus pais, Rosiana e Ubiracy, por todo amor e carinho dedicados a mim, sempre me apoiando nas minhas escolhas, me aconselhando, me amparando nos momentos difíceis e por sempre acreditarem e me incentivarem na minha vida profissional. Amor, admiração e gratidão eterna, sem vocês eu não teria conseguido.

Ao meu irmão, Ubiracy, por sempre me apoiar e demonstrar, do seu jeito, seu amor e preocupação e a minha importância em sua vida. Amo você.

Ao meu amor e companheiro de vida, Gustavo Calheiros, que mais do que ninguém dividiu comigo todas as aflições, angústias, tristezas, preocupações, alegrias e conquistas nas fases mais importantes da minha vida. Você é fundamental, te amo.

Às minhas filhas caninas, Ayla, Aika e Zoe, que me acompanharam por toda a graduação, e agora, no mestrado, sendo luz na minha vida, demonstrando o amor puro e verdadeiro dos animais. Sempre foi por vocês.

Aos meus amigos irmãos que a Medicina Veterinária me deu, André e Neusvaldo Júnior, pessoas que me incentivam e vibram sempre pelas minhas conquistas. Não teria conseguido sem pessoas como vocês ao meu lado.

À minha orientadora, Profa. Dra. Sandra Bosco, por ter me dado a oportunidade de viver essa experiência e minha co-orientadora Profa. Dra. Simone Lucheis, por ter me estendido a mão em um momento delicado e decisivo.

Agradeço aos professores compositores da banca examinadora de qualificação e defesa. Nenhum conhecimento se faz sozinho, tenho uma enorme admiração por pessoas que escolhem compartilhá-los.

Agradeço ao programa de pós-graduação em Medicina Veterinária da FMVZ - Unesp - Botucatu, pelo auxílio prestado durante o curso de mestrado.

Agradeço ao apoio nessa reta final da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

LISTA DE TABELAS

| | |
|--|----|
| Tabela 1 Distribuição da pitiose humana e animal em 23 países..... | 18 |
|--|----|

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** Aspecto macroscópico de uma colônia de *P. insidiosum* em ágar Sabouraud dextrose 4% com 5 dias de cultivo. Fonte: BOSCO *et al.* (2019). ... 8
- Figura 2** Aspecto microscópico de hifas cenocíticas de *P. insidiosum* com diâmetro médio de 8 µm e ramificações perpendiculares. *Mycelia sterilia* (micélio com ausência de corpo de frutificação) (lactofenol azul de algodão, 200 x). Fonte: BOSCO *et al.* (2019). 8
- Figura 3** Formação de vesículas globosas e hifas em uma folha são os primeiros passos na colonização de uma planta hospedeira (a, b). Fonte: MENDOZA (2016). 9
- Figura 4** Indução de zoosporangênese de *P. insidiosum*. (a) Colocação de blocos de ágar Sabouraud dextrose 2% com cultivo de *P. insidiosum* na superfície de placas de Petri contendo ágar água. (b) Colocação de lâminas de grama estéril no topo dos blocos de Sabo Sabouraud 2%. (c) Vista de placas contendo ágar-água com lâminas de grama antes de serem incubadas a 37 °C por 2 dias. (d) Lâminas de grama após 5 horas de incubação em meio de indução a 37 °C mostrando esporângio (seta). Fonte: BOSCO *et al.* (2019). 9
- Figura 5** Árvore filogenética baseada na análise de sequência do rDNA ITS mostrando relações entre isolados de *P. insidiosum* e *P. destruens* e a separação em três clados distintos, de acordo com a região geográfica (entre parêntese) SCHURKO *et al.* (2003a). 11
- Figura 6** Fenograma mostrando relações entre isolados de *P. insidiosum*. O hospedeiro e o país de origem são indicados entre parênteses (Host/País) com as seguintes abreviaturas: Hospedeiro: Ca, canino; Cq, larva *Culex quinquefasciatus*; Eq, equino; Hu, humano; To, *Tremarctos ornatus*; País: Austrália; BR, Brasil; CR, Costa Rica; HA, Haiti; IN, Índia; JA, Japão; NG, Nova Guiné; TH, Tailândia; EUA, Estados Unidos. Fonte: SCHURCKO *et al.*, 2003b. 12
- Figura 7** Árvore filogenética baseada na região rDNA ITS. Fonte: Kammarnjesadakul *et al.* (2011). 13

| | |
|--|----|
| Figura 8 Árvore filogenética baseada na região de COX II, na qual é possível observar as subdivisões nos clados B TH e C TH. Fonte: Kammarnjesadakul <i>et al.</i> (2011)..... | 14 |
| Figura 9 Árvore filogenética com base nas sequências do citocromo oxidase II (COX II) onde há diferenciação de clados entre amostras americanas e da Tailândia. Fonte: Azevedo <i>et al.</i> (2012)..... | 15 |
| Figura 10 Distribuição geográfica da pitiose em humanos e animais. Os números de casos e porcentagens (entre parênteses) são adicionados aos países onde os pacientes adquiriram pitiose. A escala de cores representa a densidade de casos (variando de 1 a 1890 casos) As estrelas indicam as áreas ou países onde <i>P. insidiosum</i> foi isolado com sucesso do meio ambiente. Fonte: YOLANDA; KRAJAEJUN (2022)..... | 17 |
| Figura 12 Pampa Gaúcho. Ambiente com áreas alagadas e presença de animais (bovino, equino). Fonte: comprerural.com..... | 21 |
| Figura 11 Região do Pantanal, Brasil, mostrando gado e equino em região alagada e com bastante vegetação. Fonte: cnabrazil.org.br..... | 21 |
| Figura 13 Ulcerações granulomatosas, sobressalentes e elevadas com bordas irregulares e em forma de cratera. Fonte: ÁLVAREZ; VILORIA; AYOLA (2013). | |
| Figura 14 “Kunkers”: material necrótico amarelo-acinzentado. Fonte: ÁLVAREZ; VILORIA; AYOLA (2013)..... | 25 |
| Figura 15 A: cavidade contendo áreas de necrose e <i>kunkers</i> no vestíbulo nasal. B: Áreas necróticas contendo grande infiltração de <i>kunkers</i> nos cornetos nasais, meatos (asterisco) e região etmoidal (seta). Fonte: SOUTO <i>et al.</i> (2016). | 26 |
| Figura 16 A. Lesões cutâneas nodulares e ulcerativas drenando exsudato serossanguinolento, do tórax de uma asna (<i>Equus asinus</i>). B. Superfície de corte da lesão cutânea mostrando “kunkers” e um trato de drenagem hemorrágico circundado por tecido castanho claro a b branco, liso e brilhante. Fonte: MAIA <i>et al.</i> (2016)..... | 27 |
| Figura 17 Bovinos afetados por pitiose cutânea. A: Lesão ulcerada na face lateral da porção distal do metatarso. B: Lesão ulcerada entre a face lateral e caudal da porção distal do metatarso. Há edema da porção distal do membro. Fonte: GRECCO <i>et al.</i> (2009). | 27 |
| Figura 18 Pitiose em ovinos. A: dermatite ulcerativa e celulite na região pré-escapular, sugestivas de lesão primária em linfonodo pré-escapular. B: | |

| | |
|---|----|
| granuloma ulcerativo grave no metatarso. Fonte: DO CARMO; UZAL; RIET-CORREA (2021). | 28 |
| Figura 19 Pitiose em ovinos. Acentuado alargamento e deformidade da região nasal. Exsudato purulento é observado na boca como resultado de ulceração do palato duro. Fonte: DO CARMO; UZAL; RIET-CORREA (2021). | 29 |
| Figura 20 Pitiose em caprinos. Extensa lesão cutânea ulcerativa em região metatarso-falângica do membro pélvico esquerdo. Fonte: DO CARMO <i>et al.</i> (2015). | 30 |
| Figura 21 Pitiose em cães. (A) Massa irregular envolvendo intestino, mesentério e pâncreas. (B) Superfície em corte transversal do intestino mostrando espessamento da parede intestinal, com áreas multifocais amareladas e estenose do lúmen. (C) Espessamento da derme e subcutâneo com áreas multifocais a amarelo coalescente intercaladas com tecido esbranquiçado. (D) Espessamento da parede do reto e áreas focais de ulceração na junção mucocutânea. Fonte: FRADE <i>et al.</i> (2017)..... | 31 |
| Figura 22 Pele de cão: apresentação clínica da lesão mostrando uma grande úlcera com borda bem demarcada e múltiplos trajetos fistulosos de drenagem. Fonte: NETO <i>et al.</i> (2009). | 32 |
| Figura 23 Vistas laterais da massa sublingual 5 dias após a biópsia. Fonte: FORTIN <i>et al.</i> (2017)..... | 33 |
| Figura 24 A: aumento de volume da bochecha direita, com assimetria e deformidade da face. B: Corte sagital direito da cabeça. Massa nodular esbranquiçada (asterisco vermelho) localizada no palato mole. Fonte: SOUTO <i>et al.</i> (2020)..... | 33 |
| Figura 25 1: Lesão redonda coberta por uma superfície crostosa necrótica. A e B: Lesão após a remoção da crosta necrótica. Fonte: DOWST <i>et al.</i> (2019)... | 34 |
| Figura 26 A figura mostra as lesões vulvares em camelos. As lesões eram secas e não pruriginosas. Fonte: VIDELA <i>et al.</i> (2011). | 35 |
| Figura 27 A. Corte sagital do terceiro compartimento do estômago (C-3) mostrando acentuado espessamento da parede, com massas multifocais a coalescentes amareladas e irregulares entremeadas por tecido esbranquiçado (fibrose). Fonte: HECK <i>et al.</i> (2018). | 36 |
| Figura 28 Lesão necrótica com celulite circundante. (a) Mancha hemorrágica com necrose central e alterações de celulite circundante nas coxas posteriores. | |

(b) Visão aproximada; Fonte: HILTON *et al.* (2016); úlcera tibial de 15 cm de diâmetro com borda proximal infiltrativa e nodular a grande extensão da lesão em vista frontal (A) e em profundidade (B) medial. Fonte: BOSCO *et al.* (2005).

..... 37

Figura 29 A: lesão ulcerativa granulada na face medial da perna esquerda; B: angiografia por subtração digital mostrando oclusão das artérias femorais superficiais esquerdas distais e poplítea com enchimento colateral; C: superfície da artéria poplítea revelando parede fibrótica aneurismática com coágulo intraluminal. Fonte: LAOHAPENSANG *et al.* (2009)..... 38

Figura 30 A: fotografia com lâmpada de fenda da córnea infectada demonstra infiltrados centrais, densos, branco-acinzentados com extensões semelhantes a tentáculos (cabeça de seta) e infiltrados subepiteliais semelhantes a pontos irradiando em um padrão reticular da lesão (seta). Fonte: CHITASOMBAT *et al.* (2020). 39

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

°C – graus Celsius

DNA – ácido desoxirribonucleico

ELISA - ensaio imunoenzimático

EPI - equipamento de proteção individual

GMS - coloração prata metenamina de Grocott-Gomori

HA - hemaglutinação

ICT – teste imunocromatográfico

ID – imunodifusão

ITS - espaçador transcrito interno

EUA – Estados Unidos da América

MALDI-TOF - Matrix Associated Laser Desorption-Ionization – Time of Flight

mm – milímetros

MSP - perfil espectral de massa

PAS – coloração ácido periódico-Schiff

PCR - Reação em Cadeia da Polimerase

PIA - imunoterapia com antígenos de *P. insidiosum*

rDNA – ácido desoxirribonucleico ribossômico

RNA – ácido ribonucleico

rRNA - ácido ribonucleico ribossômico

WB - Western blot

γ – gama

α - alfa

β – beta

% - Porcentagem

exo-1 - Exonuclease 1

COX I – Citocromo c oxidase 1

COX II - Citocromo c oxidase 2

IL-4 – Interleucina 4

IgM – Imunoglobulina M

IgG – Imunoglobulina G

IgE – Imunoglobulina E

IL5 – Interleucina 5

cm - centímetro

RFLP - Polimorfismo de Comprimento de Fragmentos de DNA

SUMÁRIO

| | |
|--|----------|
| 1. INTRODUÇÃO | 4 |
| 2. REVISÃO DE LITERATURA | 6 |
| 2.1 HISTÓRICO E ETIOLOGIA..... | 6 |
| Filogenia molecular de <i>P. insidiosum</i> | 10 |
| 2.2 EPIDEMIOLOGIA..... | 16 |
| 2.3 PATOGÊNESE | 22 |
| 2.4 SINAIS CLÍNICOS | 24 |
| *Equídeos..... | 24 |
| *Ruminantes..... | 27 |
| *Cães | 30 |
| *Felinos | 32 |
| *Aves..... | 34 |
| *Camelos | 34 |
| *Humanos..... | 36 |
| 2.5 DIAGNÓSTICO | 40 |
| *Manuseio da amostra e identificação na cultura..... | 40 |
| *Sorodiagnóstico | 41 |
| *Histopatológico..... | 42 |
| *Análises moleculares | 42 |
| *Análise proteômica..... | 43 |
| 2.6 TRATAMENTO | 45 |
| *Pitiose animal..... | 45 |
| *Pitiose humana | 47 |

| | |
|---|-----------|
| 2.7 PROFILAXIA E CONTROLE | 48 |
| 3. OBJETIVOS | 48 |
| 4. METODOLOGIA..... | 48 |
| 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS | 49 |
| 6. CONCLUSÃO | 50 |
| 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS* | 51 |
| 8. TRABALHO CIENTÍFICO | 71 |

CARNAÚBA, R.T.M.S. *Pythium insidiosum* e pitiose: uma revisão de literatura. Botucatu, 2023. 99 p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

RESUMO

O objetivo deste estudo foi fazer um levantamento bibliográfico sobre *Pythium insidiosum* (*P. insidiosum*) e a pitiose, para melhor compreensão do que se tem de conhecimento até o momento sobre o agente. *P. insidiosum* é o agente etiológico da pitiose, causador da doença em animais e humanos. A doença é caracterizada por lesões no tecido cutâneo/subcutâneo, lesões gastrointestinais, vasculares e raramente ocorrendo disseminação para órgãos internos. O diagnóstico é obtido por meio exame clínico, anamnese e métodos laboratoriais. O tratamento baseia-se na exérese cirúrgica da lesão com margens livres do patógeno e uso de medicamentos como Anfotericina B, Iodeto de Potássio e a imunoterapia como forma de modular a resposta imune do hospedeiro. A revisão é do tipo narrativa e foi realizada por meio de busca simples e avançada nas bases de dados PubMed, Scielo e Google Scholar para obter uma visão aprofundada dos estudos relevantes disponíveis. Os artigos abordados são dos últimos 40 anos, sendo priorizado os publicados nos últimos dez anos, nos idiomas inglês, português e espanhol. Foram selecionados estudos retrospectivos, artigos de revisão sistemática, relatos de caso e artigos originais. Esta revisão avaliou as pesquisas já realizadas sobre o patógeno, *P. insidiosum*, bem como sobre os aspectos epidemiológicos, diagnósticos e terapêuticos da pitiose. Reforça-se a necessidade de pesquisas voltadas ao diagnóstico rápido e novas abordagens terapêuticas visando melhorar o prognóstico. É importante a utilização da biologia molecular para identificação das culturas obtidas a partir dos casos clínicos, assim como mais estudos de isolamento ambiental com consequente análises filogenéticas para melhor caracterizar os clados que podem ser encontrados e mapear possíveis focos da doença nas regiões.

Palavras – chave: oomiceto, zoósporos, *swamp cancer*, *kunker*.

CARNAÚBA, R.T.M.S. ***Pythium insidiosum* and pythiosis: a literature review.** Botucatu, 2023. 99 p. Dissertation (Master's) – Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science, Botucatu Campus, Universidade Estadual Paulista.

ABSTRACT

The objective of this study was to carry out a bibliographic survey on *Pythium insidiosum* (*P. insidiosum*) and pythiosis, for a better understanding of what is known so far about the agent. *P. insidiosum* is the etiological agent of pythiosis, which causes the disease in animals and humans. The disease is characterized by lesions in the cutaneous/subcutaneous tissue, gastrointestinal and vascular lesions and, rarely, dissemination to internal organs. The diagnosis is obtained through clinical examination, anamnesis and laboratory methods. Treatment is based on surgical excision of the lesion with pathogen-free margins and the use of drugs such as Amphotericin B, Potassium Iodide and immunotherapy as a way to modulate the host's immune response. The review is of the narrative type and was carried out through a simple and advanced search in the PubMed, Scielo and Google Scholar databases to obtain an in-depth view of the relevant studies available. The articles covered are from the last 40 years, with priority being given to those published in the last ten years, in English, Portuguese and Spanish. Retrospective studies, systematic review articles, case reports and original articles were selected. This review evaluated the research already carried out on the pathogen, *P. insidiosum*, as well as on the epidemiological, diagnostic and therapeutic aspects of pythiosis. It reinforces the need for research aimed at rapid diagnosis and new therapeutic approaches aimed at improving the prognosis. It is important to use molecular biology to identify the cultures obtained from clinical cases, as well as further studies of environmental isolation with subsequent phylogenetic analyzes to better characterize the clades that can be found and map possible outbreaks of the disease in the regions.

Keywords: oomycota, zoospores, swamp cancer, *kunker*

1. INTRODUÇÃO

Micologia é a ciência que estuda os seres eucarióticos, heterótrofos, que apresentam grande variabilidade de formas, funções, habitat e possuem distribuição mundial, denominados fungos. Eles contam com representantes macroscópicos, como os cogumelos e orelhas-de-pau, e microscópicos, como as leveduras e os fungos filamentosos (BENCHIMOL; SÁ, 2004).

Os fungos filamentosos possuem um importante papel, causando impactos na vida humana e no meio ambiente, onde estão relacionados a produção de alimentos e produtos de saúde e na reciclagem de compostos orgânicos na biosfera. Seu potencial bioquímico e a adaptação a condições extremas de vida vem sendo explorados para a produção de produtos como antibióticos (por exemplo, penicilina, cefalosporinas), enzimas (α -amilase, celulase) (HAJJAJ *et al.*, 2000), ácidos orgânicos (por exemplo, ácido cítrico) (KUBICEK; RÖHR; REHM, 1985; MOREIRA *et al.*, 1996), corantes alimentares (por exemplo, Anka) (LIN, 1973), vitaminas, polissacarídeos, polióis, lipídios e glicolipídios (ADRIO; DEMAÏN, 2003).

As leveduras e fungos filamentosos vem sendo usados para a produção de alimentos e bebidas fermentados em todas as culturas do mundo, onde podemos citar como exemplos os queijos, pães, cervejas, vinhos, cidra, arroz e molho de soja (MCGOVERN *et al.*, 1996; SAMUEL, 1996; MCGOVERN *et al.*, 2004; SALQUE *et al.*, 2013). Além disso, há uma utilização em larga escala das leveduras para a produção de proteínas intracelulares e extracelulares de origem humana, animal e vegetal (ROMANOS; SCORER; CLARE, 1992; ROMANOS, 1995). Os cogumelos já eram utilizados com finalidades medicinais desde os tempos mais antigos para combater hemorragias, cólicas, feridas, asma e outros problemas, como também alguns são utilizados para o fim alimentício sendo as estruturas sexuais de basidiomicetos e ascomicetos (trufas e cogumelos), utilizadas para este fim (BONONI *et al.*, 1995; DUPONT *et al.*, 2017).

Estima-se que existam de 2,2 a 3,8 milhões de espécies de fungos, no entanto, se conhece algo em torno de 3 a 8% deles. Cerca de 600 espécies de fungos são conhecidas como agentes patogênicos de plantas (fitopatogênicos),

insetos e animais (HAWKSWORTH; LÜCKING, 2017). O papel da micologia médica é muito importante, sendo ela responsável pelo estudo das infecções causadas pela ampla variedade de fungos existentes. Dada a complexidade dos pacientes em risco de infecção, estas doenças são consideradas um grande desafio no campo do diagnóstico e terapêutica (PFALLER; DIEKEMA, 2004).

Os oomicetos são organismos que se assemelham morfológicamente aos do Reino Fungi; porém, em sua classificação taxonômica, pertencem ao Reino Stramenopila, sendo geneticamente mais semelhantes a organismos aquáticos, como algas e diatomáceas (ADHIKARI *et al.*, 2013). Embora em sua maioria sejam saprotróficos, a capacidade de algumas espécies de infectar uma variedade de hospedeiros é uma característica da classe. São conhecidos há muito tempo como “fungos aquáticos” por possuírem hifas com poucos septos, parecidos com fungos zigomicetos, e incluem uma diversidade de organismos, desde os de vida livre, até patógenos de plantas, mamíferos, insetos, peixes, crustáceos e algas (ADHIKARI *et al.*, 2013; MENDOZA; VILELA, 2013).

Pythium spp. são ecologicamente e fisiologicamente únicos. Eles são encontrados em habitats de água doce, marinha e terrestre em todo o mundo e mais de 140 espécies de *Pythium* são conhecidas (LEVESQUE; De COCK, 2004; KAGEYAMA, 2014). Existem diversos fitopatógenos que estão associados a causa de podridões radiculares e tombamento de plântulas. Algumas espécies do gênero *Pythium* estão entre os fitopatógenos de maior interesse, por ter uma distribuição ampla e afetar uma grande variedade de culturas de importância econômica (MARTIN; LOPER, 1999).

Pythium insidiosum (*P. insidiosum*) foi por muito tempo considerado o único patógeno do gênero a causar doença em mamíferos, mas já existem relatos na literatura da infecção causada pela espécie *Pythium aphanidermatum* em soldados combatentes e, recentemente, acometendo uma mulher na Tailândia, apontando que outras espécies do gênero podem ser patogênicas para humanos e animais (GAASTRA *et al.*, 2010; CALVANO *et al.*, 2011; FARMER *et al.*, 2015; THONGSUK *et al.*, 2021). A pitiose em mamíferos é caracterizada pelo desenvolvimento de lesões cutâneas, subcutâneas, vasculares e intestinais e, menos frequentemente, pelo acometimento de ossos e pulmões. Se não for tratada, a doença progride rapidamente, tornando-se uma

ameaça à vida (GAASTRA *et al.*, 2010). O diagnóstico da pitiose é difícil, pois frequentemente o patógeno é confundido com fungos zigomicetos em cortes histológicos (KAUFMAN, 1998).

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 HISTÓRICO E ETIOLOGIA

O termo pitiose foi proposto em 1980 por Chandler *et al.*, mesmo sem a identificação do agente etiológico, como um nome mais apropriado para a doença equina várias vezes referida como *bursatii*, sanguessugas de cavalos da Flórida, dermatite granular, *Hyphomycosis destruens equi*, ficomicose, granuloma ficomicótico e “swamp cancer” (CHANDLER *et al.*, 1980).

Desde o século XIX há relatos de possíveis casos de pitiose, o qual cursaram clinicamente com o quadro de lesões granulomatosas. Em 1901, o agente causador desta doença granulomatosa foi isolado de amostras de equinos e denominado *Hyphomycetes destruens* por de Haan e Hoogkamer, porém, não conseguiram classificar o agente (MENDOZA *et al.*, 1996). Em 1974, Austwick e Copland isolaram um organismo semelhante de cavalos com lesão granulomatosa, no qual observaram a capacidade de produzir zoósporos biflagelados. Com base nessa característica morfológica única, eles relataram que o organismo em questão pertencia ao gênero *Pythium* (AUSTWICK; COPLAND, 1974).

Em 1980, Ichitani e Amemiya classificaram um isolado de equino como *Pythium gracile* após comparar as características reprodutivas de diferentes espécies de *Pythium* (ICHITANI; AMEMIYA, 1980). Anos depois, *P. insidiosum* foi formalmente descrito com base em sua esporulação sexual (DE COCK *et al.*, 1987). Isso aconteceu simultaneamente com W.A. Shipton descrevendo uma nova espécie, *Pythium destruens*, que mais tarde foi considerada idêntica a *P. insidiosum* por sequenciamento gênico e, finalmente considerada a denominação mais correta em 1989, quando MENDOZA e MARIN demonstraram que os isolados *P. insidiosum* (De Cock) e *P. destruens* (Shipton)

apresentavam o mesmo perfil antigênico (SHIPTON, 1987; MENDOZA; MARIN, 1989).

O agente etiológico da pitiose é o microrganismo eucariótico filamentoso denominado *Pythium insidiosum*, que taxonomicamente pertence ao supergrupo Stramenopiles-Alveolata-Rhizaria. Inicialmente foi classificado como um fungo e, posteriormente, teve sua classificação alterada, pertencendo ao reino Stramenopila, filo Oomycota, classe Oomycetes, ordem Peronosporales e família Pythiaceae (DE COCK *et al.*, 1987). A diferença entre os oomicetos e os fungos está retratada a nível celular através de alterações na parede e composição da membrana (SANTURIO *et al.*, 2006; GAASTRA *et al.*, 2010). As cristas mitocondriais nos fungos verdadeiros são achatadas, enquanto nos oomicetos são tubulares.

No filo Chytridiomycota (reino Fungi), os microrganismos possuem zoósporos uniflagelados, enquanto os do filo Oomycota possuem esporos biflagelados. A parede celular é composta principalmente por quitina e α e β glucanas em fungos verdadeiros, enquanto em oomicetos é composta por β glucanas, celulose e hidroxiprolina. A principal diferença está na membrana celular que explica o insucesso do tratamento médico da pitiose: a ausência de ergosterol, que é o principal alvo dos antifúngicos (GRIFIFITH *et al.*, 1992; ALEXOPOULOS *et al.*, 1996; GAASTRA *et al.*, 2010).

Produz zoósporos biflagelados (estágio reprodutivo assexuado) em um ambiente aquático adequado e não precisa de um hospedeiro suscetível, pois é capaz de sobreviver e se multiplicar em plantas em decomposição (AUSTWICK; COPLAND, 1974; DE COCK *et al.*, 1987; GAASTRA *et al.*, 2010). O esporângio é produzido nas extremidades dos ramos das hifas, onde o protoplasma da vesícula inicia uma clivagem progressiva para formação dos zoósporos (MENDOZA; HERNANDEZ; AJELLO, 1993).

O tempo que leva entre a formação de esporângios indiferenciados e a liberação de zoósporos móveis é em torno de 35 minutos, quando em condições adequadas (com água, material vegetal e temperaturas em torno de 37 °C a 40 °C) (MENDOZA; HERNANDEZ; AJELLO, 1993). Uma vez liberados, os zoósporos penetram no material vegetal submerso na água (para continuar seu

ciclo de vida) ou penetram na pele lesionada de animais presentes em ambientes aquáticos (BOSCO *et al.*, 2019). Os zoósporos são células nucleadas únicas que podem nadar com a ajuda dos flagelos, sendo eles um anterior e outro posterior. Acredita-se que o flagelo posterior seja responsável pelo movimento através da água e o anterior tenha a função de direcionar o zoósporo. Os zoósporos nadam em um padrão helicoidal, sendo algumas vezes interrompido por mudanças aleatórias de direção (WALKER; VAN WEST, 2007).

Pode ser cultivado aerobiamente em meios de cultura que não contenham cicloheximida. A cultura em meio ágar Sabouraud a 37 °C mostra um crescimento rápido (24 h) (DE COCK *et al.*, 1987; MENDOZA; HERNANDEZ; AJELLO, 1993). A colônia tem aspecto filamentososo com micélio curto de coloração branca a bege, com textura aveludada a membranosa (Fig. 1). Microscopicamente, possui hifas grandes (4-10 µm de diâmetro), ramificações perpendiculares, cenocítica (em hifas jovens), septação esparsa (em um organismo envelhecido) e pontas de hifas arredondadas, sem esporos (Fig. 2) (DE COCK *et al.*, 1987). Apressórios e tumefações medindo 12–28 µm de diâmetro, são comumente observados nas culturas (Fig. 3) (MENDOZA, 2016). Os esporos são produzidos apenas em ambientes aquáticos na natureza ou um meio de indução apropriado em condições *in vitro*, (Fig. 4) (MENDOZA; PRENDAS, 1988).



Figura 1 Aspecto macroscópico de uma colônia de *P. insidiosum* em ágar Sabouraud dextrose 4% com 5 dias de cultivo. Fonte: BOSCO *et al.* (2019).

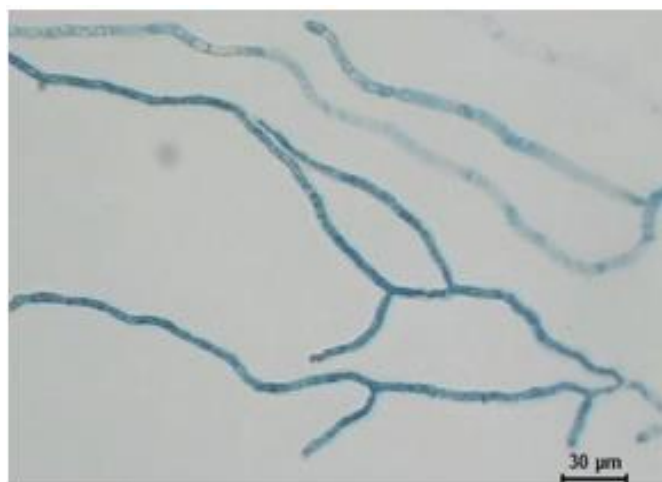


Figura 2 Aspecto microscópico de hifas cenocíticas de *P. insidiosum* com diâmetro médio de 8 µm e ramificações perpendiculares. Mycelia sterilia (micélio com ausência de corpo de frutificação) (lactofenol azul de algodão, 200 x). Fonte: BOSCO *et al.* (2019).

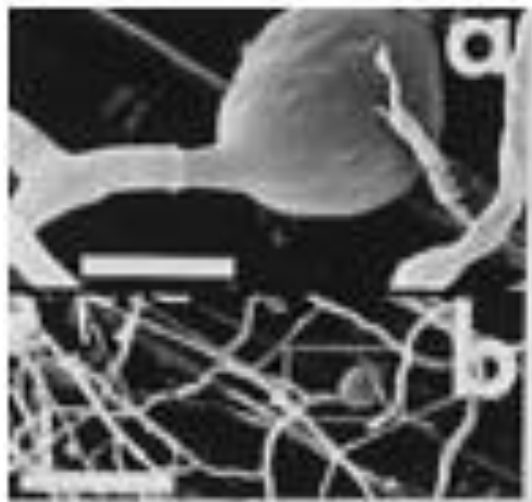


Figura 3 Formação de vesículas globosas e hifas em uma folha são os primeiros passos na colonização de uma planta hospedeira (a, b). Fonte: MENDOZA (2016).

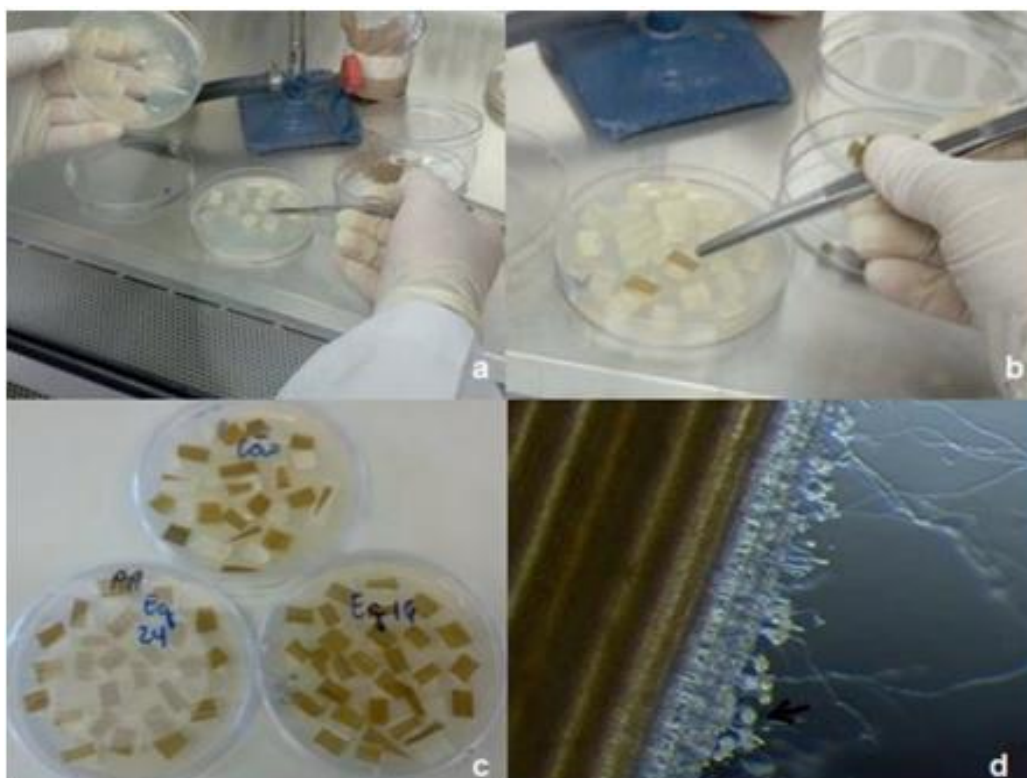


Figura 4 Indução de zoosporangênese de *Pythium insidiosum*. (a) Colocação de blocos de ágar Sabouraud dextrose 2% com cultivo de *P. insidiosum* na superfície de placas de Petri contendo ágar água. (b) Colocação de lâminas de grama estéril no topo dos blocos de Sabo Sabouraud 2%. (c) Vista de placas contendo ágar-água com lâminas de grama antes de serem incubadas a 37 °C por 2 dias. (d) Lâminas de grama após 5 horas de incubação em meio de indução a 37 °C mostrando esporângio (seta). Fonte: BOSCO *et al.* (2019).

Filogenia molecular de *P. insidiosum*

Os genes de *P. insidiosum* depositados no GenBank e utilizados para estudos sobre a pitiose incluem: rDNA, exo-1, COX I, COX II, gene codificador da elicítina (ELI025), genes putativos da urease, genes flagelares (pf16 e da proteína tubular do mastigonema (ocm1) (SCHURCKO *et al.*, 2003a,b; KRAJAEJUN *et al.*, 2010; AZEVEDO *et al.*, 2012; ROBIDEAU *et al.*, 2014; LERKSUTHIRAT *et al.*, 2015; RIBEIRO *et al.*, 2017; KRAJAEJUN *et al.*, 2018a).

Schurko *et al.* (2003a) analisaram 21 isolados de *Pythium insidiosum* e dois de *P. destruens* utilizando a região ITS do DNA ribossomal. Os isolados de *P. insidiosum* e *P. destruens* formaram um clado separado das demais espécies de *Pythium* utilizadas na análise (*P. grandisporangium*, *P. deliense* e *P. aphanidermatum*), não havendo diferença de genótipo entre os isolados das diferentes espécies acometidas. No entanto, os isolados avaliados foram divididos em três clados/*clusters* de acordo com a origem geográfica. O Clado I continha 12 isolados de *P. insidiosum* representando uma variedade de hospedeiros mamíferos (equinos, caninos, felinos e humanos) da Costa Rica, Haiti, Brasil e EUA. O Clado II continha sete isolados de várias regiões da Austrália, sudeste da Ásia e Estados Unidos. O Clado III continha isolados da Tailândia e Estados Unidos (Fig. 5) (SCHURCKO *et al.*, 2003a).

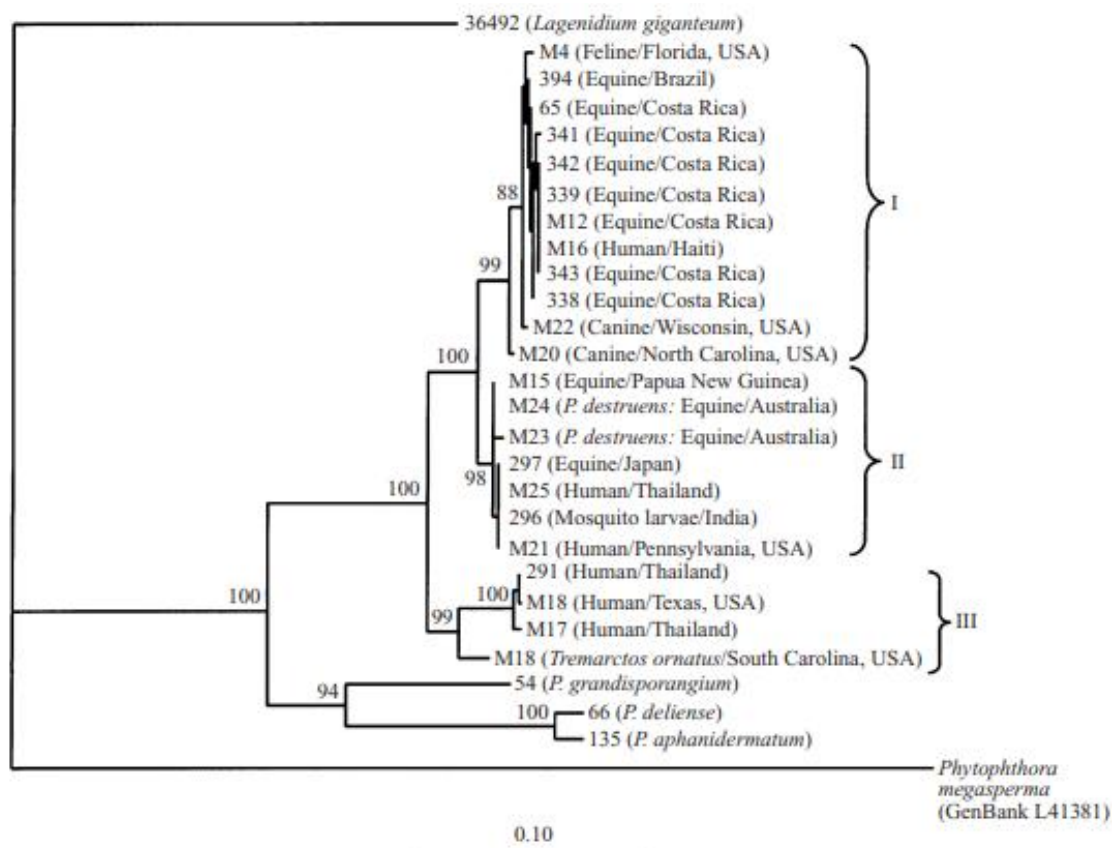


Figura 5 Árvore filogenética baseada na análise de sequência do rDNA ITS mostrando relações entre isolados de *Pythium insidiosum* e *P. destruens* e a separação em três cladros distintos, de acordo com a região geográfica (entre parêntese) SCHURCKO et al. (2003a).

Posteriormente Schurcko *et al.* (2003b) analisaram o perfil filogenético de diferentes isolados de *P. insidiosum* a partir da amplificação do gene IGS (*Intergenic Spacer*) do DNA ribossomal e a seguir digestão enzimática pela técnica de RFLP (Restrict Fragment Length Polymorphism) e corroboraram com o estudo anterior. No clado I foram observados 16 isolados do continente americano (Costa Rica, Brasil, Haiti, Estados Unidos), clado II com sete isolados asiáticos (Índia, Tailândia, Japão, Nova Guiné), um isolado da Austrália, dois isolados de *Pythium destruens* e um isolado de *P. insidiosum* proveniente dos Estados Unidos, provavelmente de um paciente que se infectou na região do Oriente Médio. O clado III foi o mais distante dos dois anteriores e consistiu em dois isolados da Tailândia e um isolado dos Estados Unidos. Na ocasião, os autores se referiram ao clado III como mais distantes dos outros dois cladros, podendo ser uma representar outra espécie (Fig. 6) (SCHURCKO *et al.*, 2003b).

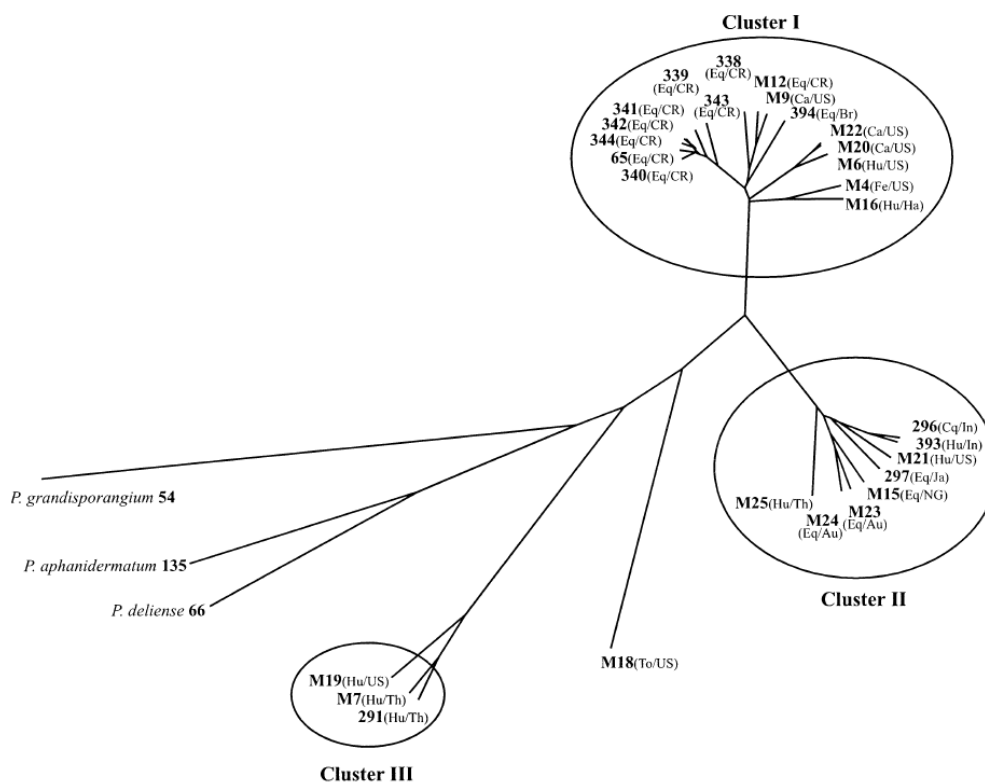


Figura 6 Fenograma mostrando relações entre isolados de *P. insidiosum*. O hospedeiro e o país de origem são indicados entre parênteses (Host/País) com as seguintes abreviaturas: Hospedeiro: Ca, canino; Cq, larva *Culex quinquefasciatus*; Eq, equino; Hu, humano; To, *Tremarctos ornatus*; País: Austrália; BR, Brasil; CR, Costa Rica; HA, Haiti; IN, Índia; JA, Japão; NG, Nova Guiné; TH, Tailândia; EUA, Estados Unidos. Fonte: SCHURCKO *et al.*, 2003b.

Ao contrário das regiões ITS, COX II (citocromo oxidase II) é um gene codificado pelo DNA mitocondrial que geralmente é considerado mais variável do que o DNA nuclear, por acumular mutações ao longo da evolução, tornando-o útil para a determinação de relações filogenéticas (MARTIN, 2000). Kammarnjesadakul *et al.* (2011) utilizaram 32 isolados de *P. insidiosum* da Tailândia (ambiental e humano) e dois isolados de equinos das Américas (Costa Rica e EUA) para realização de análises filogenéticas baseada em ITS e COX II. Ambas as análises (ITS ou COX II) revelaram três cladogramas entre os isolados de *P. insidiosum*: A_{TH}, B_{TH} e C_{TH}. Clados B_{TH} e C_{TH} incluíram a maioria dos isolados de fontes humanas e ambientais (Tailândia), enquanto os isolados remanescentes de equinos dos EUA foram agrupados como clado A_{TH} (Fig. 7 e 8). Porém, na análise do gene COX II, os dois cladogramas tailandeses, B_{TH} e C_{TH}, ainda foram divididos em três subclados e dois grupos irmãos, respectivamente (Fig. 7), onde

os autores afirmam que por COX II ser capaz de separar o nível intra-espécie, e, além disso gerar árvore filogenética com maior resolução do que a da região ITS, sendo melhor indicada para estudos filogenéticos de *P. insidiosum* (KAMMARNJESADAKUL *et al.*, 2011).

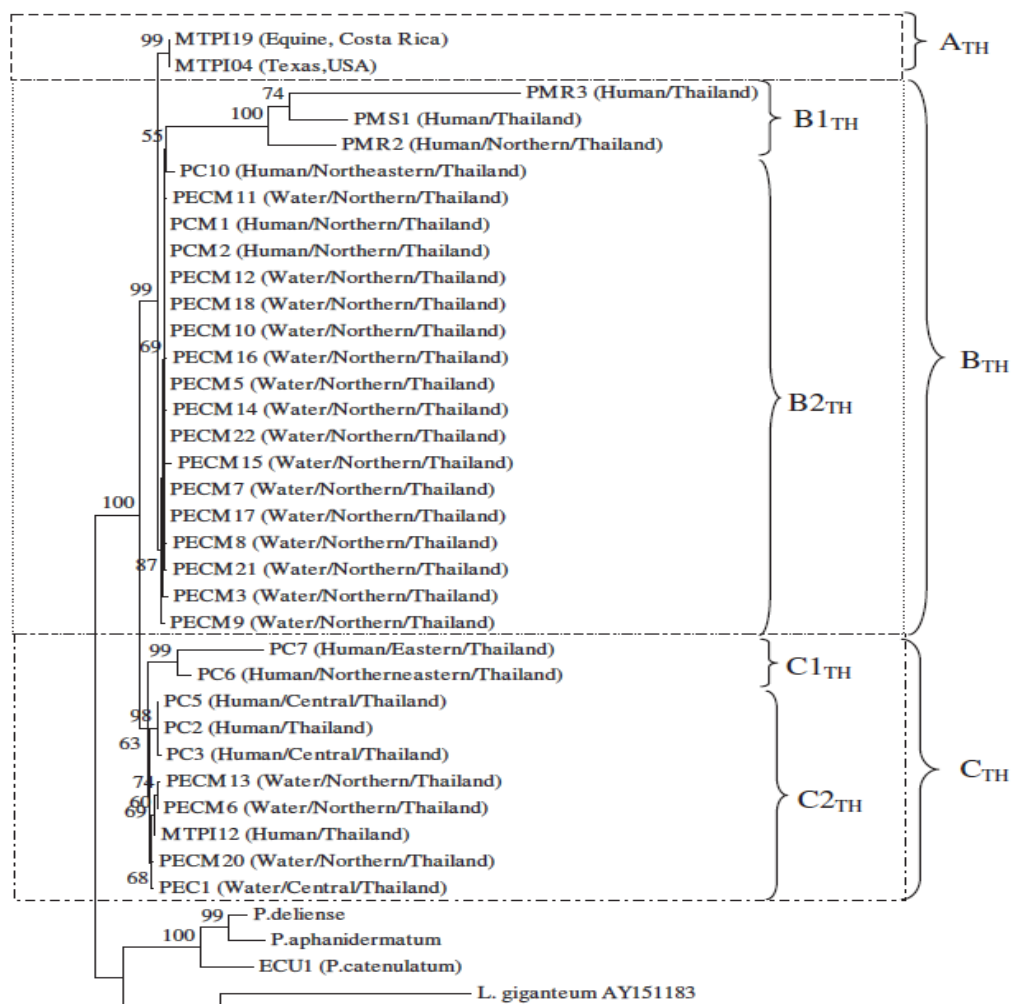


Figura 7 Árvore filogenética baseada na região rDNA ITS. Fonte: Kammarnjesadakul *et al.* (2011).

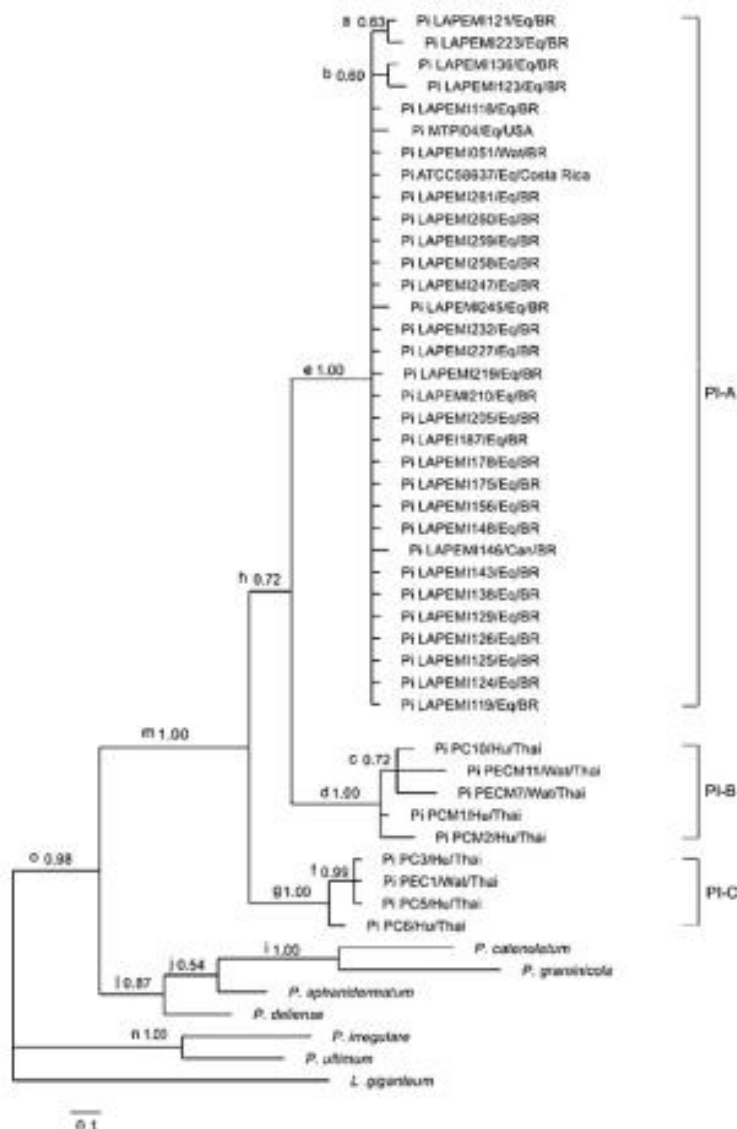


Figura 9 Árvore filogenética com base nas sequências do citocromo oxidase II (COX II) onde há diferenciação de clados entre amostras americanas e da Tailândia. Fonte: Azevedo *et al.* (2012).

Ribeiro *et al.* (2017) confirmaram a parafilia entre isolados tailandeses e brasileiros utilizando o gene *exo-1*, anteriormente sugerida por Azevedo *et al.* (2012) com marcadores ITS e *cox2*.

Miraglia *et al.* (2022) descreveram uma nova espécie baseada em análises filogenéticas e por MALDI-TOF a partir da análise de isolados do cluster III, isolados da Índia, Israel, EUA e Tailândia. Essa nova espécie recebeu o nome de *Pythium periculosum* (MIRAGLIA *et al.*, 2022).

2.2 EPIDEMIOLOGIA

Os casos de pitiose são observados em regiões de clima tropical, subtropical ou temperado, podendo acometer diferentes espécies, como equinos, caninos, humanos, bovinos, pequenos ruminantes, felinos e animais silvestres, sendo as três primeiras espécies as mais afetadas pela doença (BOSCO *et al.*, 2019).

O primeiro relato da doença acometeu cavalos e ocorreu em 1983 na Austrália (MILLER *et al.*, 1983). Após, a pitiose foi cada vez mais relatada, sendo descrita no EUA, Brasil, Índia, Tailândia, Austrália, Colômbia, Egito, Venezuela, Costa Rica, China, Uruguai, Papua Nova Guiné, Japão, Israel, Espanha, México, Malásia, Coreia do Sul, Jamaica, Haiti, Mali, Nova Zelândia, Taiwan (Fig. 10) (YOLANDA; KRAJAEJUN, 2022).

Há registro de cinco casos onde os pacientes foram diagnosticados como pitiose em seus países de origem (França, Espanha e EUA) após voltarem de viagem a países onde há casos registrados (HUNG; LEDDIN, 2014; LELIEVRE *et al.*, 2015; ROS CASTELLAR *et al.*, 2017; BERNHEIM *et al.*, 2019). Esses pacientes foram definidos como casos importados, sendo mapeados no país onde provavelmente adquiriram a infecção; assim, a pitiose pode não ser incomum e pode ser diagnosticada em qualquer lugar, não se limitando aos países endêmicos. O conhecimento da doença pelos profissionais de saúde e a disponibilidade de uma ferramenta de diagnóstico nos laboratórios clínicos são fundamentais para a detecção de novos casos (YOLANDA; KRAJAEJUN, 2022).

Desde o século passado, o ambiente aquático tem sido relacionado a casos de granulomas cutâneos em equinos, onde foi observado que, após os cavalos terem pastado por um longo período em água estagnada, eles frequentemente desenvolviam pitiose. Assim, suspeitava-se de uma relação entre habitats úmidos e esta doença desde o início de sua história (RIVIERRE *et al.*, 2005). Os animais também podem se infectar bebendo água contaminada com zoósporos ou comendo plantas, especialmente gramíneas, onde os zoósporos podem se encistar (GAASTRA *et al.*, 2010; PRESSER; GOSS, 2015). Fatores como idade, sexo ou raça não influenciam na aquisição da infecção. O principal fator é a permanência do animal em água estagnada, local propício ao

desenvolvimento dos zoósporos, forma infectante do patógeno (BOSCO *et al.*, 2016).

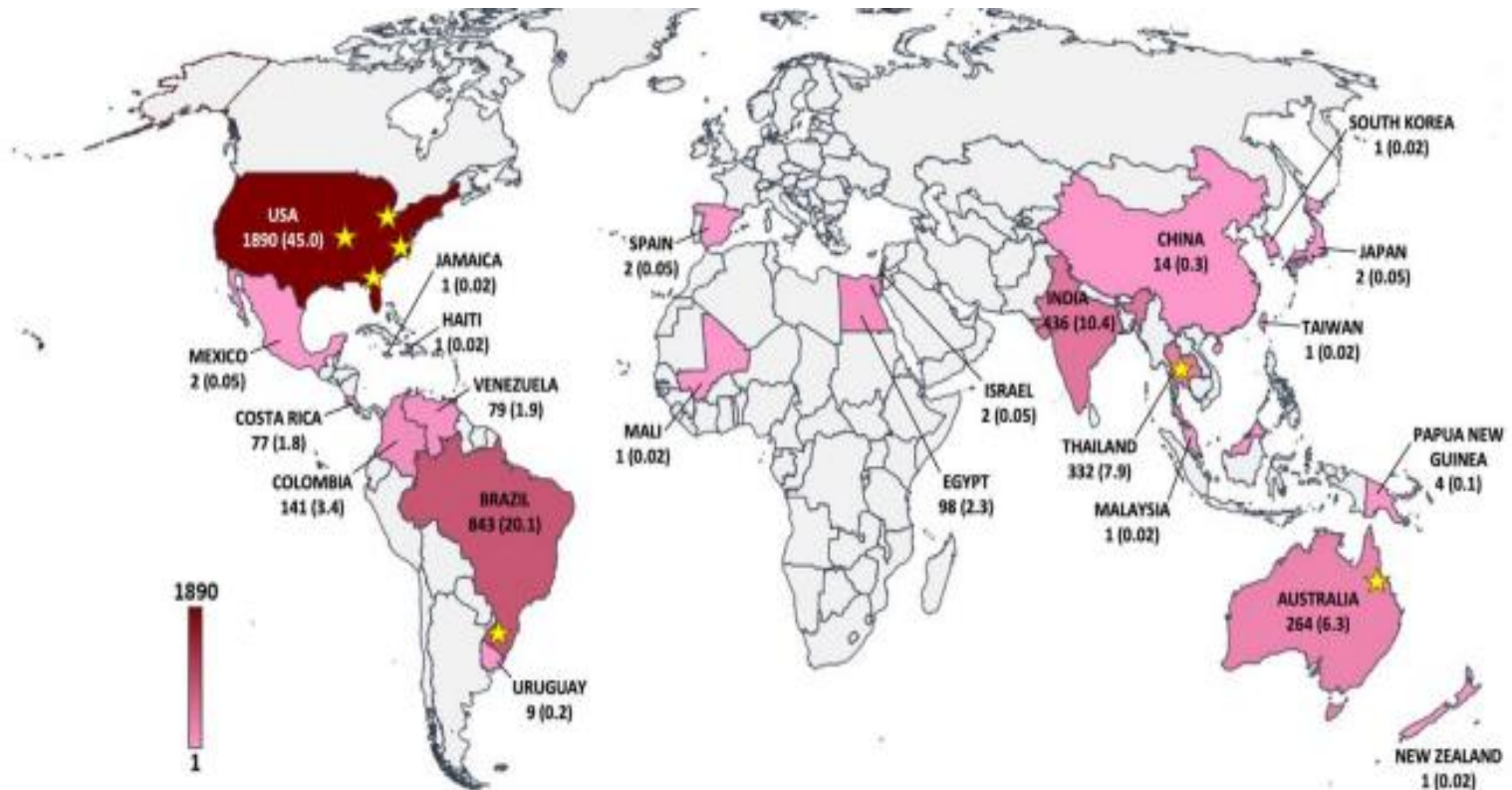


Figura 10 Distribuição geográfica da pitiose em humanos e animais. Os números de casos e porcentagens (entre parênteses) são adicionados aos países onde os pacientes adquiriram pitiose. A escala de cores representa a densidade de casos (variando de 1 a 1890 casos) as estrelas indicam as áreas ou países onde *P. insidiosum* foi isolado com sucesso do meio ambiente. Fonte: YOLANDA; KRAJAEJUN (2022).

Um levantamento feito através de um estudo em 2022 por Yolanda e Krajaejun, no qual rastrearam casos de pitiose confirmados em animais e humanos, no período de janeiro de 1980 a dezembro de 2021, mostrou a distribuição global desses casos. O estudo mostra 4203 casos, sendo 3432 animais e 771 humanos distribuídos nos países ocorridos, detalhando as principais espécies afetadas (Tabela 1) (YOLANDA; KRAJAEJUN, 2022).

Tabela 1 Distribuição da pitiose humana e animal em 23 países.

| Países | Humanos | Animais | | | | Todos | Total (%) |
|---------------------|---------|----------------|------|---------|---------------------|-------|-----------------|
| | | Cavalos | Cães | Bovinos | Outros ^a | | |
| EUA | 14 | 1184 | 623 | 25 | 44 | 1876 | 1890 (44,97) |
| Brasil | 1 | 577 | 29 | 132 | 104 | 842 | 843 (20,07) |
| Índia | 434 | - ^b | - | - | 2 | 2 | 436 (10,37) |
| Tailândia | 293 | 32 | 7 | - | - | 39 | 332 (7,90) |
| Austrália | 3 | 259 | 2 | - | - | 261 | 264 (6,28) |
| Colômbia | - | 56 | - | 72 | 13 | 141 | 141 (3,35) |
| Egito | - | 98 | - | - | - | 98 | 98 (2,33) |
| Venezuela | - | 15 | 1 | 63 | - | 79 | 79 (1,89) |
| Costa Rica | 1 | 76 | - | - | - | 76 | 77 (1,83) |
| China | 14 | - | - | - | - | - | 14 (0,33) |
| Uruguai | - | 9 | - | - | - | 9 | 9 (0,22) |
| Papua Nova Guiné | - | 4 | - | - | - | 4 | 4 (0,10) |
| Japão | 1 | 1 | - | - | - | 1 | 2 (0,05) |
| Israel | 2 | - | - | - | - | - | 2 (0,05) |
| Espanha | 2 | - | - | - | - | - | 2 (0,05) |
| México | 1 | 1 | - | - | - | 1 | 2 (0,05) |
| Malásia | 1 | - | - | - | - | - | 1 (0,02) |
| Coréia do sul | - | - | 1 | - | - | 1 | 1 (0,02) |
| Jamaica | 1 | - | - | - | - | - | 1 (0,02) |
| Haiti | 1 | - | - | - | - | - | 1 (0,02) |
| Mali | - | - | 1 | - | - | 1 | 1 (0,02) |
| Nova Zelândia | 1 | - | - | - | - | - | 1 (0,02) |

| | | | | | | | |
|--------------------|-------------|--------------|-------------|------------|------------|--------------|------------|
| Taiwan | - | - | - | - | 1 | 1 | 1 (0,02) |
| Total de casos (%) | 771 (18,34) | 2312 (55,01) | 664 (15,80) | 292 (6,95) | 164 (3,90) | 3432 (81,66) | 4203 (100) |

^a Outros animais incluem gato, mula, burro, carneiro, camelo, pássaro, cabra, tigre, onça, urso, verme, larva de mosquito e camarão. ^b Nenhum caso é relatado. Fonte: adaptado de YOLANDA; KRAJAEJUN (2022).

Os países com maior prevalência da doença ficam na região das Américas, com os dois países que registram o maior número de casos no mundo (sul/sudeste dos EUA e Brasil), e no sudeste asiático (Índia e Tailândia) (YOLANDA; KRAJAEJUN, 2022). São regiões de clima tropical e subtropical, o que reafirma a necessidade de uma temperatura elevada, em torno de 28°C e 37°C para a reprodução e crescimento do agente (DE COCK *et al.*, 1987; KRAJAEJUN *et al.*, 2010).

A maioria dos casos de pitiose em animais ocorreram nos EUA e no Brasil, que são países das Américas. Em contramão, quase todos os casos de pitiose humana foram relatados em dois países asiáticos: Índia e Tailândia. De acordo com algumas pesquisas, como as de Schurko *et al.* (2003) e Rujirawat *et al.*, (2017), há diferentes genótipos de *P. insidiosum* nos continentes, os quais foram divididos em clados; por exemplo, o genótipo do clado I é quase exclusivamente encontrado nas Américas, enquanto os genótipos do clado II e III são mais identificados na Ásia, podendo ser a predileção de determinado genótipo por seus hospedeiros, sendo humano ou animal, uma das causas desse contraste de casos (SCHURKO *et al.*, 2003a; RUJIRAWAT *et al.*, 2017).

P. insidiosum habita áreas pantanosas, campos de arroz, rios, canais e reservatórios de água parada e com vegetação (MILLER *et al.*, 1983; PRESSER; GOSS, 2015; ZAMBRANO *et al.*, 2017; MAR HTUN *et al.*, 2021; JARA *et al.*, 2021; RUSHFORD; NORTH; MILLER, 2022). As atividades exercidas, a rotina e hábitos de uma espécie e/ou indivíduo podem contribuir para diferentes índices da infecção. Equinos, caninos e bovinos são as espécies expostas ao habitat de *P. insidiosum* (ou seja, uma área pantanosa/alagada) com mais frequência do que os outros animais domésticos, sendo assim as espécies mais afetadas. Na Tailândia, a maioria dos pacientes humanos eram agricultores, que apresentavam um risco aumentado de contrair pitiose por trabalhar em campos

de arroz, provavelmente sem proteção adequada (óculos, luvas e botas) (KRAJAEJUN *et al.*, 2006a; WORASILCHAI *et al.*, 2018; CHITASOMBAT *et al.*, 2018; PERMPALUNG *et al.*, 2019; CHITASOMBAT *et al.*, 2020).

Vários surtos de casos humanos (todos com pitiose ocular) foram publicados nos últimos anos por centros médicos indianos (SHARMA *et al.*, 2015; MITTAL *et al.*, 2017; RATHI *et al.*, 2018; BAGGA *et al.*, 2018; RAGHAVAN *et al.*, 2018; AGARWAL *et al.*, 2019; HASIKA *et al.*, 2019; APPAVU; PRAJNA; RAJAPANDIAN, 2020; BAGGA *et al.*, 2021; GURNANI *et al.*, 2021; VISHWAKARMA *et al.*, 2021; KATE *et al.*, 2022) levando a Índia a relatar o maior número de casos de pitiose humana até agora. Enquanto a Índia apresenta um elevado número de casos da forma ocular em humanos, não sendo diagnosticado casos de pitiose vascular, a Tailândia tem quase o número total de pacientes diagnosticados com essa forma clínica, onde possuem uma condição hematológica subjacente, a talassemia (CHITASOMBAT *et al.*, 2020; KRAJAEJUN *et al.*, 2006a), sendo ela altamente prevalente na Tailândia e em outros países do Sudeste Asiático. Permanece desconhecido como a talassemia está associada à pitiose, podendo estar ligada ao comprometimento imunológico dos pacientes (VENTO *et al.*, 2006).

As regiões brasileiras com maior prevalência de casos de pitiose equina são o Pantanal (Fig. 11) (LEAL *et al.*, 2001; SANTOS *et al.*, 2011; SANTOS *et al.*, 2014) e os Pampas do Rio Grande do Sul (Fig. 12) (MARCOLONGO-PEREIRA *et al.*, 2012; WEIBLEN *et al.*, 2015), onde fatores como altas temperaturas, áreas alagadas e o grande número de animais podem estar relacionados (SANTURIO *et al.*, 2006; SANTOS *et al.*, 2014).

A pitiose gera prejuízos econômicos significativos para a equideocultura, uma vez que não há tratamento específico para a doença, ficando assim incerto o seu prognóstico (SANTOS *et al.*, 2011) podendo levar a invalidez e/ou encerramento precoce da vida atlética dos animais acometidos, como também a morte (ÁLVAREZ *et al.*, 2013).

Embora a doença ocorra com maior frequência em equinos, casos de pitiose em bovinos têm sido diagnosticados na região do Pantanal (SANTURIO *et al.*, 1998; SANTOS *et al.*, 2011), nas regiões Oeste (GABRIEL *et al.*, 2008) e

Sul do Rio Grande do Sul (GRECCO *et al.*, 2009) e região costeira tropical e semiárida do Nordeste (MAIA *et al.*, 2020). Comparando com os equinos, as perdas econômicas com a pitiose bovina são bem menos expressivas, pois os bovinos apresentam cura espontânea com remissão total das lesões em um período de três semanas a três meses, sem que haja grandes prejuízos (SANTOS *et al.*, 2011).



Figura 12 Região do Pantanal, Brasil, mostrando gado e equino em região alagada e com bastante vegetação. Fonte: cnabrazil.org.br



Figura 11 Pampa Gaúcho. Ambiente com áreas alagadas e presença de animais (bovino, equino). Fonte: comprerural.com

Nos EUA, as espécies mais frequentemente diagnosticadas com infecções por *P. insidiosum* foram a equina e canina, e apresentaram distribuições geográficas semelhantes, sendo o foco os estados do Sudeste (Arkansas, Alabama, Flórida, Geórgia, Louisiana, Mississippi e Texas). A maioria dos casos nessas duas espécies ocorreu na Flórida e no Texas, com aglomerados na Louisiana, Mississippi e no sul de Oklahoma. No geral, os cavalos apresentaram o maior número de casos durante o verão e o outono, enquanto os cães apresentaram mais casos no outono e no inverno (NGUYEN *et al.*, 2021). O isolamento de *P. insidiosum* de vários lagos na Flórida explica em parte o alto índice da doença nessa região (PRESSER; GOSS, 2015).

Em relação ao isolamento ambiental, dez publicações descreveram os isolamentos e as detecções moleculares de *P. insidiosum* em amostras de água ou solo em quatro países. O primeiro isolamento se deu em áreas pantanosas de Queensland, Austrália. O patógeno também foi isolado em alguns estados do sudeste e centro-oeste dos EUA. A recuperação do organismo foi documentada nos estados do Rio Grande do Sul e São Paulo, nas regiões sul e sudeste do

Brasil. Além disso, três estudos na Tailândia demonstraram que *P. insidiosum* está bem difundido nos campos de arroz e reservatórios de água nas províncias do norte, centro e sul (MILLER *et al.*, 1983; SUPABANDHU *et al.*, 2008; VANITTANAKOM *et al.*, 2014; PRESSER; GOSS, 2015; ZAMBRANO *et al.*, 2017; MAR HTUN *et al.*, 2021; NAVARRO-ACEVEDO *et al.*, 2021; RUSHFORD; JARA *et al.*, 2021; NORTH; MILLER, 2022; PAZ *et al.*, 2022).

Há dois relatos de isolamento de *P. insidiosum* de larva de mosquito. O primeiro foi cultivado a partir de uma larva de mosquito infectada na Índia (SCHURKO *et al.*, 2003a), no qual os detalhes sobre condições do isolamento da cultura e características patológicas do mosquito infectado não estão disponíveis (VILELA *et al.*, 2018). O segundo estudo é o primeiro relato completo de *P. insidiosum* infectando espécies de insetos e relata a caracterização dos isolados obtidos a partir de larvas de mosquitos infectados coletadas no estado do Tocantins, região central do Brasil, onde foi feito sequenciamento molecular, análise filogenética, uso de características sorológicas e fisiológicas para verificação da identidade das cepas (VILELA *et al.*, 2018). Esses relatos podem indicar a importância de estudos em artrópodes como possíveis disseminadores da doença.

2.3 PATOGÊNESE

Pythium spp. são microrganismos ecologicamente versáteis, ocorrendo em praticamente todos os solos e ambientes úmidos (RIVIERRE *et al.*, 2005). Seu ciclo ecológico é baseado na colonização de plantas aquáticas, utilizadas como substrato para o desenvolvimento e reprodução do organismo, dando origem aos zoosporângios (DE COCK *et al.*, 1987; MENDOZA *et al.*, 1993).

Os zoósporos (propágulos infecciosos) livres na água, movimentam-se através de seus flagelos a procura de pêlos de animais, feridas, pele danificada, mucosa intestinal e folhas de plantas, na qual se encistam e emitem o tubo germinativo, dando origem a um novo micélio e completando o seu ciclo (MILLER, 1983; DE COCK *et al.*, 1987; MENDOZA *et al.*, 1993).

Lesões causadas por punções e picadas de insetos também podem ser uma "porta de entrada" para *P. insidiosum* (MENDOZA *et al.*, 1993; MENDOZA

et al., 1996; REES, 2004). Após a liberação de zoósporos, a invasão de tecidos vegetais e animais é permitida através da ativação de vários mecanismos, no qual o zoósporo encista-se nos tecidos danificados e secreta glicoproteína amorfa para facilitar a adesão à superfície (MENDOZA *et al.*, 1993; MENDOZA, 2016). Estimulados pela temperatura corporal do hospedeiro, os zoósporos encistados desenvolvem-se em hifas que se estendem para o tecido infectado e invadem os vasos sanguíneos (GAASTRA *et al.*, 2010).

A pressão exercida pela ponta da hifa já foi determinada por Ravishankar *et al.* (2001) e os autores concluíram que, apesar da força de 6,9 mN, esta não é suficiente para que haja penetração da pele. A ação de enzimas proteolíticas, somadas à força exercida pela ponta da hifa, são fundamentais para que as hifas do patógeno penetrem o interior dos tecidos (RAVISHANKAR *et al.* 2001; DAVIS *et al.* 2006). Chechi *et al.* (2019) avaliaram o perfil proteico de isolados de *P. insidiosum* e inferiram que a enzima enolase poderia ter papel importante na patogênese, uma vez que essa enzima está envolvida na degradação da matriz extra-celular e nos processos de adesão.

Conforme a hifa de *P. insidiosum* vai se desenvolvendo no tecido ocorre a liberação de exo-antígenos, os quais são quimiotáticas para as células apresentadoras de antígenos, particularmente as células dendríticas, as quais secretam interleucina 4 (IL-4) que estimula a subpopulação de linfócitos Th0 a diferenciarem-se em perfil de resposta imune do tipo Th-2. Dessa forma há mais liberação de IL-4 sobre as células B, as quais irão produzir IgM, IgG e IgE. IL-5 e IgE mobilizam eosinófilos e mastócitos para o local da infecção, formando uma reação granulomatosa eosinofílica levando ao desenvolvimento de um material tipo *Splendore-Hoeppli* ao redor das hifas, que são encontradas no centro dos microabscessos eosinofílicos.

O processo patogênico da pitiose tem sido associado à degranulação de eosinófilos e mastócitos (células inflamatórias) ao redor das hifas e esse fato contribui para o dano tecidual, levando a lesões extensas. Em equinos a reação é tão pronunciada que os eosinófilos degranulam fortemente ao redor das hifas de *P. insidiosum* formando as concreções firmes denominadas “kunkers”. É interessante destacar que o patógeno está camuflado dentro do material eosinofílico, fato que representa uma estratégia evolutiva que protege *P.*

insidiosum de se apresentar plenamente às defesas do hospedeiro (MILLER; CAMPBELL, 1982; MENDOZA *et al.*, 1992; MENDOZA; MANDY; GLASS, 2003; MENDOZA; NEWTON, 2005).

2.4 SINAIS CLÍNICOS

Os sinais clínicos dependem da espécie afetada, indo de lesão granulomatosa em tecidos cutâneo e subcutâneo, lesão em tecido gastrointestinal e ocular, a oclusão arterial e envolvimento de órgãos internos (BOSCO *et al.*, 2016).

*Equídeos

Nos equinos, a principal forma é a cutânea, onde devido ao contato com águas contaminadas com zoósporos pode desenvolver a infecção principalmente nas extremidades distais dos membros e porção ventral da parede toraco-abdominal (CHAFFIN *et al.*, 1995; LEAL *et al.*, 2001; MARTINS *et al.*, 2012; PESSOA *et al.*, 2014). Consistem em tecido ulcerativo nodular piogranulomatoso grande (5 a 500 mm), arredondado, que drenam um exsudato serossanguinolento de odor fétido, e o animal apresenta prurido intenso (Fig. 13) (GAASTRA *et al.*, 2010). Também pode haver a formação de "kunkers" (Fig. 14), que consiste em material necrótico amarelo-acinzentado advindo do tecido acometido e das fístulas de drenagem que ele possui, e é específico da pitiose em equídeos (GAASTRA *et al.*, 2010). Essas massas variam de 2 a 10 mm de diâmetro, têm forma irregular, ramificada, com aspecto arenoso e penetram no tecido granular, dentro de "sinus" formados ao longo do seu trajeto (MEIRELLES *et al.*, 1993; CHAFFIN *et al.*, 1995).

Quando as lesões se desenvolvem nos membros (principalmente perto das articulações), a claudicação é um achado frequente (MENDOZA, 2016). A forma cutânea também pode envolver os linfonodos (CHAFFIN *et al.*, 1995; MARTINS *et al.*, 2012) e os ossos (MENDOZA *et al.*, 1988; ALFARO; MENDOZA, 1990; EATON, 1993).



Figura 13 Ulcerações granulomatosas, sobressalentes e elevadas com bordas irregulares e em forma de cratera. Fonte: ÁLVAREZ; VILORIA; AYOLA (2013).



Figura 14 “Kunkers”: material necrótico amarelo-acinzentado. Fonte: ÁLVAREZ; VILORIA; AYOLA (2013).

Os casos descritos de pitiose intestinal em equinos cursaram com episódios de cólica, causadas pela presença de massas teciduais, levando a redução e/ou obstrução do lúmen intestinal (BROWN; ROBERTS, 1988; BEZERRA JÚNIOR, 2010).

Há um caso descrito na literatura de pitiose pulmonar em um equino que um ano após lesão cutânea tratada por meio de exérese onde houve cicatrização completa, apresentou secreção nasal sanguinolenta bilateral com três meses de evolução e tosse durante o exercício. A principal anormalidade física foram os sons respiratórios ásperos. As radiografias torácicas revelaram grande

quantidade de líquido pleural e consolidação dos lobos ântero-ventrais do pulmão (GOAD, 1984).

Há poucos casos na literatura descrevendo a pitiose afetando a região nasal de equinos. Souto *et al.* (2016) descreveram como sinais clínicos grave inchaço das narinas com área central ulcerada e secreção serossanguinolenta em um equino. Outro caso cursou com perda de peso progressiva, desidratação, dispneia, edema facial e ferida nasal fétida com secreção serossanguinolenta. Devido ao quadro clínico grave e prognóstico ruim, ambos animais foram eutanasiados (Fig. 15) (SOUTO *et al.*, 2016).

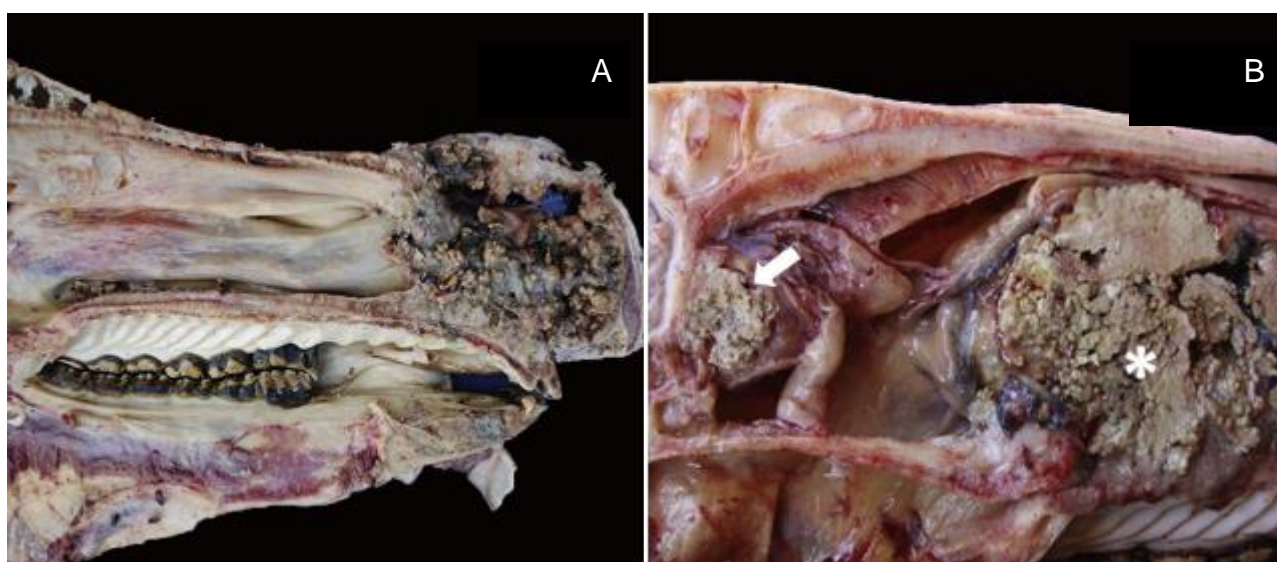


Figura 15 A: cavidade contendo áreas de necrose e kunkers no vestíbulo nasal. B: Áreas necróticas contendo grande infiltração de “kunkers” nos cornetos nasais, meatos (asterisco) e região etmoidal (seta). Fonte: SOUTO *et al.* (2016).

Um caso recente na Tailândia descreveu uma égua de quatro anos com história de uma massa nodular no septo nasal direito com evolução de um mês. A massa estava a aproximadamente 10 cm do focinho; o tamanho era de aproximadamente 3 cm de diâmetro com ferida ulcerativa com presença de “kunkers” e secreção serossanguinolenta onde a dor intensa na região também se fazia presente (TONPITAK *et al.*, 2018).

Há um relato de pitiose em uma fêmea asinina (*Equus asinus*), que apresentava múltiplos nódulos, arredondados, firmes, variando de 1 a 11 cm de diâmetro, alguns ulcerados e outros sem pêlos, distribuídos na região ventral do tórax e abdômen, membros anteriores, membros posteriores e glândula

mamária. As lesões maiores eram ulceradas, com exsudato serossanguinolento, e, adjacente aos focos, foram observadas algumas pequenas cavidades contendo “kunkers” (Fig. 16) (MAIA *et al.*, 2016).



Figura 16 A. Lesões cutâneas nodulares e ulcerativas drenando exsudato serossanguinolento, do tórax de uma asna (*Equus asinus*). B. Superfície de corte da lesão cutânea mostrando “kunkers” e um trato de drenagem hemorrágico circundado por tecido castanho claro a b branco, liso e brilhante. Fonte: MAIA *et al.* (2016).

*Ruminantes

Nos bovinos, a doença foi descrita afetando a região de membros torácicos e pélvicos, algumas vezes estendendo-se até a região torácica ventral, onde os animais podem apresentar massas tumorais com fístulas, tecido ulcerado edematoso, podendo apresentar profuso exsudato serossanguinolento. As áreas afetadas são extremamente dolorosas. Também pode ocorrer infecção bacteriana secundária (Fig. 17) (GAASTRA *et al.*, 2010; GRANT *et al.*, 2016). A literatura descreve casos de remissão espontânea em alguns bovinos acometidos após o período do desenvolvimento das lesões (KONRADT *et al.*, 2016).



Figura 17 Bovinos afetados por pitiose cutânea. A: Lesão ulcerada na face lateral da porção distal do metatarso. B: Lesão ulcerada entre a face lateral e caudal da porção distal do metatarso. Há edema da porção distal do membro. Fonte: GRECCO *et al.* (2009).

Em ovinos, a pitiose tem sido relatada como causadora de lesões cutâneas em diferentes regiões do corpo e como doença rinofaríngea (TABOSA *et al.*, 2004; RIET-CORREA *et al.*, 2008). A forma cutânea é caracterizada por edema local com dermatite ulcerativa progressiva nos membros, bem como nas regiões abdominal e pré-escapular. Dor, anorexia e claudicação também são observados (Fig. 18) (DO CARMO; UZAL; RIET-CORREA, 2021).



Figura 18 Pitiose em ovinos. A: dermatite ulcerativa e celulite na região pré-escapular, sugestivas de lesão primária em linfonodo pré-escapular. B: granuloma ulcerativo grave no metatarso. Fonte: DO CARMO; UZAL; RIET-CORREA (2021).

Os sinais clínicos envolvendo a rinofaringe são caracterizados por aumento acentuado e deformidade da região nasal, dificuldade respiratória grave e secreção nasal sanguinolenta. É comum a observação de fístulas oronasais com úlceras no palato duro e aumento dos gânglios linfáticos retrofaríngeos e parotídeos (Fig. 19) (DO CARMO; UZAL; RIET-CORREA, 2021).

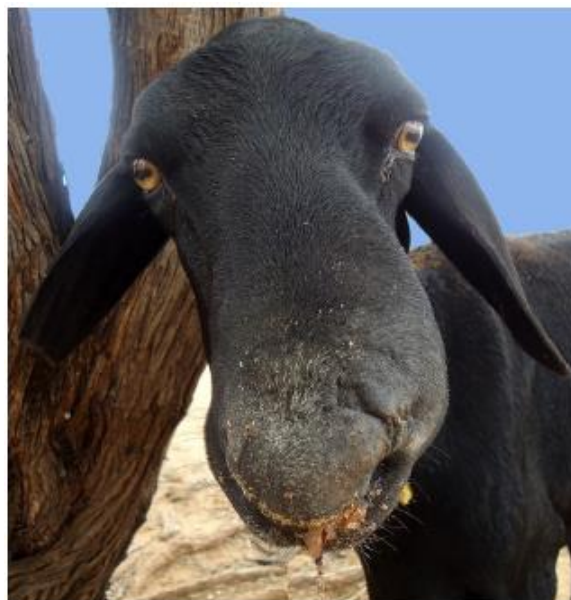


Figura 19 Pitiose em ovinos. Acentuado alargamento e deformidade da região nasal. Exsudato purulento é observado na boca como resultado de ulceração do palato duro. Fonte: DO CARMO; UZAL; RIET-CORREA (2021).

Há um relato de pitiose no trato digestivo de dois filhotes onde os sinais clínicos cursaram com regurgitação alimentar, letargia e anorexia/hiporexia. Os dois animais foram a óbito (PESSOA *et al.*, 2012).

Foi relatado um caso de pitiose em um caprino que apresentava claudicação e emagrecimento associado a extensa lesão cutânea ulcerativa, exsudativa e pruriginosa na região metatarso-falângica do membro posterior esquerdo onde os sinais clínicos iniciais foram observados ao longo 1 mês (Fig. 20). Realizou-se excisão cirúrgica completa da lesão e tratou a ferida cirúrgica como ferida aberta com clorexidina e repelente de insetos. Duas semanas após a excisão, a cabra não apresentava sinais clínicos de pitiose (DO CARMO *et al.*, 2015).



Figura 20 Pitiose em caprinos. Extensa lesão cutânea ulcerativa em região metatarsofalângica do membro pélvico esquerdo. Fonte: DO CARMO *et al.* (2015).

*Cães

Os cães afetados são geralmente de regiões rurais e se infectam ao entrar em contato ou beber água, em lagoas ou rios, contaminada com zoósporos (FOIL *et al.*, 1984). Nos cães a doença também se manifesta nas formas cutânea/subcutânea e gastrointestinal. A forma gastrointestinal é a mais comum e o diagnóstico é, geralmente, *post mortem* (Fig. 21), onde manifesta-se com distúrbios digestivos como anorexia crônica, fraqueza, perda de peso, vômitos, tenesmo, diarreia que podendo ser sanguinolenta, e presença de massa nodular firme quando submetidos a palpação abdominal (FISCHER *et al.*, 1994; AEFFNER *et al.*, 2015; SUKANAN *et al.*, 2022). As lesões podem se espalhar para tecidos adjacentes, como pâncreas, útero, linfonodos mesentéricos e próstata, levando a hipertrofia prostática e tenesmo (JAEGER; ROTSTEIN; LAW, 2002; MENDOZA, 2016). Lesões na orofaringe, laringe e porção cranial do esôfago também podem ser encontradas (PATTON *et al.*, 1996; HELMAN; OLIVER, 1999).

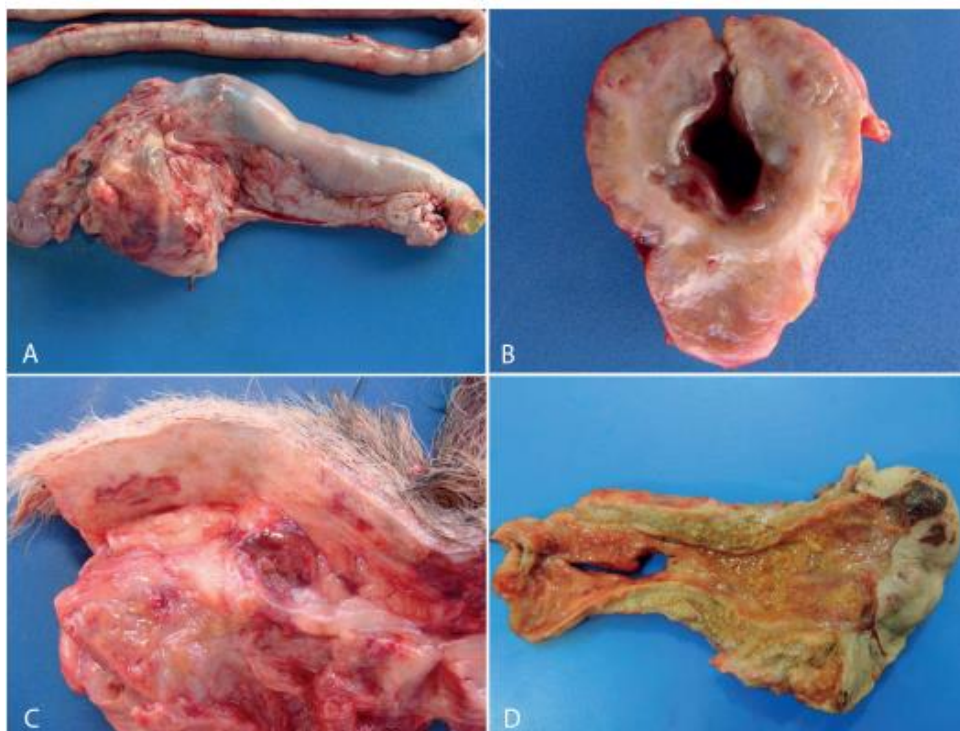


Figura 21 Pitiose em cães. (A) Massa irregular envolvendo intestino, mesentério e pâncreas. (B) Superfície em corte transversal do intestino mostrando espessamento da parede intestinal, com áreas multifocais amareladas e estenose do lúmen. (C) Espessamento da derme e subcutâneo com áreas multifocais a amarelo coalescente intercaladas com tecido esbranquiçado. (D) Espessamento da parede do reto e áreas focais de ulceração na junção mucocutânea. Fonte: FRADE *et al.* (2017).

As formas cutâneas/subcutâneas cursam com dermatite hemorrágica, piogranulomatosa e ulcerada com bordas reativas e irregulares, podendo conter áreas de necrose e são geralmente localizadas nos membros e na região ventral do pescoço, face, períneo e tórax, bem como linfadenopatia regional (Fig. 22) (PEREIRA *et al.*, 2010; OLDENHOFF *et al.*, 2014; CHINDAMPORN *et al.*, 2020).



Figura 22 Pele de cão: apresentação clínica da lesão mostrando uma grande úlcera com borda bem demarcada e múltiplos trajetos fistulosos de drenagem. Fonte: NETO *et al.* (2009).

*Felinos

A pitiose em gatos é pouco relatada na literatura, onde os relatos são descritos afetando pele e tecido subcutâneo, região nasal e retrobulbar, cavidade oral e intestinos (SOUTO *et al.*, 2020). Os sinais clínicos presentes na infecção retrobulbar e nasal incluem, respectivamente, protrusão da membrana nictitante com conjuntivite e edema no palato duro, estridor respiratório leve e linfadenopatia submandibular bilateral foram observados (BISSONNETTE *et al.*, 1991). Na forma intestinal foi observado obstrução intestinal e as apresentações clínicas foram anorexia e vômito. (RAKICH; GROOTERS; TANG, 2005). Relatos recentes de pitiose na cavidade oral cursaram com a presença de massa multilobular e irregular em região sublingual (Fig. 23); volume facial com deformidade e halitose ocasionados pela presença de massa esbranquiçada no palato mole, disfagia, oligodipsia e perda de peso (Fig. 24) (FORTIN *et al.*, 2017; SOUTO *et al.*, 2020). As lesões cutâneas foram observadas como dermatite ulcerativa nodular ou em placa (DOWST *et al.*, 2019) ou massas dérmicas e

subcutâneas profundas com presença ou não de ulcerações (Fig. 25) (SOARES *et al.*, 2019; SOUTO *et al.*, 2020). Felinos selvagens, como a onça-pintada e o tigre-de-bengala, têm sido relatados com pitiose pulmonar e cutânea, respectivamente (CAMUS *et al.*, 2004; BUERGELT *et al.*, 2006).



Figura 23 Vistas laterais da massa sublingual 5 dias após a biópsia. Fonte: FORTIN *et al.* (2017).

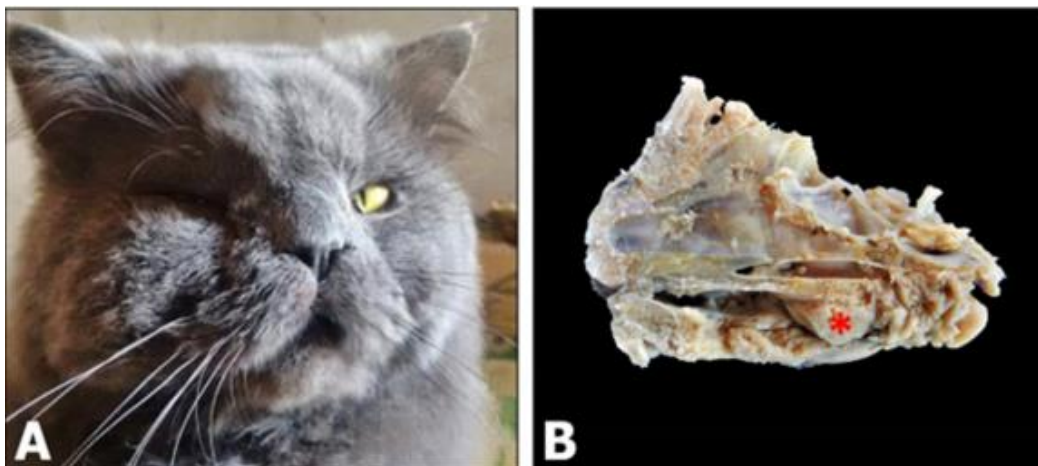


Figura 24 A: aumento de volume da bochecha direita, com assimetria e deformidade da face. B: Corte sagital direito da cabeça. Massa nodular esbranquiçada (asterisco vermelho) localizada no palato mole. Fonte: SOUTO *et al.* (2020).



Figura 25 1: Lesão redonda coberta por uma superfície crostosa necrótica. A e B: Lesão após a remoção da crosta necrótica. Fonte: DOWST *et al.* (2019).

*Aves

O primeiro relato de pitiose em aves ocorreu na Califórnia, EUA, em um filhote de Caraúna-de-cara-branca (*Plegadis chihi*) o qual apresentou apenas acometimento cutâneo (PESAVENTO *et al.*, 2008). Este relato mostra que *P. insidiosum* tem potencial infeccioso para aves e, portanto, os veterinários que lidam com aves, especialmente as de ambiente aquático, devem investigar lesões de pele semelhantes para a presença deste oomiceto (GAASTRA *et al.*, 2010).

No Brasil já foi relatado um caso de lesão esofágica em avestruz (*Struthio camelus*) que apresentava hiporexia há uma semana e disfagia devido a presença de uma massa no terço médio do esôfago. O animal foi submetido a cirurgia para remoção total da massa granulomatosa (SOUTO *et al.*, 2019).

*Camelos

Foi relatada a pitiose em um camelo dromedário (*Camelus dromedarius*) que apresentou como sintomas uma massa no lado direito da face com evolução de um mês, apresentando o linfonodo submandibular direito aumentado. As radiografias da mandíbula mostraram edema dos tecidos moles sem envolvimento ósseo aparente (WELLEHAN *et al.*, 2004). Outros dois relatos em camelo dromedário (*Camelus dromedarius*) envolviam lesões vulvares (Fig. 26), apresentando perda de peso, falta de apetite e presença de grandes lesões

granulomatosas vulvares com evolução de um mês, porém não apresentando prurido (VIDELA *et al.*, 2012).



Figura 26 A figura mostra as lesões vulvares em camelos. As lesões eram secas e não pruriginosas. Fonte: VIDELA *et al.* (2011).

Há um relato de acometimento gástrico em um camelo bactriano (*Camelus bactrianus*), o qual apresentou sinais clínicos de letargia e perda de peso durante um curso clínico de 30 dias e foi a óbito. Na necropsia, o terceiro compartimento estomacal (C-3) apresentou ruptura ao longo da curvatura maior, onde havia grande presença de fibrina, e exibia espessamento focal acentuado da parede (Fig. 27). Próximo a essa área havia lesões nodulares ulceradas, que se projetavam para a superfície da mucosa. Na superfície de corte, essas lesões nodulares consistiam em massas multifocais a coalescentes amarelas, irregulares, firmes, mas friáveis (HECK *et al.*, 2018).

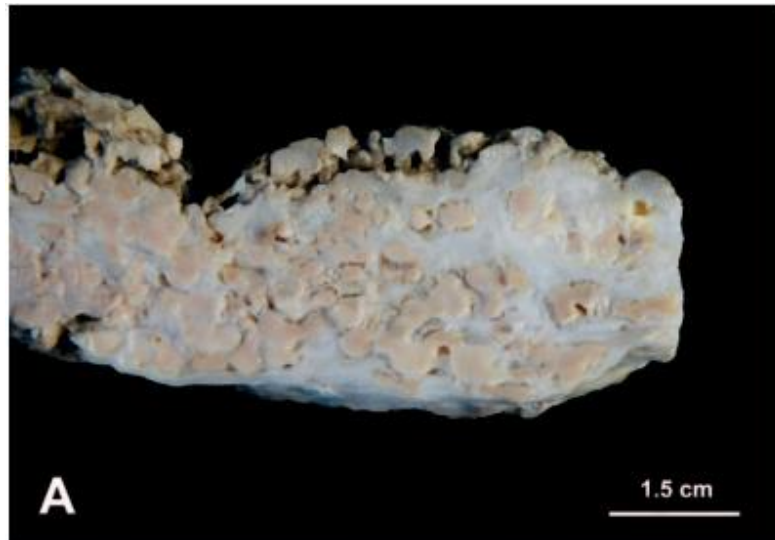


Figura 27 A. Corte sagital do terceiro compartimento do estômago (C-3) mostrando acentuado espessamento da parede, com massas multifocais a coalescentes amareladas e irregulares entremeadas por tecido esbranquiçado (fibrose). Fonte: HECK *et al.* (2018).

***Humanos**

Em geral, a pitiose humana é comumente observada em pacientes com idade entre 20 e 60 anos e trabalhadores do sexo masculino com ocupação relacionada à agricultura e pesca (KRAJAEJUN *et al.*, 2006a).

A doença pode surgir na forma cutânea/subcutânea, com o aparecimento de vesícula/bolha, úlcera cutânea, celulite, edema crônico, lesão subcutânea dolorosa, nódulo infiltrativo e úlcera no membro e celulite necrosante (Fig. 28) (KRAJAEJUN *et al.*, 2006a; KIRZHNER *et al.*, 2015).

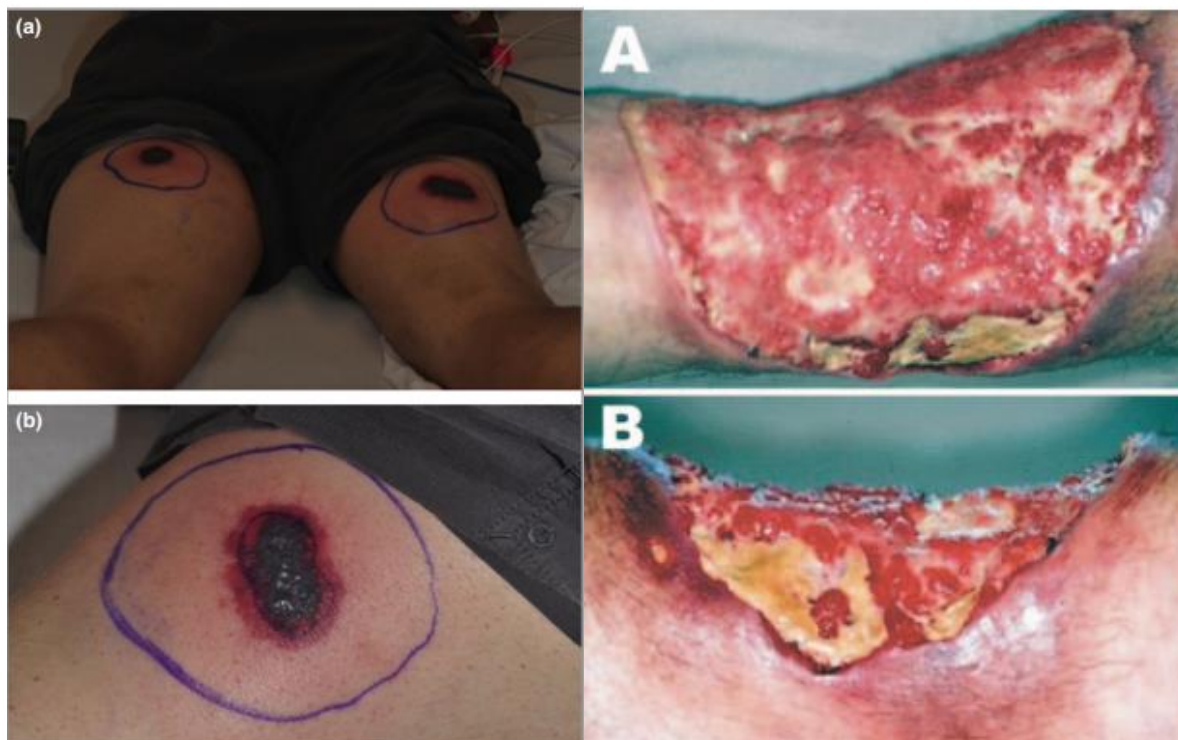


Figura 28 Lesão necrótica com celulite circundante. (a) Mancha hemorrágica com necrose central e alterações de celulite circundante nas coxas posteriores. (b) Visão aproximada; Fonte: HILTON *et al.* (2016); úlcera tibial de 15 cm de diâmetro com borda proximal infiltrativa e nodular a grande extensão da lesão em vista frontal (A) e em profundidade (B) medial. Fonte: BOSCO *et al.* (2005).

Na forma sistêmica, estão comprometidas as artérias dos membros inferiores. Os pacientes geralmente possuem um distúrbio hematológico subjacente, a talassemia. A maioria dos pacientes apresenta lesões cutâneas crônicas que não cicatrizam, claudicação intermitente, parestesia, ausência de pulso arterial e evidência de arterite ou trombose, úlcera gangrenosa e aneurisma femoral ou aneurisma aórtico, cujo rompimento resulta em morte (Fig. 29) (KRAJAEJUN *et al.*, 2006a; PERMPALUNG *et al.*, 2015; REANPANG *et al.*, 2015; SERMSATHANASAWADI *et al.*, 2016).



Figura 29 A: lesão ulcerativa granulada na face medial da perna esquerda; B: angiografia por subtração digital mostrando oclusão das artérias femorais superficiais esquerdas distais e poplítea com enchimento colateral; C: superfície da artéria poplítea revelando parede fibrótica aneurismática com coágulo intraluminal. Fonte: LAOHAPENSANG et al. (2009).

Alterações na cor e textura da pele, como sequela de insuficiência arterial também podem ser observadas. A pitiose vascular das extremidades superiores foi ocasionalmente relatada (KHUNKHET; RATTANAKAEMAKORN; RAJATANAVIN, 2015; WORASILCHAI *et al.*, 2018). Existem apenas alguns casos de envolvimento da artéria carótida, uma condição extremamente rara, mas potencialmente fatal, que resulta em meningite, embolia séptica cerebral, abscessos cerebrais e morte (HOFFMAN; CORNISH; SIMONSEN, 2011; HILTON *et al.*, 2016; CHITASOMBAT *et al.*, 2018b).

Pacientes com pitiose ocular (também conhecida como ceratite por *Pythium*) possuem alguns fatores predisponentes para o desenvolvimento da doença, como o desenvolvimento de atividade agrícola ou, quando são indivíduos sem atividade agrícola, higiene inadequada das lentes de contato (LEKHANONT *et al.*, 2009; LELIEVRE *et al.*, 2015; BAREQUET; NEUFELD *et al.*, 2018; RAGHAVAN *et al.*, 2018; MAENO *et al.*, 2019; BERNHEIM *et al.*, 2019)

e exposição a poeira ou algum corpo estranho em seus olhos (BAGGA *et al.*, 2018; HASIKA *et al.*, 2019). Podem apresentar dor ocular, irritação, fotofobia, diminuição da acuidade visual, vermelhidão conjuntival e inchaço da pálpebra, semelhante a uma ceratite microbiana.

O início clínico da pitiose ocular pode variar de dois dias a mais de um mês. A ceratite por *Pythium insidiosum* geralmente é clinicamente indistinguível da ceratite fúngica, porque os agentes causadores compartilham algumas características clínicas (como a presença de infiltrados estromais branco-acinzentados com margens emplumadas na biomicroscopia de lâmpada de fenda) e achados microscópicos (como estruturas ramificadas lineares septadas em uma amostra de raspagem da córnea) (Fig. 30) (CHITASOMBAT *et al.*, 2020), o que leva a necessidade de um teste para o correto diagnóstico.

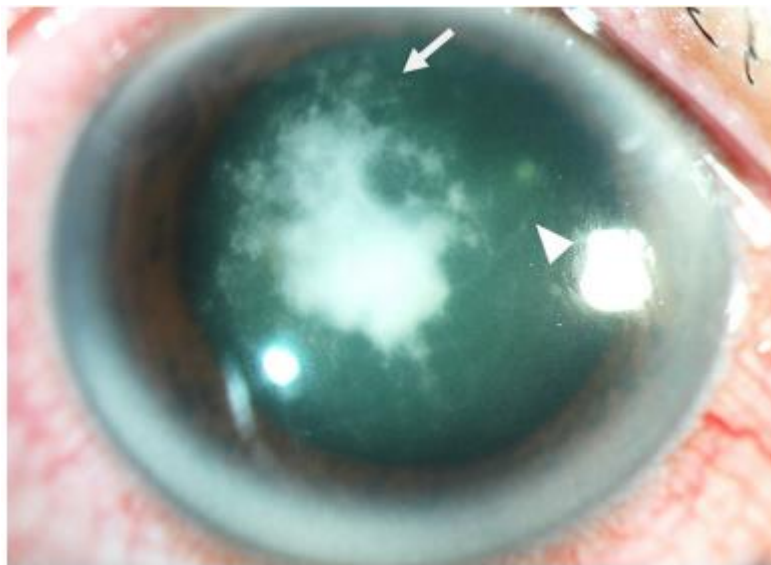


Figura 30 A fotografia com lâmpada de fenda da córnea infectada demonstra infiltrados centrais, densos, branco-acinzentados com extensões semelhantes a tentáculos (cabeça de seta) e infiltrados subepiteliais semelhantes a pontos irradiando em um padrão reticular da lesão (seta). Fonte: CHITASOMBAT *et al.* (2020).

No Brasil, o primeiro e até então único relato de pitiose humana foi descrito por Bosco *et al.* (2005) e Marques *et al.* (2006), ao relatarem o surgimento de ferimento ulcerado em extremidade de membro pélvico de um homem após participar de atividade de pescaria.

2.5 DIAGNÓSTICO

O diagnóstico da pitiose inicialmente era baseado no aspecto clínico, histopatológico e isolamento e identificação do agente, o que tornava o diagnóstico precoce difícil, causando impactos diretos no sucesso do tratamento. Posteriormente, métodos como imunohistoquímica e técnicas sorológicas foram implementadas levando a um diagnóstico precoce e mais assertivo (MENDOZA *et al.*, 1996). Técnicas de diagnóstico molecular também estão disponíveis para detecção da sequência de DNA específica de *Pythium insidiosum* em amostras clínicas, assim como mais recentemente, o emprego de análise proteômica (BOSCO *et al.*, 2005; KEERATIJARUT *et al.*, 2015; WORASILCHAI *et al.*, 2018; KRAJAEJUN *et al.*, 2018; MANI *et al.*, 2019).

***Manuseio da amostra e identificação na cultura**

O transporte de material de um paciente com suspeita de pitiose para um laboratório é uma etapa de grande importância para o sucesso no isolamento. O controle da temperatura é essencial para garantir a viabilidade da amostra, tendo-se como ideal para *P. insidiosum* entre 28°C e 37°C; temperaturas relativamente baixas ou altas demais podem inibir completamente o crescimento ou mesmo matar o organismo (KRAJAEJUN *et al.*, 2010). A falha no isolamento está ligada ao armazenamento da amostra clínica em baixa temperatura, como geladeira ou freezer (BROWN; ROBERTS, 1988). Quando o transporte imediato de uma amostra de cultura não é possível, é recomendado armazenar a amostra em água destilada estéril durante o período de transferência para o laboratório (MENDOZA; AJELLO; MCGINNIS, 1996).

A coleta para cultura deve ser feita assepticamente da borda dos tecidos infectados, lavada três vezes em solução salina ou água destilada estéreis e cortada em pequenos fragmentos que devem ser imersos no meio de cultura de escolha, sendo eles: ágar Sabouraud dextrose, ágar batata dextrose, ágar farinha de milho e ágar sangue (CHAIPRASERT *et al.*, 1990; GROOTERS *et al.*, 2002; BOSCO *et al.*, 2019). Apenas em equídeos a cultura deve ser realizada a partir dos “kunkers”, caso contrário, o isolamento não é possível (BOSCO *et al.*, 2019). Após a inoculação no meio de escolha, uma colônia plana esbranquiçada ou incolor pode ser observada dentro de 24 horas a três dias (DE COCK *et al.*,

1987; KRAJAEJUN *et al.*, 2010). A zoosporogênese pode ser induzida no laboratório usando folhas de grama estéreis e a solução de indução (MENDOZA, PRENDAS, 1988).

***Sorodiagnóstico**

Vários métodos foram desenvolvidos para detectar anticorpos específicos de *P. insidiosum* no soro (CHITASOMBAT *et al.*, 2020). A imunodifusão (ID) é um ensaio simples, econômico e específico, projetado para observar linhas de imunoprecipitação em gel, geradas por anticorpos anti-*P. insidiosum* no soro do paciente e no extrato de proteína bruta de *P. insidiosum*; mas, infelizmente, apresenta baixa sensibilidade, levando a resultados falso-negativos e maior tempo de resposta (em média 24 horas) (IMWIDTHAYA; SRIMUANG, 1989; PRACHARKTAM *et al.*, 1991; MENDOZA *et al.*, 1997; KRAJAEJUN *et al.*, 2009).

Para contornar a limitação da ID, o ensaio imunoenzimático (ELISA) e *Western blot* (WB) foram introduzidos; porém, contava com outras limitações como dificuldade em ser realizado na rotina devido a várias etapas necessárias e equipamentos indisponíveis (MENDOZA *et al.*, 1997; KRAJAEJUN *et al.*, 2002; JINDAYOK *et al.*, 2009). A hemaglutinação (HA) e o teste imunocromatográfico (ICT) são testes rápidos e fáceis de usar que detectam anticorpos anti-*P. insidiosum* dentro de 30-60 minutos (KRAJAEJUN *et al.*, 2009; JINDAYOK *et al.*, 2009; CHAREONSIRISUTHIGUL *et al.*, 2013; INTARAMAT *et al.*, 2016).

O uso de coloração histológica padrão, como a coloração de prata metenamina de Grocott-Gomori (GMS) ou ácido periódico-Schiff (PAS) não é eficaz para a diferenciação entre *P. insidiosum* e alguns outros fungos filamentosos, os quais compartilham morfologias microscópicas como *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp., fungos zigomicetos, entre outros (KAUFMAN, 1998; MENDOZA; PRASLA; AJELLO, 2004; KRAJAEJUN *et al.*, 2006a). Ensaio de coloração imuno-histológica foram desenvolvidos para facilitar a detecção microscópica de *P. insidiosum* (MENDOZA, AJELLO, MCGINNIS, 1996; KEERATIJARUT *et al.*, 2009; INKOMLUE *et al.*, 2016), como, por exemplo, o ensaio de imunofluorescência direta usando anticorpos anti-*P. insidiosum* de coelho conjugados com isotiocianato de fluoresceína (MENDOZA; KAUFMAN;

STANDARD, 1987; MENDOZA; AJELLO; MCGINNIS, 1996). Esses ensaios de imunocoloração requerem um exame cuidadoso sob um microscópio de luz ultravioleta para confirmar a presença de *P. insidiosum* em tecidos infectados (CHITASOMBAT *et al.*, 2020).

***Histopatológico**

O uso de coloração histológica padrão, como a coloração de prata metenamina de Grocott-Gomori (GMS) ou ácido periódico-Schiff (PAS) não é eficaz para a diferenciação entre *P. insidiosum* e alguns outros fungos filamentosos, os quais compartilham morfologias microscópicas como *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp., fungos zigomicetos, entre outros (KAUFMAN, 1998; MENDOZA; PRASLA; AJELLO, 2004; KRAJAEJUN *et al.*, 2006a). Ensaios de coloração imuno-histológica foram desenvolvidos para facilitar a detecção microscópica de *P. insidiosum* (MENDOZA, AJELLO, MCGINNIS, 1996; KEERATIJARUT *et al.*, 2009; INKOMLUE *et al.*, 2016), como, por exemplo, o ensaio de imunofluorescência direta usando anticorpos anti-*P. insidiosum* de coelho conjugados com isotiocianato de fluoresceína (MENDOZA; KAUFMAN; STANDARD, 1987; MENDOZA; AJELLO; MCGINNIS, 1996). Esses ensaios de imunocoloração requerem um exame cuidadoso sob um microscópio de luz ultravioleta para confirmar a presença de *P. insidiosum* em tecidos infectados (CHITASOMBAT *et al.*, 2020).

***Análises moleculares**

A região do DNA ribossômico (rDNA), que é um gene multicópia que contém 18S rRNA, ITS1, 5.8S rRNA, ITS2, 28S rRNA e o espaçador intergênico, é a sequência alvo mais usada para detectar muitos microorganismos, incluindo *P. insidiosum* (GROOTERS; GEE, 2002; SCHOCH *et al.*, 2012). Inicialmente foi desenvolvido um ensaio de nested PCR, usando a região rDNA-ITS (GROOTERS; GEE, 2002; ZNAJDA; GROOTERS; MARSELLA, 2002). Após, foi desenvolvida uma nested PCR de tubo único usando um conjunto diferente de *primers* (CPL6, CPR8, YTL1 e YTR1) para detecção específica de *P. insidiosum* (THONGSRI *et al.*, 2013).

Keeratijarut e colaboradores propuseram um ensaio de PCR em tempo real direcionado a EXO1, utilizando-se os *primers Pr77 e Pr78*, para detecção de *P. insidiosum*. A sensibilidade de detecção (100%) e especificidade (100%) da PCR em tempo real foram altas e o tempo de execução foi diminuído por eliminar etapas laboriosas e tóxicas, como a eletroforese em gel e a coloração com brometo de etídio (KEERATIJARUT *et al.*, 2015).

Também foi desenvolvida a PCR multiplex, a qual baseia-se no polimorfismo de nucleotídeo único (direcionando o gene rDNA) para identificar e genotipar *P. insidiosum* simultaneamente (RUJIRAWAT *et al.*, 2017). Worasilchai e colaboradores desenvolveram uma técnica de qPCR-HRM (PCR em tempo real - *High Resolution Melting*), baseada no gene da *Cox-II*, a qual permite identificar *P. insidiosum* em amostras clínicas e posicioná-lo quanto ao clado pertencente.

Em 2018 Worasilchai e colaboradores padronizaram da técnica RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism - análise de restrição por tamanho do fragmento), a partir da amplificação de um fragmento de 91 pares de bases do gene *Cox-II* pela helicase termofílica (tHDA). Após a digestão enzimática, foi possível distinguir *P. insidiosum* dos outros fungos testados, mostrando ser um teste de bastante acurácia e potencial uso para aplicação em amostras clínicas (WORASILCHAI *et al.*, 2018).

***Análise proteômica**

São poucos estudos na área proteômica de *P. insidiosum*, quando comparado a outros fungos, e o conhecimento do perfil proteico poderá auxiliar na busca de proteínas específicas com alvo para diagnóstico e tratamento.

Em relação ao estudo proteico com foco em diagnóstico, Krajaejun e colaboradores (2006), na Tailândia, avaliaram por *Western blotting* soros de pacientes com pitiose e observaram que tais pacientes reconheciam uma proteína de 74KDa, considerada imunodominante para a resposta imunológica (KRAJAEJUN *et al.*, 2006). Esta mesma proteína foi investigada por análise de espectrometria de massas (MALDI-TOF/TOF) e foi identificada como sendo uma β -glucanase, uma vez que apresentou homologia com proteína semelhante em

Phytophthora infestans, oomiceto filogeneticamente próximo a *P. insidiosum* (KRAJAEJUM *et al.*, 2010).

Em pesquisa realizada por Lerksuthirat e colaboradores (2015), com o secretoma do *P. insidiosum*, foi observada a presença abundante de elicítina, ELI025, proteína encontrada apenas em oomicetos, principalmente em espécies do gênero *Phytophthora* e *Pythium*. Em oomicetos fitopatogênicos, elicítinas estão associadas ao transporte de moléculas e estimulam a defesa da planta. Em teste realizado com anticorpos de coelho anti-ELI025, verificou-se forte reação com ELI025 em *P. insidiosum* e, a partir disto, vem sendo desenvolvido um teste de identificação específico para a espécie. A proteína ELI025 foi encontrada somente em isolados de *P. insidiosum*, quando comparada com outros fungos patogênicos.

Em ensaio imunohistoquímico anti-ELI e anti-CFA, realizado com 38 secções histológicas de *P. insidiosum*, observou-se 100% de sensibilidade. A partir dos resultados obtidos com a ELI025, a proteína pode se tornar um biomarcador para a realização de ensaios imunohistoquímicos (INKOMLUE *et al.*, 2016).

Um estudo recente do perfil protéico de *P. insidiosum*, realizado no Brasil, detectou antígenos de diferentes massas moleculares que foram reconhecidos em diferentes espécies animais, como cães, coelhos, equinos e bovinos. As proteínas imunodominantes tinham massas entre ~ 50 – 55 Kda e ~ 34 Kda e foi observado baixo reconhecimento de proteínas de ~ 74 Kda, ~ 60 Kda, ~ 30 Kda e ~ 24 Kda (DAL BEM *et al.*, 2017).

Uma abordagem inédita empregada na análise proteômica de *P. insidiosum* foi realizada a partir de 2D-SDS-PAGE (gel de eletroforese em poliacrilamida bidimensional), no qual foram observados 186 spots proteicos com massa molecular de 12 a 89 KDa, e ponto isoelétrico entre 4-7. Desse total, 103 foram recortados e submetidos ao sequenciamento peptídico por espectrometria de massas, revelando um total de 36 diferentes proteínas, as quais foram identificadas e agrupadas de acordo com funções relacionadas à virulência, metabolismo e respiração celular, transporte e funções nucleares. As classificadas como proteínas relacionadas à virulência foram a β 1,3 glucano sintetase, Hsp 70, enolase, peroxirredoxina-2, proteína G e proteassoma unidade β (CHECHI *et al.*, 2018). Ainda nessa mesma abordagem, Chechi e

colaboradores (2021) avaliaram quais proteínas eram reconhecidas em soros de equinos e humanos com pitiose. Observou-se que alguns antígenos foram comumente reconhecidos: glucan 1,3-beta-glucosidase, fructose-bisphosphate aldolase, serine/threonine-protein phosphatase, aconitate hydratase, and 14-3-3 protein épsilon, podendo ser futuros candidatos para uso em diagnóstico e terapêutica (CHECHI *et al.*, 2021).

A técnica do MALDI-TOF (Matrix Associated Laser Desorption-Ionization – Time of Flight) consiste num sistema ao qual o material biológico é colocado em uma placa contendo matriz polimérica e a seguir, com o uso de um laser, a amostra é vaporizada causando a ionização de várias moléculas, as quais são aspiradas num tubo de vácuo e levadas a um detector (PASTERNAK *et al.*, 2012; COSTA, 2016; MARTINS, 2019). As proteínas brutas do microrganismo desconhecido são extraídas usando um protocolo otimizado e submetidas à geração do perfil espectral de massa (MSP), que posteriormente é pesquisado em um banco de dados de referência que contem MSPs dos microrganismos já tipificados (LAU *et al.*, 2013; SINGHAL *et al.*, 2015; BECKER *et al.*, 2014). Os bancos de dados de espectrometria de massa agora são complementados com os MSPs de *P. insidiosum*, sendo essa uma nova ferramenta auxiliar na identificação do agente em amostras clínicas (KRAJAEJUN *et al.*, 2018; MANI *et al.*, 2019).

2.6 TRATAMENTO

Ampla excisão cirúrgica, medicamentos e imunoterapia têm sido utilizados com algum sucesso no tratamento da pitiose, uma vez que as infecções causadas por *P. insidiosum* respondem mal à terapia antifúngica. Independente do tratamento escolhido, é de extrema importância que seja iniciado o mais precocemente possível (GAASTRA *et al.*, 2010).

*Pitiose animal

O tratamento da pitiose animal é difícil, pois muitas vezes o prognóstico é piorado pela demora no diagnóstico. O desbridamento cirúrgico extenso é a principal escolha na maioria dos casos, quando tal abordagem é viável.

Recidivas são comuns ao procedimento cirúrgico quando a remoção do tecido infectado é feita de forma incompleta, por isso é de extrema importância que a cirurgia possua margens cirúrgicas livres do patógeno (MENDOZA, 2016; BOSCO *et al.*, 2019).

Dois grupos principais de fármacos são comumente usados para tratar a pitiose: iodeto de potássio e anfotericina B. O iodeto de potássio tem sido usado desde o início do século na pitiose equina com resultados contraditórios. O uso de anfotericina B tem sido limitado em parte devido ao custo da terapia, baixa taxa de sucesso e seus efeitos colaterais tóxicos (MENDOZA, 2016).

Visando contornar a toxicidade sistêmica, Dória e colaboradores (2012) realizaram bloqueio regional intravenoso para administração de anfotericina B após remoção cirúrgica e cauterização do tecido granulomatoso. Cerca de 92% dos animais avaliados obtiveram cura das lesões após 35 (uma única aplicação) ou 60 dias (duas aplicações). Posteriormente, esse mesmo grupo de pesquisadores avaliaram o bloqueio regional de anfotericina B em associação ao DMSO (dimetil sulfóxido), tendo-se observado cura das lesões após seis a nove semanas de tratamento com uma única aplicação (DÓRIA *et al.*, 2015).

Outra possibilidade é a imunoterapia com antígenos de *P. insidiosum* (Pitium Vac®). O principal mecanismo de ação da imunoterapia para cicatrização de feridas é a mudança da resposta Th2 para Th1, que é mediada por células mononucleares, principalmente monócitos e linfócitos (MENDOZA; MANDY; GLASS, 2003; SANTURIO *et al.*, 2003).

Inicialmente a imunoterapia foi empregada para auxiliar no tratamento da pitiose em equinos na Austrália (MILLER, 1981). O sucesso da imunoterapia depende do tamanho e tempo de evolução da lesão (MILLER, 1981; MENDOZA, ALFARO, 1986; WHITE *et al.*, 2008). Normalmente a imunoterapia é realizada concomitante a outra forma de tratamento, por exemplo cirúrgico, medicamentoso ou ambas. Nesse sentido, Pereira e colaboradores (2013) relataram a cura em um cão com pitiose gastroentérica, com sinais clínicos de vômito, perda de peso e inapetência. Após 48h de diagnóstico, o tratamento foi iniciado com a associação do imunoterápico (seis aplicações) e antifúngicos (terbinafina e itraconazol), observando-se a cura da lesão gástrica após 75 dias

de tratamento. Esses mesmos autores fazem uma revisão da literatura sobre o tratamento da pitiose canina e mostram que, de um total de 41 cães tratados (cirurgia, antifíngicos, antibacterianos, imunoterapia), seis obtiveram cura, dez foram a óbito, nove foram eutanasiados e dois animais não tiveram acompanhamento (PEREIRA *et al.*, 2013).

***Pitiose humana**

A cirurgia radical (com margens livres do patógeno) em pacientes com arterite grave é a base do tratamento bem-sucedido, que geralmente leva à amputação das extremidades (SERMSATHANASAWADI *et al.*, 2016). Pacientes com lesões que não cicatrizam, aqueles com lesões suprainguinais ou acometimento aórtico, geralmente vão a óbito (PERMPALUNG *et al.*, 2015; SERMSATHANASAWADI *et al.*, 2016). Angiotomografia computadorizada do vaso afetado é recomendada para diagnóstico da possível arterite (SERMSATHANASAWADI *et al.*, 2016; CHITASOMBAT *et al.*, 2018a) e é importante para determinar o local de amputação mais apropriado (MENDOZA, 2016). No acometimento ocular, em casos de envolvimento de grande área de esclera ou endoftalmite, evisceração ou enucleação pode ser necessária (LEKHANONT *et al.*, 2009; NEUFELD *et al.*, 2018).

Pacientes com arterite causada por *P. insidiosum* não responderam ao iodeto de potássio, mas pacientes com pitiose subcutânea parecem ter respondido bem a esse fármaco (THIANPRASIT, 1990). A principal desvantagem do iodeto e da anfotericina B é sua toxicidade (MURRAY *et al.*, 1978). A anfotericina B no tratamento da pitiose humana também apresentou resultados contraditórios (MENDOZA, 2016).

A pitiose vascular afeta principalmente pacientes com talassemia e a sobrecarga de ferro tem sido associada à patogênese da pitiose (KRAJAEJUN *et al.*, 2006a), uma vez que altera a proliferação de linfócitos T e B, levando a susceptibilidade a infecções devido a resposta imune prejudicada em monócitos/macrófagos e produção de citocinas (WANACHIWANAWIN *et al.*, 1993; UD-NAEN *et al.*, 2019). Clinicamente, vários quelantes de ferro foram usados como terapia adjuvante em pacientes com talassemia para tratar a

sobrecarga de ferro (PERMPALUNG *et al.*, 2015; WORASILCHAI *et al.*, 2018), porém, não pareceu alterar o resultado do tratamento na pitiose vascular (PERMPALUNG *et al.*, 2015).

O uso da vacina imunoterapêutica preparada a partir do extrato de proteína bruta de *P. insidiosum* mostrou uma eficiência limitada no tratamento das formas da doença (PERMPALUNG *et al.*, 2015; CHITASOMBAT *et al.*, 2018b).

2.7 PROFILAXIA E CONTROLE

A infecção por *P. insidiosum* ocorre após exposição dos hospedeiros com lesões na pele a ambientes úmidos contendo zoósporos do patógeno. Com isso, a recomendação para prevenir novas ocorrências da doença é evitar a permanência de animais em águas estagnadas com vegetação e manter os animais em um ambiente mais seco durante as estações chuvosas (GAASTRA *et al.*, 2010; BOSCO *et al.*, 2019).

Em humanos, é recomendado o uso de equipamentos de proteção individual (EPI), como óculos de natação para uso em rios/lagoas, botas de borracha, luvas e óculos para entrar em campos alagados. Outra possibilidade é a divulgação de alertas de risco de infecção em rios/lagoas em áreas endêmicas para pitiose (BOSCO *et al.*, 2019).

3. OBJETIVOS

Tendo em vista a complexidade, importância e impactos na saúde única e economia, foram revisadas as características gerais do agente *Pythium insidiosum*, bem como da doença causada por ele, a pitiose, para melhor compreensão do que se tem de conhecimento até o momento e assim direcionar futuras pesquisas.

4. METODOLOGIA

Neste trabalho realizou-se uma revisão de literatura narrativa por meio de busca eletrônica simples e avançada nas bases de dados PubMed, Scielo e

Google Scholar para obter uma visão aprofundada dos estudos relevantes disponíveis.

Para a busca simples, utilizou-se como palavras-chave: Mycology, Oomycete, *Pythium*, *Pythium insidiosum*, Pythiosis. Para a busca avançada, as combinações utilizadas foram: epidemiology of pythiosis, pythiosis in animals, pythiosis in humans, diagnosis of pythiosis, phylogeny of *Pythium insidiosum*. Os artigos abordados nesta revisão são dos últimos 40 anos, sendo priorizado os publicados nos últimos dez anos, nos idiomas inglês, português e espanhol. Os artigos mais antigos foram utilizados para o abordar o histórico do agente e doença, definições e primeiros casos clínicos. Após a leitura dos artigos, outras bibliografias foram incluídas, como capítulos de livros de doenças infecciosas.

Os artigos selecionados foram estudos retrospectivos, artigos de revisão sistemática, relatos de caso onde houve o completo diagnóstico do agente (isolamento e produção de zoósporos, imunohistoquímica, métodos sorológicos e moleculares) e artigos originais.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A pitiose é uma doença negligenciada que afeta diversas espécies animais e o ser humano. Possui várias formas de se apresentar clinicamente de acordo com a espécie acometida e pode levar o indivíduo acometido à óbito. O levantamento bibliográfico revelou importantes lacunas dentro das pesquisas voltadas ao gênero *Pythium* no geral, bem como na doença provocada por algumas espécies, como *P. insidiosum* e o *P. aphanidermatum*.

Existe uma grande dificuldade em relação ao diagnóstico precoce e ao tratamento. A dificuldade no diagnóstico precoce pode ocorrer pelo desconhecimento da doença por parte dos profissionais, uma vez que como as apresentações clínicas são semelhantes a infecções por outros microrganismos, comumente é confundida, o que pode levar a um diagnóstico equivocado de infecção fungica por zigomicetos ou outros fungos de características semelhantes em exames de histopatologia, por exemplo. Em relação ao tratamento, não existe um fármaco ou um conjunto de medidas específicos para a pitiose, o que reflete no alto índice de insucesso no tratamento.

Esta avaliação proporcionou um olhar crítico acerca da problemática que envolve o agente e a doença, com isso, foi percebido a necessidade da criação de cartilhas e campanhas para a divulgação da doença e conscientização dos profissionais. São encorajadas pesquisas visando novas abordagens terapêuticas a fim de se chegar em um tratamento com maior taxa de sucesso e assim melhorar o prognóstico dessa doença que ameaça a vida.

Ainda, como outros fatores de importância para o fechamento de lacunas sobre a complexidade e possíveis variações do agente, como foi demonstrado no item de filogenia molecular de *P. insidiosum*, é importante a utilização da biologia molecular para identificação das culturas obtidas a partir dos casos clínicos. Mais estudos de isolamento ambiental com consequente análises filogenéticas são importantes de serem realizados a fim de melhor caracterizar os clados que podem ser encontrados, bem como mapear possíveis focos de contaminação ambiental nas regiões para, se possível, emissão de alertas de risco da infecção.

6. CONCLUSÃO

A presente revisão permitiu a avaliação das pesquisas já realizadas sobre o patógeno, *Pythium insidiosum*, bem como sobre os aspectos epidemiológicos, diagnósticos e terapêuticos da pitiose. Quando comparado a outras espécies de fungos de interesse médico, *Pythium* se mostrou pouco estudado, com várias frentes de pesquisa ainda pouco exploradas e elucidadas, como na parte de isolamento ambiental, análises filogenéticas, diagnóstico e, principalmente, terapêutica.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS*

ADHIKARI, Bishwo N. *et al.* Comparative genomics reveals insight into virulence strategies of plant pathogenic oomycetes. **PloS one**, v. 8, n. 10, p. e75072, 2013.

ADRIO, Jose L.; DEMAIN, Arnold L. Fungal biotechnology. **International Microbiology**, v. 6, p. 191-199, 2003.

AEFFNER, Famke *et al.* Pathology in practice. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 246, n. 5, p. 511-513, 2015.

AGARWAL, Shweta *et al.* Clinical profile, risk factors and outcome of medical, surgical and adjunct interventions in patients with *Pythium insidiosum* keratitis. **British Journal of Ophthalmology**, v. 103, n. 3, p. 296-300, 2019.

APPAVU, Selva Pandiyan; PRAJNA, Lalitha; RAJAPANDIAN, Siva Ganesa Karthikeyan. Genotyping and phylogenetic analysis of *Pythium insidiosum* causing human corneal ulcer. **Medical Mycology**, v. 58, n. 2, p. 211-218, 2020.

AUSTWICK, P. K. C.; COPLAND, J. W. Swamp cancer. **Nature**, v. 250, n. 5461, p. 84-84, 1974.

BAGGA, Bhupesh *et al.* Leap forward in the treatment of *Pythium insidiosum* keratitis. **British Journal of Ophthalmology**, v. 102, n. 12, p. 1629-1633, 2018.

BAGGA, Bhupesh *et al.* Successful strategic management of *Pythium insidiosum* keratitis with antibiotics. **Ophthalmology**, v. 128, n. 1, p. 169-172, 2021.

BAREQUET, Irina S.; LAVINSKY, Fabio; ROSNER, Mordechai. Long-term follow-up after successful treatment of *Pythium insidiosum* keratitis in Israel. *In: Seminars in Ophthalmology*. Taylor & Francis, 2013. p. 247-250.

*ABNT NBR 6023:2018.

BENCHIMOL, Jaime L.; SÁ, Magali Romero. **Adolpho Lutz-Dermatologia e Micologia-v. 1, Livro 3**. SciELO-Editora FIOCRUZ, 2004.

BENTINCK-SMITH, John *et al.* Canine pythiosis-isolation and identification of *Pythium insidiosum*. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 1, n. 4, p. 295-298, 1989.

BERNHEIM, Diane *et al.* Pythiosis: case report leading to new features in clinical and diagnostic management of this fungal-like infection. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 86, p. 40-43, 2019.

BEZERRA JÚNIOR, Pedro S. *et al.* Equine intestinal pythiosis in Southern Brazil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 62, p. 481-483, 2010.

BISSONNETTE, K. W. *et al.* Nasal and retrobulbar mass in a cat caused by *Pythium insidiosum*. **Journal of Medical and Veterinary Mycology**, v. 29, n. 1, p. 39-44, 1991.

BONONI, Vera Lúcia *et al.* **Cultivo de cogumelos comestíveis**. Ícone, 1995.

BOSCO, S. M. G. *et al.* Pythiosis. *In: Recent Trends in Human and Animal Mycology*, p. 3-26, 2019.

BOSCO, S. M. G. *et al.* **Doenças infecciosas em animais de produção e companhia**. 1ª. Ed. Rio de Janeiro: Roca, p. 946-957, 2016.

BOSCO, S. M. G. *et al.* Human pythiosis, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v. 11, n. 5, p. 715-718, 2005.

BROWN, C. C.; ROBERTS, E. D. Intestinal pythiosis in a horse. **Australian Veterinary Journal**, v. 65, n. 3, p. 88-89, 1988.

BUERGELT, Claus; POWE, Joshua; WHITE, Tamara. Abdominal pythiosis in a Bengal tiger (*Panthera tigris tigris*). **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v. 37, n. 2, p. 186-189, 2006.

CALVANO, Tatjana P. *et al.* *Pythium aphanidermatum* infection following combat trauma. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 49, n. 10, p. 3710-3713, 2011.

CAMUS, Alvin C.; GROOTERS, Amy M.; AQUILAR, Roberto F. Granulomatous pneumonia caused by *Pythium insidiosum* in a central American jaguar, *Panthera onca*. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 16, n. 6, p. 567-571, 2004.

ÁLVAREZ, J. C.; VILORIA, M. V.; AYOLA, S. P. Pitiose cutânea em equinos: uma revisão. **CES Medicina Veterinaria y Zootecnia**, v. 8, n. 1, p. 104-113, 2013.

CHAFFIN, M. Keith; JAMES, Schumacher; MCMULLAN, William C. Cutaneous pythiosis in the horse. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v. 11, n. 1, p. 91-103, 1995.

CHAIPRASERT, A. *et al.* Induction of zoospore formation in Thai isolates of *Pythium insidiosum*. **Mycoses**, v. 33, n. 6, p. 317-323, 1990.

CHANDLER, Francis W. *et al.* **A colour atlas and textbook of the histopathology of mycotic diseases**. Wolfe Medical Publications Ltd., Wolfe House, 3 Conway Street, London W1P 6HE, 1980.

CHAREONSIRISUTHIGUL, Takol *et al.* Performance comparison of immunodiffusion, enzyme-linked immunosorbent assay, immunochromatography and hemagglutination for serodiagnosis of human pythiosis. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 76, n. 1, p. 42-45, 2013.

CHECHI, Jéssica Luana *et al.* Inferring putative virulence factors for *Pythium insidiosum* by proteomic approach. **Medical Mycology**, v. 57, n. 1, p. 92-100, 2019.

CHECHI, Jéssica Luana *et al.* Prospecting biomarkers for diagnostic and therapeutic approaches in pythiosis. **Journal of Fungi**, v. 7, n. 6, p. 423, 2021.

CHINDAMPORN, Ariya *et al.* A case of canine cutaneous pythiosis in Thailand. **Access Microbiology**, v. 2, n. 4, p. e000109, 2020.

CHITASOMBAT, Maria Nina *et al.* Clinicopathological features and outcomes of pythiosis. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 71, p. 33-41, 2018b.

CHITASOMBAT, Maria Nina *et al.* Recent update in diagnosis and treatment of human pythiosis. **PeerJ**, v. 8, p. e8555, 2020.

CHITASOMBAT, Maria Nina *et al.* Vascular pythiosis of carotid artery with meningitis and cerebral septic emboli: a case report and literature review. **Medical Mycology Case Reports**, v. 21, p. 57-62, 2018a.

COSTA, Ane Francyne *et al.* **Novas abordagens no diagnóstico laboratorial de micoses: o sistema MALDI-TOF MS.** 2016.

DAL BEN, Vanessa *et al.* Protein profile of Brazilian *Pythium insidiosum* isolates. **Medical Mycology**, v. 56, n. 4, p. 485-492, 2018.

DAVIS, Diana J. *et al.* Relationship between temperature optima and secreted protease activities of three *Pythium* species and pathogenicity toward plant and animal hosts. **Mycological Research**, v. 110, n. 1, p. 96-103, 2006.

DE COCK, A. W. *et al.* *Pythium insidiosum* sp. nov., the etiologic agent of pythiosis. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 25, n. 2, p. 344-349, 1987.

DO CARMO, P. M. S. *et al.* Cutaneous pythiosis in a goat. **Journal of Comparative Pathology**, v. 152, n. 2-3, p. 103-105, 2015.

DO CARMO, Priscila MS; UZAL, Francisco A.; RIET-CORREA, Franklin. Diseases caused by *Pythium insidiosum* in sheep and goats: a review. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 33, n. 1, p. 20-24, 2021.

DÓRIA, Renata GS *et al.* Evaluation of intravenous regional perfusion with amphotericin B and dimethylsulfoxide to treat horses for pythiosis of a limb. **BMC Veterinary Research**, v. 11, p. 1-7, 2015.

DÓRIA, Renata GS *et al.* Treatment of pythiosis in equine limbs using intravenous regional perfusion of amphotericin B. **Veterinary Surgery**, v. 41, n. 6, p. 759-765, 2012.

DOWST, Megan *et al.* An unusual case of cutaneous feline pythiosis. **Medical Mycology Case Reports**, v. 26, p. 57-60, 2019.

DUPONT, Joëlle *et al.* Fungi as a source of food. **Microbiology Spectrum**, v. 5, n. 3, p. 5.3. 09, 2017.

DYKSTRA, M. J. *et al.* A description of cutaneous-subcutaneous pythiosis in fifteen dogs. **Medical Mycology**, v. 37, n. 6, p. 427-433, 1999.

EATON, S. A. Case presentation: Osseous involvement by *Pythium insidiosum*. **The Compendium on continuing education for the practicing veterinarian (USA)**, 1993.

FARMER, Aaron R. *et al.* Combat-related *Pythium aphanidermatum* invasive wound infection: case report and discussion of utility of molecular diagnostics. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 53, n. 6, p. 1968-1975, 2015.

FISCHER, John R. *et al.* Gastrointestinal pythiosis in Missouri dogs: eleven cases. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 6, n. 3, p. 380-382, 1994.

FOIL, C. S. O. *et al.* A report of subcutaneous pythiosis in five dogs and a review of the etiologic agent *Pythium* spp. **The Journal of the American Animal Hospital Association (USA)**, 1984.

FOIL, C. S. Update pythiosis (oomycosis). *In: North American Veterinary Conference (USA)*. 1996.

FORTIN, Jessica Sonia; CALCUTT, Michael John; KIM, Dae Young. Sublingual pythiosis in a cat. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 59, p. 1-5, 2017.

GAASTRA, Wim *et al.* *Pythium insidiosum*: an overview. **Veterinary Microbiology**, v. 146, n. 1-2, p. 1-16, 2010.

GABRIEL, Adriane L. *et al.* Surto de pitiose cutânea em bovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 28, p. 583-587, 2008.

GOAD, ME Pecquet. Pulmonary pythiosis in a horse. **Veterinary Pathology**, v. 21, n. 2, p. 261-262, 1984.

GRANT, Derek *et al.* Cutaneous pythiosis in a Red Brangus beef calf cured by immunotherapy. **Medical Mycology Case Reports**, v. 14, p. 1-3, 2016.

GRECCO, Fabiane B. *et al.* Cutaneous pythiosis in cattle in the Southern region of Rio Grande do Sul, Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 29, p. 938-942, 2009.

GRIFFITH, J. M.; DAVIS, A. J.; GRANT, B. R. Target sites of fungicides to control oomycetes. **Target sites of fungicide action**, p. 69-100, 1992.

GROOTERS, Amy M. *et al.* Evaluation of microbial culture techniques for the isolation of *Pythium insidiosum* from equine tissues. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 14, n. 4, p. 288-294, 2002.

GROOTERS, Amy M.; GEE, Melaney K. Development of a nested polymerase chain reaction assay for the detection and identification of *Pythium insidiosum*. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 16, n. 2, p. 147-152, 2002.

GURNANI, Bharat *et al.* Retrospective multifactorial analysis of *Pythium* keratitis and review of literature. **Indian Journal of Ophthalmology**, v. 69, n. 5, p. 1095, 2021.

HAJJAJ, Hassan *et al.* Kinetic analysis of red pigment and citrinin production by *Monascus ruber* as a function of organic acid accumulation. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 27, n. 8, p. 619-625, 2000.

HASIKA, Ravula *et al.* *Pythium* keratitis in South India: Incidence, clinical profile, management, and treatment recommendation. **Indian Journal of Ophthalmology**, v. 67, n. 1, p. 42, 2019.

HAWKSWORTH, David L.; LÜCKING, Robert. Fungal diversity revisited: 2.2 to 3.8 million species. **Microbiology Spectrum**, v. 5, n. 4, p. 5.4. 10, 2017.

HECK, Lilian C. *et al.* Gastric pythiosis in a bactrian camel (*bactrianus camelus*). **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v. 49, n. 3, p. 784-787, 2018.

HELMAN, R. Gayman; OLIVER 3RD, J. Pythiosis of the digestive tract in dogs from Oklahoma. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 35, n. 2, p. 111-114, 1999.

HILTON, R. E. *et al.* Swamp cancer: a case of human pythiosis and review of the literature. **British Journal of Dermatology**, v. 175, n. 2, p. 394-397, 2016.

HOFFMAN, Michelle A.; CORNISH, Nancy E.; SIMONSEN, Kari A. A painful thigh lesion in an immunocompromised 11-year-old boy. **The Pediatric Infectious Disease Journal**, v. 30, n. 11, p. 1011-1017, 2011.

HUNG, Christopher; LEDDIN, Desmond. Keratitis caused by *Pythium insidiosum* in an immunosuppressed patient with Crohn's disease. **Clinical Gastroenterology and Hepatology**, v. 12, n. 10, p. A21-A22, 2014.

ICHITANI, T., AMEMIYA, J. *Pythium gracile* isolated from the foci of granular dermatitis in the horse (*Equus caballus*). **Trans Mycol Soc Japan**, v.21, p.263-265, 1980.

IMWIDTHAYA, P. Human pythiosis in Thailand. **Postgraduate Medical Journal**, v. 70, n. 826, p. 558-560, 1994.

IMWIDTHAYA, P.; SRIMUANG, S. Immunodiffusion test for diagnosing human pythiosis. **Mycopathologia**, v. 106, p. 109-112, 1989.

INKOMLUE, Ruchuros *et al.* Development of an anti-elicitin antibody-based immunohistochemical assay for diagnosis of pythiosis. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 54, n. 1, p. 43-48, 2016.

INKOMLUE, Ruchuros *et al.* Development of an anti-elicitin antibody-based immunohistochemical assay for diagnosis of pythiosis. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 54, n. 1, p. 43-48, 2016.

INTARAMAT, Akarin *et al.* Protein A/G-based immunochromatographic test for serodiagnosis of pythiosis in human and animal subjects from Asia and Americas. **Sabouraudia**, v. 54, n. 6, p. 641-647, 2016.

JAEGER, Gayle H.; ROTSTEIN, David S.; LAW, J. McHugh. Prostatic pythiosis in a dog. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 16, n. 5, p. 598-602, 2002.

JARA, Manuel *et al.* The Potential Distribution of *Pythium insidiosum* in the Chincoteague National Wildlife Refuge, Virginia. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 8, p. 640339, 2021.

KAGEYAMA, Koji. Molecular taxonomy and its application to ecological studies of *Pythium* species. **Journal of General Plant Pathology**, v. 80, p. 314-326, 2014.

KAMMARNJESADAKUL, Patcharee *et al.* Phylogenetic analysis of *Pythium insidiosum* Thai strains using cytochrome oxidase II (COX II) DNA coding sequences and internal transcribed spacer regions (ITS). **Medical Mycology**, v. 49, n. 3, p. 289-295, 2011.

KATE, Anahita *et al.* Unusual presentation of *Pythium* keratitis as peripheral ulcerative keratitis: clinical dilemma. **Ocular Immunology and Inflammation**, v. 30, n. 7-8, p. 2023-2026, 2022.

KAUFMAN, L. Penicilliosis marneffeii and pythiosis: emerging tropical diseases. **Mycopathologia**, v. 143, p. 3–7, 1998.

KEERATIJARUT, Angsana *et al.* Detection of the oomycete *Pythium insidiosum* by real-time PCR targeting the gene coding for exo-1, 3- β -glucanase. **Journal of Medical Microbiology**, v. 64, n. 9, p. 971-977, 2015.

KEERATIJARUT, Angsana *et al.* Evaluation of an in-house immunoperoxidase staining assay for histodiagnosis of human pythiosis. **Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health**, v. 40, n. 6, p. 1298, 2009.

KHUNKHET, Saranya; RATTANAEMAKORN, Ploysyne; RAJATANAVIN, Natta. Pythiosis presenting with digital gangrene and subcutaneous nodules mimicking medium vessel vasculitis. **JAAD Case Reports**, v. 1, n. 6, p. 399-402, 2015.

KIRZHNER, Maria *et al.* *Pythium insidiosum*: a rare necrotizing orbital and facial infection. **Journal of the Pediatric Infectious Diseases Society**, v. 4, n. 1, p. e10-e13, 2015.

KONRADT, Guilherme *et al.* Cutaneous pythiosis in calves: An epidemiologic, pathologic, serologic and molecular characterization. **Medical Mycology Case Reports**, v. 14, p. 24-26, 2016.

KRAJAEJUN, Theerapong *et al.* Assessment of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry for identification and biotyping of the pathogenic oomycete *Pythium insidiosum*. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 77, p. 61-67, 2018.

KRAJAEJUN, Theerapong *et al.* Clinical and epidemiological analyses of human pythiosis in Thailand. **Clinical Infectious Diseases**, v. 43, n. 5, p. 569-576, 2006a.

KRAJAEJUN, Theerapong *et al.* Development and evaluation of an in-house enzyme-linked immunosorbent assay for early diagnosis and monitoring of human pythiosis. **Clinical and Vaccine Immunology**, v. 9, n. 2, p. 378-382, 2002.

KRAJAEJUN, Theerapong *et al.* Development of an immunochromatographic test for rapid serodiagnosis of human pythiosis. **Clinical and Vaccine Immunology**, v. 16, n. 4, p. 506-509, 2009.

KRAJAEJUN, Theerapong *et al.* Effect of temperature on growth of the pathogenic oomycete *Pythium insidiosum*. **Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health**, v. 41, n. 6, p. 1462, 2010.

KRAJAEJUN, Theerapong *et al.* Identification of a novel 74-kiloDalton immunodominant antigen of *Pythium insidiosum* recognized by sera from human patients with pythiosis. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 44, n. 5, p. 1674-1680, 2006b.

KRAJAEJUN, Theerapong *et al.* The 74-Kilodalton immunodominant antigen of the pathogenic oomycete *Pythium insidiosum* is a putative Exo-1, 3- β -Glucanase. **Clinical and Vaccine Immunology**, v. 17, n. 8, p. 1203-1210, 2010.

KUBICEK, Christian P.; RÖHR, Max; REHM, H. J. Citric acid fermentation. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 3, n. 4, p. 331-373, 1985.

LEAL, Adriana B. Monteiro *et al.* Pitiose eqüina no Pantanal brasileiro: aspectos clínico-patológicos de casos típicos e atípicos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 21, p. 151-156, 2001.

LEKHANONT, Kaevalin *et al.* *Pythium insidiosum* keratitis in contact lens wear: a case report. **Cornea**, v. 28, n. 10, p. 1173-1177, 2009.

LELIEVRE, Lucie *et al.* Case report: imported *Pythium insidiosum* keratitis after a swim in Thailand by a contact lens-wearing traveler. **Am J Trop Med Hyg**, v. 92, n. 2, p. 270-3, 2015.

LERKSUTHIRAT, Tassanee *et al.* The elicitor-like glycoprotein, ELI025, is secreted by the pathogenic oomycete *Pythium insidiosum* and evades host antibody responses. **PLoS One**, v. 10, n. 3, p. e0118547, 2015.

LEVESQUE, C. Andre; DE COCK, Arthur WAM. Molecular phylogeny and taxonomy of the genus *Pythium*. **Mycological Research**, v. 108, n. 12, p. 1363-1383, 2004.

LIN, Chin-Fwu. Isolation and cultural conditions of *Monascus* sp. for the production of pigment in a submerged culture. **J Ferment Technol**, 1973.

MAENO, Sayo *et al.* Successful medical management of *Pythium insidiosum* keratitis using a combination of minocycline, linezolid, and chloramphenicol. **American Journal of Ophthalmology Case Reports**, v. 15, p. 100498, 2019.

MAIA, Lisanka A. *et al.* Cutaneous pythiosis in a donkey (*Equus asinus*) in Brazil. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 28, n. 4, p. 436-439, 2016.

MANI, Rinosh *et al.* Identification of *Pythium insidiosum* complex by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. **Journal of Medical Microbiology**, v. 68, n. 4, p. 574-584, 2019.

MAR HTUN, Zin *et al.* Identification and Biotyping of *Pythium insidiosum* Isolated from Urban and Rural Areas of Thailand by Multiplex PCR, DNA Barcode, and Proteomic Analyses. **Journal of Fungi**, v. 7, n. 4, p. 242, 2021.

MARCOLONGO-PEREIRA, Clairton *et al.* Epidemiologia da pitiose equina na Região Sul do Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, p. 865-868, 2012.

MARQUES, Silvio Alencar *et al.* *Pythium insidiosum*: relato do primeiro caso de infecção humana no Brasil. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 81, p. 483-485, 2006.

MARTIN, F. Phylogenetic relationships among some *Pythium* species inferred from sequence analysis of the mitochondrially encoded cytochrome oxidase II gene. **Mycologia**. v. 92, n. 4, p. 711–727, 2000.

MARTIN, Frank N.; LOPER, Joyce E. Soilborne plant diseases caused by *Pythium* spp.: ecology, epidemiology, and prospects for biological control. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 18, n. 2, p. 111-181, 1999.

MARTINS, T. B. *et al.* A comparative study of the histopathology and immunohistochemistry of pythiosis in horses, dogs and cattle. **Journal of Comparative Pathology**, v. 146, n. 2-3, p. 122-131, 2012.

MARTINS, Taís Soares. **Identificação de espécies de fungos leveduriformes em meios de preservação para transplante de córnea a partir da técnica de MALDI-TOF**. Trabalho de conclusão de curso (Especialização em microbiologia clínica), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rio Grande do Sul, 2019.

MCGOVERN, Patrick E. *et al.* Fermented beverages of pre-and proto-historic China. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 101, n. 51, p. 17593-17598, 2004.

MCGOVERN, Patrick E. *et al.* Neolithic resinated wine. **Nature**, v. 381, n. 6582, p. 480-481, 1996.

MEIRELES, Mario Carlos Araujo *et al.* Cutaneous pythiosis in horses from Brazil: Kutane Pythiose bei Pferden in Brasilien. **Mycoses**, v. 36, n. 3-4, p. 139-142, 1993.

MENDOZA, L. *Pythium Insidiosum*. In: **Topley and Wilson's Microbiology and Microbial Infections**. 2016.

MENDOZA, L., MARIN, G. Antigenic relationship between *Pythium insidiosum* de Cock *et al.* 1987 and its synonym *Pythium destruens* Shipton 1987. **Mycoses**, v.32, n.2, p.73- 77, 1989.

MENDOZA, L.; NICHOLSON, V.; PRESCOTT, J. F. Immunoblot analysis of the humoral immune response to *Pythium insidiosum* in horses with pythiosis. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 30, n. 11, p. 2980-2983, 1992.

MENDOZA, L.; PRASLA, S. H.; AJELLO, L. Orbital pythiosis: a non-fungal disease mimicking orbital mycotic infections, with a retrospective review of the literature. **Mycoses**, v. 47, n. 1-2, p. 14-23, 2004.

MENDOZA, L.; VILELA, R. The mammalian pathogenic oomycetes. **Current Fungal Infection Reports**, v.7, n.3, p.198-208, 2013.

MENDOZA, Leonel *et al.* Evaluation of two vaccines for the treatment of pythiosis insidiosum in horses. **Mycopathologia**, v. 119, p. 89-95, 1992.

MENDOZA, Leonel *et al.* Serodiagnosis of human and animal pythiosis using an enzyme-linked immunosorbent assay. **Clinical Diagnostic Laboratory Immunology**, v. 4, n. 6, p. 715-718, 1997.

MENDOZA, Leonel; AJELLO, L.; MCGINNIS, M. Infections caused by the oomycetous pathogen *Pythium insidiosum*. Infecciones causadas por el patógeno oomiceto *Pythium insidiosum*. **J Mycol Med**, v. 6, p. 151-64, 1996.

MENDOZA, Leonel; ALFARO, A. A.; VILLALOBOS, J. Bone lesions caused by *Pythium insidiosum* in a horse. **Sabouraudia**, v. 26, n. 1, p. 5-12, 1988.

MENDOZA, Leonel; ALFARO, Antonio A. Equine pythiosis in Costa Rica: report of 39 cases. **Mycopathologia**, v. 94, n. 2, p. 123-129, 1986.

MENDOZA, Leonel; HERNANDEZ, Francisco; AJELLO, Libero. Life cycle of the human and animal oomycete pathogen *Pythium insidiosum*. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 31, n. 11, p. 2967-2973, 1993.

MENDOZA, Leonel; KAUFMAN, Leo; STANDARD, Paul. Antigenic relationship between the animal and human pathogen *Pythium insidiosum* and nonpathogenic *Pythium* species. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 25, n. 11, p. 2159-2162, 1987.

MENDOZA, Leonel; MANDY, William; GLASS, Robert. An improved *Pythium insidiosum*-vaccine formulation with enhanced immunotherapeutic properties in horses and dogs with pythiosis. **Vaccine**, v. 21, n. 21-22, p. 2797-2804, 2003.

MENDOZA, Leonel; PRENDAS, Jorge. A method to obtain rapid zoosporogenesis of *Pythium insidiosum*. 1988.

MILLER, R. I. Investigations into the biology of three 'phycomycotic' agents pathogenic for horses in Australia. **Mycopathologia**, v. 81, n. 1, p. 23-28, 1983.

MILLER, R. I. Treatment of equine phycomycosis by immunotherapy and surgery. **Australian Veterinary Journal**, v. 57, n. 8, p. 377-382, 1981.

MILLER, R. I.; CAMPBELL, R. S. F. Immunological studies on equine phycomycosis. **Australian Veterinary Journal**, v. 58, n. 6, p. 227-231, 1982.

MILLER, R. I.; QUALLS JR, C. W.; TURNWALD, G. H. Gastrointestinal phycomycosis in a dog. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 182, n. 11, p. 1245-1246, 1983.

MIRAGLIA, Bruno Maltez *et al.* *Pythium insidiosum* complex hides a cryptic novel species: *Pythium periculosum*. **Fungal Biology**, v. 126, n. 5, p. 366-374, 2022.

MITTAL, Ruchi *et al.* *Pythium insidiosum* keratitis: histopathology and rapid novel diagnostic staining technique. **Cornea**, v. 36, n. 9, p. 1124-1132, 2017.

MOREIRA, M. T. *et al.* Control of pellet morphology of filamentous fungi in fluidized bed bioreactors by means of a pulsing flow. Application to *Aspergillus niger* and *Phanerochaete chrysosporium*. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 19, n. 4, p. 261-266, 1996.

MURRAY, D. R. *et al.* Metastatic phycomycosis in a horse. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 172, n. 7, p. 834-836, 1978.

NAVARRO-ACEVEDO, Krystal A. *et al.* The effect of incubation temperature on the species composition of *Phytophthora*, *Phytophythium*, and *Pythium*

communities associated with soybean. **Phytobiomes Journal**, v. 5, n. 2, p. 133-144, 2021.

NEUFELD, Anastasia *et al.* *Pythium insidiosum* keratitis: a pictorial essay of natural history. **Canadian Journal of Ophthalmology**, v. 53, n. 2, p. e48-e50, 2018.

NGUYEN, Don *et al.* Geographic distribution of *Pythium insidiosum* infections in the United States. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 260, n. 5, p. 530-534, 2022.

OLDENHOFF, William *et al.* Cutaneous pythiosis in two dogs from Wisconsin, USA. **Veterinary Dermatology**, v. 25, n. 1, p. 52-e21, 2014.

PASTERNAK, Jacyr. Novas metodologias de identificação de micro-organismos: MALDI-TOF. **Einstein (São Paulo)**, v. 10, p. 118-119, 2012.

PATTON, Clark S. *et al.* Esophagitis due to *Pythium insidiosum* infection in two dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 10, n. 3, p. 139-142, 1996.

PAZ, Giselle Souza da *et al.* Outbreak of equine pythiosis in a southeastern region of Brazil: Environmental isolation and phylogeny. **Transboundary and Emerging Diseases**, v. 69, n. 3, p. 1617-1624, 2022.

PEREIRA, Daniela IB *et al.* Canine gastrointestinal pythiosis treatment by combined antifungal and immunotherapy and review of published studies. **Mycopathologia**, v. 176, p. 309-315, 2013.

PEREIRA, Daniela Isabel Brayer *et al.* Cutaneous and gastrointestinal pythiosis in a dog in Brazil. **Veterinary Research Communications**, v. 34, p. 301-306, 2010.

PERMPALUNG, Nitipong *et al.* Clinical outcomes in ocular pythiosis patients treated with a combination therapy protocol in Thailand: a prospective study. **Medical Mycology**, v. 57, n. 8, p. 923-928, 2019.

PERMPALUNG, Nitipong *et al.* Treatment outcomes of surgery, antifungal therapy and immunotherapy in ocular and vascular human pythiosis: a

retrospective study of 18 patients. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 70, n. 6, p. 1885-1892, 2015.

PESAVENTO, P. A. *et al.* Cutaneous pythiosis in a nestling white-faced ibis. **Veterinary Pathology**, v. 45, n. 4, p. 538-541, 2008.

PESSOA, André Flávio A. *et al.* Doenças de pele em equídeos no semiárido brasileiro. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 34, p. 743-748, 2014.

PESSOA, Clarice RM *et al.* Pythiosis of the digestive tract in sheep. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 24, n. 6, p. 1133-1136, 2012.

PRACHARKTAM, R. *et al.* Immunodiffusion test for diagnosis and monitoring of human pythiosis insidiosus. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 29, n. 11, p. 2661-2662, 1991.

PRESSER, Jackson W.; GOSS, Erica M. Environmental sampling reveals that *Pythium insidiosum* is ubiquitous and genetically diverse in North Central Florida. **Medical Mycology**, v. 53, n. 7, p. 674-683, 2015.

RAGHAVAN, Anita *et al.* *Pythium insidiosum* and *Acanthamoeba* keratitis in a contact lens user. **BMJ Case Reports CP**, v. 11, n. 1, p. bcr-2018-226386, 2018.

RAKICH, Pauline M.; GROOTERS, Amy M.; TANG, Kai-Ning. Gastrointestinal pythiosis in two cats. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 17, n. 3, p. 262-269, 2005.

RATHI, Anubha *et al.* *Pythium* keratitis leading to fatal cavernous sinus thrombophlebitis. **Cornea**, v. 37, n. 4, p. 519-522, 2018.

RAVISHANKAR, J. P. *et al.* Mechanics of solid tissue invasion by the mammalian pathogen *Pythium insidiosum*. **Fungal Genetics and Biology**, v. 34, n. 3, p. 167-175, 2001.

REANPANG, Termpong *et al.* Vascular pythiosis of the lower extremity in Northern Thailand: ten years' experience. **The International Journal of Lower Extremity Wounds**, v. 14, n. 3, p. 245-250, 2015.

RIBEIRO, Tatiana Corrêa *et al.* Microevolutionary analyses of *Pythium insidiosum* isolates of Brazil and Thailand based on *exo-1*, 3- β -glucanase gene. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 48, p. 58-63, 2017.

RIET-CORREA, Franklin *et al.* Outbreaks of rhinofacial and rhinopharyngeal zygomycosis in sheep in Paraíba, northeastern Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 28, p. 29-35, 2008.

RIVIERRE, Christine *et al.* Pythiosis in Africa. **Emerging Infectious Diseases**, v. 11, n. 3, p. 479, 2005.

ROBIDEAU, G.P. *et al.* Codon-based phylogenetics introduces novel flagellar gene markers to oomycete systematics. **Molecular Phylogenetics and Evolution**. v. 79, p. 279–291, 2014.

ROMANOS, Michael A.; SCORER, Carol A.; CLARE, Jeffrey J. Foreign gene expression in yeast: a review. **Yeast**, v. 8, n. 6, p. 423-488, 1992.

ROMANOS, Mike. Advances in the use of *Pichia pastoris* for high-level gene expression. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 6, n. 5, p. 527-533, 1995.

ROS CASTELLAR, Fátima *et al.* Intraocular minocycline for the treatment of ocular pythiosis. **American Journal of Health-System Pharmacy**, v. 74, n. 11, p. 821-825, 2017.

RUJIRAWAT, Thidarat *et al.* Single nucleotide polymorphism-based multiplex PCR for identification and genotyping of the oomycete *Pythium insidiosum* from humans, animals and the environment. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 54, p. 429-436, 2017.

RUSHFORD, Clayton A.; NORTH, Rebecca L.; MILLER, Gerald L. Detection of *Pythium* spp. in Golf Course Irrigation Systems. **Plant Disease**, v. 106, n. 1, p. 46-56, 2022.

SALQUE, Mélanie *et al.* Earliest evidence for cheese making in the sixth millennium BC in northern Europe. **Nature**, v. 493, n. 7433, p. 522-525, 2013.

SAMUEL, Delwen. Investigation of ancient Egyptian baking and brewing methods by correlative microscopy. **Science**, v. 273, n. 5274, p. 488-490, 1996.

SANTOS, Carlos Eduardo P. dos; SANTURIO, Janio Morais; MARQUES, Luiz Carlos. Pythiosis of livestock in the Pantanal, Mato Grosso, Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 31, p. 1083-1089, 2011.

SANTOS, Carlos EP *et al.* Epidemiological survey of equine pythiosis in the Brazilian Pantanal and nearby areas: results of 76 cases. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 34, n. 2, p. 270-274, 2014.

SANTURIO, J. M. *et al.* Three types of immunotherapies against pythiosis insidiosum developed and evaluated. **Vaccine**, v. 21, n. 19-20, p. 2535-2540, 2003.

SANTURIO, Janio Morais *et al.* Cutaneous Pythiosis insidiosum in calves from the Pantanal region of Brazil. **Mycopathologia**, v. 141, p. 123-125, 1998.

SANTURIO, Janio Morais *et al.* Pitiose: uma micose emergente. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 34, n. 1, p. 1-14, 2006.

SCHOCH, Conrad L. *et al.* Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 109, n. 16, p. 6241-6246, 2012.

SCHURKO, Andrew *et al.* Evidence for geographic clusters: Molecular genetic differences among strains of *Pythium insidiosum* from Asia, Australia and the Americas are explored. **Mycologia**, v. 95, n. 2, p. 200-208, 2003a.

SCHURKO, Andrew M. *et al.* A molecular phylogeny of *Pythium insidiosum*. **Mycological Research**, v. 107, n. 5, p. 537-544, 2003b.

SERMSATHANASAWADI, Nuttawut *et al.* Outcomes and factors influencing prognosis in patients with vascular pythiosis. **Journal of Vascular Surgery**, v. 64, n. 2, p. 411-417, 2016.

SHARMA, Savitri *et al.* *Pythium insidiosum* keratitis: clinical profile and role of DNA sequencing and zoospore formation in diagnosis. **Cornea**, v. 34, n. 4, p. 438-442, 2015.

SHIPTON, W. A. *Pythium destruens* sp. nov., an agent of equine pythiosis. **Journal of Medical and Veterinary Mycology**, v. 25, n. 3, p. 137-151, 1987.

SOARES, Luciana Maria Curtio *et al.* Feline subcutaneous pythiosis. **Ciência Rural**, v. 49, 2019.

SOUTO, E. P. F. *et al.* Pythiosis in cats in northeastern Brazil. **Journal de Mycologie Médicale**, v. 30, n. 3, p. 101005, 2020.

SOUTO, E. P. F. *et al.* Pythiosis in the nasal cavity of horses. **Journal of Comparative Pathology**, v. 155, n. 2-3, p. 126-129, 2016.

SOUTO, E. P. F. *et al.* Esophageal pythiosis in an ostrich (*Struthio camelus*). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 71, p. 1081-1084, 2019.

SUKANAN, Pornphan *et al.* Successful management of colonic pythiosis in two dogs in Thailand using antifungal therapy. **Veterinary Medicine and Science**, v. 8, n. 6, p. 2283-2291, 2022.

SUPABANDHU, Jidapa *et al.* Isolation and identification of the human pathogen *Pythium insidiosum* from environmental samples collected in Thai agricultural areas. **Medical Mycology**, v. 46, n. 1, p. 41-52, 2008.

TABOSA, I. M. *et al.* Outbreaks of pythiosis in two flocks of sheep in northeastern Brazil. **Veterinary Pathology**, v. 41, n. 4, p. 412-415, 2004.

THIANPRASIT, M. Human pythiosis. **Trop Dermatol**. V. 4, p. 1–4, 1990.

THONGSUK, Pannaporn *et al.* Vascular pythiosis caused by *Pythium aphanidermatum*: the first case report in Asia. **European Journal of Medical Research**, v. 26, n. 1, p. 1-3, 2021.

TONPITAK, Walaiporn *et al.* First confirmed case of nasal pythiosis in a horse in Thailand. **JMM Case Reports**, v. 5, n. 1, 2018.

UD-NAEN, Somkiat *et al.* Defective cytokine production from monocytes/macrophages of E-beta thalassemia patients in response to *Pythium insidiosum* infection. **Immunobiology**, v. 224, n. 3, p. 427-432, 2019.

VANITTANAKOM, Nongnuch *et al.* 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.

VANITTANAKOM, Nongnuch *et al.* Molecular detection of *Pythium insidiosum* from soil in Thai agricultural areas. **International Journal of Medical Microbiology**, v. 304, n. 3-4, p. 321-326, 2014.

VENTO, Sandro; CAINELLI, Francesca; CESARIO, Francesco. Infections and thalassaemia. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 6, n. 4, p. 226-233, 2006.

VIDELA, Ricardo *et al.* Vulvar pythiosis in two captive camels (*Camelus dromedarius*). **Sabouraudia**, v. 50, n. 2, p. 212-224, 2012.

VILELA, Raquel *et al.* *Pythium insidiosum* isolated from infected mosquito larvae in central Brazil. **Acta Tropica**, v. 185, p. 344-348, 2018.

VISHWAKARMA, Pratima *et al.* *Pythium* keratitis: Clinical profile, laboratory diagnosis, treatment, and histopathology features post-treatment at a tertiary eye care center in Eastern India. **Indian Journal of Ophthalmology**, v. 69, n. 6, p. 1544, 2021.

WALKER, Claire A.; VAN WEST, Pieter. Zoospore development in the oomycetes. **Fungal Biology Reviews**, v. 21, n. 1, p. 10-18, 2007.

WANACHIWANAWIN, Wanchai *et al.* Fatal arteritis due to *Pythium insidiosum* infection in patients with thalassaemia. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 87, n. 3, p. 296-298, 1993.

WEIBLEN, Carla *et al.* Seroprevalence of *Pythium insidiosum* infection in equine in Rio Grande do Sul, Brazil. **Ciência Rural**, v. 46, p. 126-131, 2015.

WELLEHAN, James FX *et al.* Pythiosis in a dromedary camel (*Camelus dromedarius*). **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v. 35, n. 4, p. 564-568, 2004.

WHITE, S. D. *et al.* Cutaneous pythiosis in a California nontravelled horse. **Vet. Dermatol**, v. 19, n. 6, p. 391-394, 2008.

WORASILCHAI, Navaporn *et al.* Differential diagnosis for pythiosis using thermophilic helicase DNA amplification and restriction fragment length

polymorphism (tHDA-RFLP). **Medical Mycology**, v. 56, n. 2, p. 216-224, 2018b.

WORASILCHAI, Navaporn *et al.* Monitoring anti-*Pythium insidiosum* IgG Antibodies and (1→3)-β-d-Glucan in vascular pythiosis. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 56, n. 8, p. e00610-18, 2018a.

WORASILCHAI, Navaporn; PERMPALUNG, Nitipong; CHINDAMPORN, Ariya. High-resolution melting analysis: A novel approach for clade differentiation in *Pythium insidiosum* and pythiosis. **Medical Mycology**, v. 56, n. 7, p. 868-876, 2018.

YOLANDA, Hanna; KRAJAEJUN, Theerapong. Global distribution and clinical features of pythiosis in humans and animals. **Journal of Fungi**, v. 8, n. 2, p. 182, 2022.

ZAMBRANO, Cristina G. *et al.* Isolamento e caracterização de espécies de *Pythium* de ambientes aquáticos no Estado do Rio Grande do Sul e avaliação da patogenicidade em modelo experimental. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 37, p. 459-464, 2017.

ZNAJDA, Nadine R.; GROOTERS, Amy M.; MARSELLA, Rosanna. PCR-based detection of *Pythium* and *Lagenidium* DNA in frozen and ethanol-fixed animal tissues. **Veterinary Dermatology**, v. 13, n. 4, p. 187-194, 2002.

8. TRABALHO CIENTÍFICO

Revista “Veterinária e Zootecnia”

Normas de Publicação:

<https://rvz.emnuvens.com.br/rvz/about/submissions>

Tipo do artigo: Revisão de Literatura

Pythium insidiosum E PITIOSE - UMA REVISÃO DE LITERATURA

RESUMO

Pythium insidiosum é o agente etiológico da pitiose, sendo ele um microrganismo da classe dos oomicetos, patogênico e causador da pitiose em várias espécies animais, incluindo humanos. A doença é caracterizada por lesões no tecido cutâneo/subcutâneo, lesões gastrointestinais, vasculares, oculares, podendo se disseminar para órgãos internos. A forma cutânea gera granulomas exsudativos, sendo comum a formação de “kunkers”, um material necrótico de coloração amarelada, apenas nos equídeos. O diagnóstico é feito através dos sinais clínicos e histórico do paciente, cultura e identificação do agente e alguns testes como os sorológicos (imunodifusão, ELISA, Western blot, hemaglutinação e teste imunocromatográfico), histopatológico, imunohistoquímica, testes moleculares e recentemente, análises proteômicas, como o MALDI –TOF. O tratamento baseia-se na exérese cirúrgica da lesão com margens livre do patógeno, sendo apenas possível em regiões sem comprometimento de importantes estruturas anatômicas; uso de medicamentos como Anfotericina B e Iodeto de Potássio e a imunoterapia como forma de modular a resposta imune do hospedeiro. Não existe fator predisponente para a aquisição da doença, sendo o principal risco a permanência em águas estagnadas com presença de material vegetal. Dessa forma, a principal forma de infecção é evitar, quando possível, a manutenção por longos períodos de animais no interior de lagoas, rios/riachos ou açudes, bem como utilizar equipamentos de proteção individual em humanos quando necessitarem adentrar em tais ambientes.

Palavras – chave: oomiceto, zoósporos, swamp cancer, kunker.

Pythium insidiosum AND PYTHIOSIS: A REVIEW OF LITERATURE

ABSTRACT

Pythium insidiosum is the etiological agent of pythiosis. This microorganism is a pathogenic oomycete that causes disease in several animal species, such as horses, dogs, cattle, sheep, goats, cats, birds and also humans. It is a disease characterized by lesions in the cutaneous/subcutaneous tissues in the form of exudative granulomas, the formation

of “kunkers” being common in horses. It can also cause damage in gastrointestinal tract, vascular, ocular, and disseminated to internal organs. The diagnostic methods are, in addition to clinical signs and patient history, culture and identification of the agent, serological tests (immunodiffusion, ELISA, Western blot, hemagglutination and immunochromatographic tests), histopathological, immunohistochemical, molecular tests and recently, proteomic analysis, like MALDI-TOF. The treatment is based on surgical exeresis of the lesion with margins free of the pathogen, and this treatment is only possible in regions without involviment of important anatomical structures; use of drugs such as Amphotericin B and Potassium Iodide and immunotherapy as a way to modulate the host immune response. There is no predisposing factor for acquiring the disease, the main risk being staying in stagnant water with the presence of plant material. Thus, the main form of infection is to avoid, when possible, keeping animals inside ponds, rivers/streams or dams for long periods, as well as using personal protective equipment on humans when they need to enter such environments.

Keywords: oomycota, zoospores, swamp cancer, krunker

Pythium insidiosum Y PITIOSIS - UNA REVISIÓN DE LA LITERATURA

RESUMEN

Pythium insidiosum es el agente etiológico de la pitiosis. Este microorganismo es un oomiceto patógeno que causa enfermedad en varias especies animales, como caballos, perros, bovinos, ovinos, caprinos, felinos, aves y también humanos. Es una enfermedad caracterizada por lesiones en el tejido cutáneo/subcutáneo en forma de granulomas exudativos, siendo frecuente la formación de kunkers en los caballos. También puede causar lesiones gastrointestinales, vasculares y oculares y diseminarse a los órganos internos. Los métodos diagnósticos son, además de los signos clínicos y la historia del paciente, el cultivo e identificación del agente, las pruebas serológicas (inmunodifusión, ELISA, Western blot, hemaglutinación y prueba inmunocromatográfica), la histopatología, la inmunohistoquímica, las pruebas moleculares y, recientemente, el análisis proteómico, como el MALDI-TOF. El tratamiento se basa en la escisión quirúrgica de la lesión con márgenes libres de patógenos, y este tratamiento solo es posible en regiones sin compromiso de estructuras anatómicas importantes; uso de fármacos como la anfotericina B y el yoduro de potasio y la inmunoterapia como forma de modular la respuesta inmunitaria del huésped. No existe un factor predisponente para adquirir la enfermedad, siendo el principal riesgo permanecer en aguas estancadas con presencia de material vegetal. Así, la principal forma de infección es evitar, en lo posible, mantener a los animales dentro de estanques, ríos/arroyos o represas por períodos prolongados, así como usar equipo de protección personal en humanos cuando necesitan ingresar a dichos ambientes.

Palabras clave: oomiceto, zoosporas, cáncer de pantano, kunker.

INTRODUÇÃO

Os oomicetos são organismos que se assemelham morfológicamente aos do Reino Fungi; porém, em sua classificação taxonômica, pertencem ao Reino Stramenopila, sendo geneticamente mais semelhantes a organismos aquáticos, como algas e diatomáceas [1]. Embora em sua maioria sejam saprotróficos, a capacidade de algumas espécies de infectar uma variedade de hospedeiros é uma característica da classe. São conhecidos há muito tempo como “fungos aquáticos” por possuírem hifas com poucos septos, parecidos com fungos zigomicetos, e incluem uma diversidade de organismos, desde os de vida livre, até patógenos de plantas, mamíferos, insetos, peixes, crustáceos e algas [1,2]. *Pythium* spp. são ecologicamente e fisiologicamente únicos. Eles ocorrem no solo e habitats aquáticos em todo o mundo. *Pythium insidiosum*, no entanto, é o único membro do gênero que foi reconhecido como patógeno de mamíferos [3], embora já existam dois casos descritos na literatura da doença, em humanos, causada pela espécie *Pythium aphanidermatum* [4,5]. A pitiose em mamíferos é caracterizada pelo desenvolvimento de lesões cutâneas, subcutâneas, vasculares e intestinais e, menos frequentemente, pelo acometimento de ossos e pulmões. Se não for tratada, a doença progride rapidamente, tornando-se uma ameaça à vida [3]. O diagnóstico da pitiose é difícil, pois frequentemente o patógeno é confundido com fungos zigomicetos em cortes histológicos [6]. O objetivo desta revisão foi reunir e resumir as principais literaturas sobre *Pythium insidiosum* e a pitiose, desde a história da doença até profilaxia e controle, servindo como embasamento teórico para pesquisas futuras. Para tanto, foi realizada busca de artigos empregando-se as palavras-chaves “*Pythium insidiosum*” e “*Pythium insidiosum* or pythiosis” na base de dados do PubMed (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>), pertencente ao National Center for Biotechnology Information (NCBI) dos Estados Unidos. A busca encontrou para o termo “*Pythium insidiosum*” um total de 352 artigos entre os anos de 1987 a 2023. Já para os termos “*Pythium insidiosum* or pythiosis” foi possível encontrar 424 artigos entre os anos de 1983 a 2023. Em ambas as buscas, o número de artigos de acordo com o ano de publicação ficou na casa das unidades, sendo observado um aumento do número de publicações a partir do ano de 2003 para a casa das dezenas (13 artigos para cada conjunto de palavras-chave), retornando a casa das unidades em 2004 até 2008, quando então o número de publicações vem se mantendo na casa das dezenas até a presente data, com exceção do ano de 2023 para a palavra-chave “*Pythium insidiosum*”, que conta com nove artigos publicados (**Quadro 1**).

Breve histórico da pitiose e a descoberta de seu agente etiológico

Em 1901, o agente causador de uma doença granulomatosa foi isolado de amostras de equinos e denominado “*Hyphomycosis destruens*” por de Haan e Hoogkamer, porém, não conseguiram classificar o agente [7]. Em 1974, Austwick e Copland isolaram um organismo semelhante de cavalos com lesão granulomatosa, no qual observaram a capacidade de produzir zoósporos biflagelados. Com base nessa característica morfológica única, eles relataram que o organismo em questão pertencia ao gênero *Pythium* [8].

Em 1980, Ichitani e Amemiya classificaram um isolado de equino como *Pythium gracile* após comparar as características reprodutivas de diferentes espécies de *Pythium* [9]. Anos depois, *Pythium insidiosum* foi formalmente descrito com base em sua esporulação sexual [10]. Isso aconteceu simultaneamente com W.A. Shipton descrevendo uma nova espécie, *Pythium destruens*, que mais tarde foi considerada idêntica a *P. insidiosum* por sequenciamento gênico e, finalmente considerada a denominação mais correta em 1989, quando Mendoza e Marin demonstraram que os isolados *P. insidiosum* (De Cock) e *P. destruens* (Shipton) apresentavam o mesmo perfil antigênico [11,12].

O agente etiológico da pitiose é o microrganismo eucariótico filamentosso denominado *Pythium insidiosum*, onde inicialmente foi classificado como um fungo e, posteriormente, teve sua classificação alterada, atualmente pertencendo ao reino Stramenopila, filo Oomycota, classe Oomycetes, ordem Peronosporales e família Pythiaceae [10]. A diferença entre os oomicetos e os fungos estão retratadas a nível celular através de alterações na parede e composição da membrana [13]. As cristas mitocondriais nos fungos verdadeiros são achatadas, enquanto nos oomicetos são tubulares. No filo Chytridiomycota (reino Fungi), os microrganismos possuem zoósporos uniflagelados, enquanto os do filo Oomycota possuem esporos biflagelados. A parede celular é composta principalmente por quitina e α e β glucanas em fungos verdadeiros, enquanto em oomicetos é composta por β glucanas, celulose e hidroxiprolina. A principal diferença está na membrana celular que explica o insucesso do tratamento médico da pitiose: a ausência de ergosterol, que é o principal alvo dos antifúngicos [3].

Microscopicamente, *P. insidiosum* é caracterizado por hifas largas (4-10 μ m de diâmetro), ramificações perpendiculares, cenocítica (em hifas jovens), septação esparsa (em um organismo envelhecido) e pontas de hifas arredondadas [10]. Produz zoósporos biflagelados (estágio reprodutivo assexuado) em um ambiente aquático adequado e não precisa de um hospedeiro suscetível, pois é capaz de sobreviver e se multiplicar em plantas em decomposição [3, 8, 10, 14]. Os zoósporos são considerados os propágulos infecciosos, no qual apresentam quimiotaxia e encistam quando entram em contato com o tecido vegetal e/ou animal em decomposição ou lesionado [3].

Seu ciclo ecológico é baseado na colonização de plantas aquáticas, utilizadas como substrato para o desenvolvimento e reprodução do organismo, dando origem aos zoosporângios. Os zoósporos (propágulos infecciosos) livres na água, movimentam-se através de seus flagelos a procura de pêlos de animais, feridas, pele danificada, mucosa intestinal e folhas de plantas, na qual se encistam e emitem o tubo germinativo, dando origem a um novo micélio e completando o seu ciclo [9, 14, 23]. Após a liberação de zoósporos, a invasão de tecidos vegetais e animais é permitida através da ativação de vários mecanismos, no qual o zoósporo encista-se nos tecidos danificados e secreta glicoproteína amorfa para facilitar a adesão à superfície [14, 24]. Estimulados pela temperatura corporal do hospedeiro, os zoósporos encistados desenvolvem-se em hifas que se estendem para o tecido infectado e invadem os vasos sanguíneos [3]. Foi avaliado o perfil proteico de isolados de *P. insidiosum* e inferiram que a enzima enolase poderia ter papel importante na patogênese, uma vez que essa enzima está envolvida na degradação da matriz extra-celular e nos processos de adesão [25]. O processo patogênico da pitiose tem sido associado à degranulação de eosinófilos e mastócitos (células inflamatórias) ao redor das hifas e esse fato contribui para o dano tecidual, levando a lesões extensas. Em equinos a reação é tão pronunciada que os eosinófilos degranulam fortemente ao redor das hifas de *P. insidiosum* formando as concreções firmes denominadas “kunkers”. É interessante destacar que o patógeno está camuflado dentro do

material eosinofílico, fato que representa uma estratégia evolutiva que protege o *P. insidiosum* de se apresentar plenamente às defesas do hospedeiro [26-28].

Aspectos filogenéticos de *Pythium insidiosum*

P. insidiosum é classificado em 3 clados, por análises filogenéticas de diferentes genes, de acordo com região onde o microrganismo é encontrado. É denominado clado I, II e III, quando usada a região do espaçador transcrito interno (ITS) ou a região do espaçador intergênico (IGS) ou gene *exo-1,3-β-glucanase (exo1)*; quando utilizado o gene citocromo C oxidase II (COX2), DNA mitocondrial, fica designado como clado A_{TH}, B_{TH}, C_{TH}. Clado A_{TH} ou clado I é encontrado principalmente no continente americano; O clado B_{TH} ou clado II é normalmente encontrado na Ásia e na Austrália; O clado C_{TH} ou clado III é encontrado na Tailândia e nos Estados Unidos [15-18]. Foi descrito uma nova espécie baseada em análises filogenéticas e por MALDI-TOF a partir da análise de isolados do cluster III, isolados da Índia, Israel, EUA e Tailândia. Essa nova espécie recebeu o nome de *Pythium periculosum* [18].

Epidemiologia

A pitiose afeta o homem e animais como equinos, cães, bovinos, ovinos, caprinos, felinos, entre outras espécies e ocorre em áreas tropicais, subtropicais ou temperadas, sendo descrito na EUA, Brasil, Índia, Tailândia, Austrália, Colômbia, Egito, Venezuela, Costa Rica, China, Uruguai, Papua Nova Guiné, Japão, Israel, Espanha, México, Malásia, Coreia do Sul, Jamaica, Haiti, Mali, Nova Zelândia, Taiwan [20]. Desde o século passado, o ambiente aquático tem sido relacionado a casos de granulomas cutâneos em equinos, onde foi observado que, após os cavalos terem pastado por um longo período em água estagnada, eles frequentemente desenvolviam pitiose. Assim, suspeitava-se de uma relação entre habitats úmidos e esta doença desde o início de sua história [21]. Fatores como idade, sexo ou raça não influenciam na aquisição da infecção. O principal fator é a permanência do animal em água estagnada, local propício ao desenvolvimento dos zoósporos, forma infectante do patógeno [22].

Aspectos clínicos

Os sinais clínicos dependem da espécie afetada, indo de lesão granulomatosa em tecidos cutâneo e subcutâneo, lesão em tecido gastrointestinal e ocular, a oclusão arterial e envoltórios de órgãos internos [22]. Nos equinos, a principal forma é a cutânea, onde devido ao contato com águas contaminadas com zoósporos pode desenvolver a infecção principalmente nas extremidades distais dos membros e porção ventral da parede toraco-abdominal [29, 30]. Consistem em tecido ulcerativo nodular piogranulomatoso grande (5 a 500 mm), arredondado que drenam um exsudato serossanguinolento de odor fétido, e o animal apresenta prurido intenso. Também pode haver a formação de "kunkers", que consiste em material necrótico amarelo-acinzentado advindo do tecido acometido e das fístulas de drenagem que ele possui, e é específico da pitiose equina [3]. Essas massas variam de 2 a 10 mm de diâmetro, têm forma irregular, ramificada, com aspecto arenoso

e penetram no tecido granular, dentro de “sinus” formados ao longo do seu trajeto [31, 29]. Quando as lesões se desenvolvem nos membros (principalmente perto das articulações), a claudicação é um achado frequente [24]. Os casos descritos de pitiose intestinal em equinos cursaram com episódios de cólica, causadas pela presença de massas teciduais, levando a redução e/ou obstrução do lúmen intestinal [32, 33].

Nos bovinos, a doença foi descrita afetando a região de membros, onde os animais apresentam massas tumorais com fístulas e tecido ulcerado, levando a claudicação. As áreas afetadas são extremamente dolorosas e a maioria dos animais não consegue se levantar, o que geralmente leva à desidratação e à morte. Também pode ocorrer infecção bacteriana secundária [3].

Em ovinos, a pitiose tem sido relatada como causadora de lesões cutâneas em diferentes regiões do corpo e como doença rinofaríngea [34, 35]. Observa-se lesões granulomatosas nos membros e nas áreas rinofaríngeas. Os sinais clínicos envolvendo a rinofaringe incluem secreção nasal serosanguinolenta bilateral, inchaço das narinas e pele da face [35].

Foi relatado um caso de pitiose em um caprino que apresentava claudicação e emagrecimento associado a extensa lesão cutânea ulcerativa, exsudativa e pruriginosa na região metatarso-falângica do membro posterior esquerdo onde os sinais clínicos iniciais foram observados ao longo 1 mês. Realizou-se excisão cirúrgica completa da lesão e tratou a ferida cirúrgica como ferida aberta com clorexidina e repelente de insetos. Duas semanas após a excisão, a cabra não apresentava sinais clínicos de pitiose [36].

Os cães afetados são geralmente de regiões rurais e se infectam ao entrar em contato ou beber água, em lagoas ou rios, contaminada com zoósporos [37]. Nos cães a doença também se manifesta nas formas cutânea/subcutânea e gastrointestinal. A forma gastrointestinal é a mais comum e o diagnóstico é apenas *post mortem*, onde manifesta-se com distúrbios digestivos como anorexia crônica, perda de peso, vômitos e diarreia, podendo ser sanguinolenta, e presença de massa nodular firme quando submetidos a palpação abdominal [23, 38].

A pitiose em gatos é rara, havendo poucos relatos na literatura. Os sinais clínicos presentes nas infecções retrobulbar e nasal incluem, respectivamente, protrusão da membrana nictitante direita com conjuntivite e edema no palato duro caudal ao último dente molar à direita, estridor respiratório leve e linfadenopatia submandibular bilateral foram observados [39]. Na forma intestinal foi observado obstrução intestinal e as apresentações clínicas foram anorexia e vômito [40]. Relatos recentes de pitiose na cavidade oral cursaram com a presença de massa multilobular e irregular em região sublingual; volume facial com deformidade e halitose ocasionados pela presença de massa esbranquiçada no palato mole, disfagia, oligodipsia e perda de peso [41, 42]. As lesões cutâneas foram observadas como dermatite ulcerativa nodular ou em placa [43] ou massas dérmicas e subcutâneas profundas com presença ou não de ulcerações [44, 42]. Felinos selvagens, como a onça-pintada e o tigre-de-bengala, têm sido relatados com pitiose pulmonar e cutânea, respectivamente [45, 46].

Em humanos, pode se apresentar como lesões ulceradas granulomatosas com presença de exsudato no tecido subcutâneo de pacientes talassêmicos; como forma sistêmica, afetando principalmente extremidades de membros inferiores de pacientes talassêmicos, caracterizada por dor e edema da região afetada devido à inflamação arterial crônica e oclusão por invasão do organismo, resultando em gangrena, formação de aneurisma e ressecção das artérias afetadas ou amputação das extremidades afetadas; e

como ceratite, onde a talassemia não foi importante como doença subjacente [47]. Em geral, a pitiose humana é comumente observada em pacientes com idade entre 20 e 60 anos e trabalhadores do sexo masculino com ocupação relacionada à agricultura e pesca [48].

Diagnóstico

O diagnóstico da pitiose inicialmente era baseado no aspecto clínico, histopatológico e isolamento e identificação do agente, o que tornava o diagnóstico precoce difícil, causando impactos diretos no sucesso do tratamento. Posteriormente, métodos como imunohistoquímica e técnicas sorológicas foram implementadas levando a um diagnóstico precoce e mais acertivo [49]. Técnicas de diagnóstico molecular também estão disponíveis para detecção da sequência de DNA específica de *Pythium insidiosum* em amostras clínicas, assim como mais recentemente, o emprego de análise proteômica [50, 51].

Tratamento

O tratamento da pitiose animal é difícil, pois muitas vezes o prognóstico é piorado pela demora no diagnóstico. O desbridamento cirúrgico extenso é a principal escolha na maioria dos casos, quando tal abordagem é viável [52]. Uma deficiência comum do tratamento cirúrgico é a recorrência como resultado da remoção incompleta do tecido infectado, por isso é de extrema importância que a cirurgia possua margens cirúrgicas livres do patógeno [24, 52].

Dois grupos principais de fármacos são comumente usados para tratar a pitiose: iodeto de potássio e anfotericina B. O iodeto de potássio tem sido usado desde o início do século na pitiose equina com resultados contraditórios. O uso de anfotericina B tem sido limitado em parte devido ao custo da terapia, baixa taxa de sucesso e seus efeitos colaterais tóxicos [24].

Outra possibilidade é a imunoterapia com antígenos de *P. insidiosum*. O principal mecanismo de ação da imunoterapia para cicatrização de feridas é a mudança da resposta Th2 para Th1, que é mediada por células mononucleares, principalmente monócitos e linfócitos [26, 53].

A cirurgia radical (com margens livres do patógeno) em pacientes com arterite grave é a base do tratamento bem-sucedido, que geralmente leva à amputação das extremidades [54]. Pacientes com lesões que não cicatrizam, aqueles com lesões suprainguinais ou acometimento aórtico, geralmente vão a óbito [54, 53]. No acometimento ocular, em casos de envolvimento de grande área de esclera ou endoftalmite, evisceração ou enucleação pode ser necessária [56, 57].

Pacientes com arterite causada por *P. insidiosum* não responderam ao iodeto de potássio, mas pacientes com pitiose subcutânea parecem ter respondido bem a essa droga [59]. A principal desvantagem do iodeto e da anfotericina B é sua toxicidade. A

anfotericina B em humanos com pitiose também apresentou resultados contraditórios [24].

O uso da vacina imunoterapêutica preparada a partir do extrato de proteína bruta de *P. insidiosum* mostrou uma eficiência limitada no tratamento das formas da doença [59, 55].

Profilaxia e controle

A infecção por *P. insidiosum* ocorre após exposição dos hospedeiros com lesões na pele a ambientes úmidos contendo zoósporos do patógeno. Com isso, a recomendação para prevenir novas ocorrências da doença é evitar a permanência de animais em águas estagnadas com vegetação e manter os animais em um ambiente mais seco durante as estações chuvosas [3, 52].

Em humanos, é recomendado o uso de equipamentos de proteção individual (EPI), como óculos de natação para uso em rios/lagoas, botas de borracha, luvas e óculos para entrar em campos alagados. Outra possibilidade é a divulgação de alertas de risco de infecção em rios/lagoas em áreas endêmicas para pitiose [52].

Considerações finais

O número de trabalhos publicados na base de dados do PubMed sobre *Pythium insidiosum*/pitiose é pequeno quando comparado a outras infecções fúngicas. Apesar de ainda ser um número pequeno de artigos, observa-se um crescimento no número de publicações a partir do ano de 2008 (**Quadro 1**), passando a dezenas de publicações por ano. Durante esses quase 40 anos onde a doença e seu agente etiológico vem sendo estudados, muito se publicou sobre os aspectos etiológicos, especialmente sobre as relações filogenéticas intra e inter-específicas de *P. insidiosum*, muitos relatos de casos, pesquisas sobre sensibilidade antimicrobiana, técnicas para seu diagnóstico e pouco tem sido observado sobre a questão terapêutica.

A revisão de literatura apresentada permitiu compilar pesquisas importantes para o estudo do *Pythium insidiosum* e da pitiose, a qual mostrou também a grande necessidade de buscas por questões tão importantes, como uma terapêutica mais eficiente, para um resultado mais satisfatório no tratamento e, conseqüentemente, prognósticos melhores para os pacientes.

REFERÊNCIAS

1. Adhikari BN, Hamilton JP, Zerillo MM, Tisserat N, Lévesque CA, Buell CR. Comparative genomics reveals insight into virulence strategies of plant pathogenic oomycetes. PloS one. 2013 Oct 4;8(10):e75072.

2. Mendoza L, Vilela R. The mammalian pathogenic oomycetes. *Current Fungal Infection Reports*. 2013 Sep;7:198-208.
3. Gaastra W, Lipman LJ, De Cock AW, Exel TK, Pegge RB, Scheurwater J, Vilela R, Mendoza L. *Pythium insidiosum*: an overview. *Veterinary microbiology*. 2010 Nov 20;146(1-2):1-6.
4. Calvano TP, Blatz PJ, Vento TJ, Wickes BL, Sutton DA, Thompson EH, White CE, Renz EM, Hospenthal DR. *Pythium aphanidermatum* infection following combat trauma. *Journal of Clinical Microbiology*. 2011 Oct;49(10):3710-3.
5. Farmer AR, Murray CK, Driscoll IR, Wickes BL, Wiederhold N, Sutton DA, Sanders C, Mende K, Enniss B, Feig J, Ganesan A. Combat-related *Pythium aphanidermatum* invasive wound infection: case report and discussion of utility of molecular diagnostics. *Journal of clinical microbiology*. 2015 Jun;53(6):1968-75.
6. Kaufman L. Penicilliosis marneffeii and pythiosis: emerging tropical diseases. *Mycopathologia*. 1998 Jul;143:3-7.
7. Mendoza L, Ajello L, McGinnis MR. Infections caused by the oomycetous pathogen *Pythium insidiosum*. *Journal de mycologie médicale (Paris)*. 1996;6(4):151-64.
8. Austwick PK, Copland JW. *Swamp cancer*. *Nature*. 1974 Jul 5;250(5461):84-.
9. Ichitani T, Amemiya J. *Pythium gracile* isolated from the foci of granular dermatitis in the horse (*Equus caballus*). *Transactions of the Mycological Society of Japan*. 1980;21(2):263-5.
10. De Cock AW, Mendoza L, Padhye AA, Ajello L, Kaufman L. *Pythium insidiosum* sp. nov., the etiologic agent of pythiosis. *Journal of Clinical Microbiology*. 1987 Feb;25(2):344-9.
11. Shipton, W. A. "*Pythium destruens* sp. nov., an agent of equine pythiosis." *Journal of medical and veterinary mycology* 25, no. 3 (1987): 137-151.
12. Mendoza L, Marin G. Antigenic Relationship Between *Pythium insidiosum* de Cock et al. 1987 and its Synonym *Pythium destruens* Shipton 1987: Antigenverwandschaft zwischen *Pythium insidiosum* de Cock et al. 1987 und seinem Synonym *Pythium destruens* Shipton 1987. *Mycoses*. 1989 Feb;32(2):73-7.
13. Santurio JM, Alves SH, Pereira DB, Argenta JS. Pitiose: uma micose emergente. *Acta Scientiae Veterinariae*. 2006;34(1):1-4.

14. Mendoza L, Hernandez F, Ajello L. Life cycle of the human and animal oomycete pathogen *Pythium insidiosum*. *Journal of Clinical Microbiology*. 1993 Nov;31(11):2967-73.
15. Kammarnjesadakul P, Palaga T, Sritunyalucksana K, Mendoza L, Krajaejun T, Vanittanakom N, Tongchusak S, Denduangboripant J, Chindamporn A. Phylogenetic analysis of *Pythium insidiosum* Thai strains using cytochrome oxidase II (COX II) DNA coding sequences and internal transcribed spacer regions (ITS). *Medical Mycology*. 2011 Apr 1;49(3):289-95.
16. Schurko A, Mendoza L, de Cock AW, Klassen GR. Evidence for geographic clusters: Molecular genetic differences among strains of *Pythium insidiosum* from Asia, Australia and the Americas are explored. *Mycologia*. 2003 Mar 1;95(2):200-8.
17. Schurko AM, Mendoza L, Lévesque CA, Désaulniers NL, De Cock AW, Klassen GR. A molecular phylogeny of *Pythium insidiosum*. *Mycological research*. 2003 May 1;107(5):537-44.
18. Ribeiro TC, Weiblen C, de Azevedo MI, de Avila Botton S, Robe LJ, Pereira DI, Monteiro DU, Lorensetti DM, Santurio JM. Microevolutionary analyses of *Pythium insidiosum* isolates of Brazil and Thailand based on *exo-1*, 3- β -glucanase gene. *Infection, Genetics and Evolution*. 2017 Mar 1;48:58-63..
19. Miraglia BM, Mendoza L, Rammohan R, Vilela L, Vilela C, Vilela G, Huebner M, Mani R, Vilela R. *Pythium insidiosum* complex hides a cryptic novel species: *Pythium periculosum*. *Fungal Biology*. 2022 May 1;126(5):366-74.
20. Yolanda H, Krajaejun T. Global distribution and clinical features of pythiosis in humans and animals. *Journal of Fungi*. 2022 Feb 11;8(2):182.
21. Rivierre C, Laprie C, Guiard-Marigny O, Bergeaud P, Berthelemy M, Guillot J. Pythiosis in Africa. *Emerging infectious diseases*. 2005 Mar;11(3):479.
22. Bosco, S. M. G.; HussnI, C. A.; Santurio, J. M.; Bagagli, E. Pitiose. In: Megid, J.; Ribeiro, M. G.; Paes, A. C. Doenças infecciosas em animais de produção e companhia. 1ª. Ed. Rio de Janeiro: Roca, p. 946-957, 2016.
23. Miller RI, Campbell RS. Immunological studies on equine phycomycosis. *Australian Veterinary Journal*. 1982 Jun;58(6):227-31.
24. Mendoza, L. *Pythium Insidiosum*. In: Topley and Wilson's Microbiology and Microbial Infections. 2016.

25. Chechi JL, Franckin T, Barbosa LN, Alves FC, Leite AD, Buzalaf MA, Delazari dos Santos L, Bosco SD. Inferring putative virulence factors for *Pythium insidiosum* by proteomic approach. *Medical Mycology*. 2019 Jan 1;57(1):92-100.
26. Mendoza L, Mandy W, Glass R. An improved *Pythium insidiosum*-vaccine formulation with enhanced immunotherapeutic properties in horses and dogs with pythiosis. *Vaccine*. 2003 Jun 20;21(21-22):2797-804.
27. Mendoza L, Villalobos J, Calleja CE, Solis A. Evaluation of two vaccines for the treatment of pythiosis insidiosi in horses. *Mycopathologia*. 1992 Aug;119:89-95.
28. Mendoza L, Newton JC. Immunology and immunotherapy of the infections caused by *Pythium insidiosum*. *Medical Mycology*. 2005 Sep 1;43(6):477-86.
29. Chaffin MK, James S, McMullan WC. Cutaneous pythiosis in the horse. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*. 1995 Apr 1;11(1):91-103.
30. Foil CS. Update pythiosis (oomycosis). In *North American Veterinary Conference (USA) 1996*.
31. Meireles MC, Riet-Correa F, Fischman O, Zambrano AF, Zambrano MD, Ribeiro GA. Cutaneous pythiosis in horses from Brazil: Kutane Pythiose bei Pferden in Brasilien. *Mycoses*. 1993 Mar;36(3-4):139-42.
32. Brown CC, Roberts ED. Intestinal pythiosis in a horse. *Australian Veterinary Journal*. 1988 Mar;65(3):88-9.
33. Bezerra Júnior PS, Pedroso PM, Pavarini SP, Dalto AG, Santúrio JM, Driemeier D. Equine intestinal pythiosis in Southern Brazil. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 2010;62:481-3.
34. Tabosa IM, Riet-Correa F, Nobre VM, Azevedo EO, Reis-Junior JL, Medeiros RM. Outbreaks of pythiosis in two flocks of sheep in northeastern Brazil. *Veterinary Pathology*. 2004 Jul;41(4):412-5.
35. Riet-Correa F, Dantas AF, Azevedo EO, Simões SD, Silva S, Vilela R, Mendoza L. Outbreaks of rhinofacial and rhinopharyngeal zygomycosis in sheep in Paraíba, northeastern Brazil. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 2008;28:29-35.
36. Do Carmo PM, Portela RA, Silva TR, Oliveira-Filho JC, Riet-Correa F. Cutaneous pythiosis in a goat. *Journal of Comparative Pathology*. 2015 Feb 1;152(2-3):103-5.

37. Foil CS, Short BG, Fadok VA, Kunkle GA. A report of subcutaneous pythiosis in five dogs and a review of the etiologic agent *Pythium* spp. The Journal of the American Animal Hospital Association (USA). 1984.
38. Fischer JR, Pace LW, Turk JR, Kreeger JM, Miller MA, Gosser HS. Gastrointestinal pythiosis in Missouri dogs: eleven cases. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation. 1994 Jul;6(3):380-2.
39. Bissonnette KW, Sharp NJ, Dykstra MH, Robertson IR, Davis B, Padhye AA, Kaufman L. Nasal and retrobulbar mass in a cat caused by *Pythium insidiosum*. Journal of Medical and Veterinary Mycology. 1991 Jan 1;29(1):39-44.
40. Rakich PM, Grooters AM, Tang KN. Gastrointestinal pythiosis in two cats. Journal of veterinary diagnostic investigation. 2005 May;17(3):262-9.
41. Fortin JS, Calcutt MJ, Kim DY. Sublingual pythiosis in a cat. Acta Veterinaria Scandinavica. 2017 Dec;59:1-5.
42. Souto EP, Maia LA, Virgínio JP, Carneiro RS, Kommers GD, Riet-Correa F, Galiza GJ, Dantas AF. Pythiosis in cats in northeastern Brazil. Journal de Mycologie Médicale. 2020 Sep 1;30(3):101005.
43. Dowst M, Pavuk A, Vilela R, Vilela C, Mendoza L. An unusual case of cutaneous feline pythiosis. Medical mycology case reports. 2019 Dec 1;26:57-60.
44. Soares LM, Schenkel DM, Rosa JM, Azevedo LS, Tineli TR, Dutra V, Colodel EM, Pescador CA. Feline subcutaneous pythiosis. Ciência Rural. 2019 Mar 11;49.
45. Camus AC, Grooters AM, Aquilar RF. Granulomatous pneumonia caused by *Pythium insidiosum* in a central American jaguar, *Panthera onca*. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation. 2004 Nov;16(6):567-71.
46. Buergelt C, Powe J, White T. Abdominal pythiosis in a Bengal tiger (*Panthera tigris tigris*). Journal of Zoo and Wildlife Medicine. 2006 Jun;37(2):186-9.
47. Imwidthaya P. Human pythiosis in Thailand. Postgraduate Medical Journal. 1994 Aug 1;70(826):558-60.
48. Krajaejun T, Sathapatayavongs B, Prachartam R, Nitiyanant P, Leelachaikul P, Wanachiwanawin W, Chaiprasert A, Assanasen P, Saipetch M, Mootsikapun P, Chetchotisakd P. Clinical and

- epidemiological analyses of human pythiosis in Thailand. *Clinical Infectious Diseases*. 2006 Sep 1;43(5):569-76.
49. Mendoza L, Ajello L, McGinnis MR. Infections caused by the oomycetous pathogen *Pythium insidiosum*. *Journal de mycologie médicale (Paris)*. 1996;6(4):151-64.
 50. Krajaejun T, Lohnoo T, Jittorntam P, Srimongkol A, Kumsang Y, Yingyong W, Rujirawat T, Reamtong O, Mangmee S. Assessment of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry for identification and biotyping of the pathogenic oomycete *Pythium insidiosum*. *International Journal of Infectious Diseases*. 2018 Dec 1;77:61-7.
 51. Mani R, Vilela R, Kettler N, Chilvers MI, Mendoza L. Identification of *Pythium insidiosum* complex by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. *Journal of Medical Microbiology*. 2019 Apr;68(4):574-84.
 52. Bosco SMG, Chechi JL, da Paz GS, Krajaejun T. Pythiosis. *Recent Trends in Human and Animal Mycology*. 2019:3-26.
 53. Santurio JM, Alves SH, Pereira DB, Argenta JS. Pitiose: uma micose emergente. *Acta Scientiae Veterinariae*. 2006;34(1):1-4.
 54. Sermsathanasawadi N, Praditsuktavorn B, Hongku K, Wongwanit C, Chinsakchai K, Ruangsetakit C, Hahtapornsawan S, Mutirangura P. Outcomes and factors influencing prognosis in patients with vascular pythiosis. *Journal of Vascular Surgery*. 2016 Aug 1;64(2):411-7.
 55. Permpalung N, Worasilchai N, Plongla R, Upala S, Sanguankeo A, Paitoonpong L, Mendoza L, Chindamporn A. Treatment outcomes of surgery, antifungal therapy and immunotherapy in ocular and vascular human pythiosis: a retrospective study of 18 patients. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2015 Jun;70(6):1885-92.
 56. Lekhanont K, Chuckpaiwong V, Chongtrakool P, Aroonroch R, Vongthongsri A. *Pythium insidiosum* keratitis in contact lens wear: a case report. *Cornea*. 2009 Dec 1;28(10):1173-7.
 57. Neufeld A, Seamone C, Maleki B, Heathcote JG. *Pythium insidiosum* keratitis: a pictorial essay of natural history. *Canadian Journal of Ophthalmology*. 2018 Apr 1;53(2):e48-50.
 58. Thianprasit M, Chaiprasert A, Imwidthaya P. Human pythiosis. *Current topics in medical mycology*. 1996 Dec 1;7(1):43-54.

59. Chitasombat MN, Larbcharoensub N, Chindamporn A, Krajaejun T. Clinicopathological features and outcomes of pythiosis. *International Journal of Infectious Diseases*. 2018 Jun 1;71:33-41.

Quadro 1: Número de artigos encontrados na literatura na base de dados do PubMed, segundo os termos empregados na busca, de acordo com os anos de publicação.

| Ano | Palavras-chave | |
|------|---------------------------|--|
| | <i>Pythium insidiosum</i> | <i>Pythium insidiosum</i> or pythiosis |
| 1983 | - | 2 |
| 1984 | - | 2 |
| 1985 | - | 2 |
| 1986 | - | 2 |
| 1987 | 2 | 3 |
| 1988 | 2 | 5 |
| 1989 | 3 | 7 |
| 1990 | 2 | 5 |
| 1991 | 2 | 2 |
| 1992 | 4 | 6 |
| 1993 | 1 | 5 |
| 1994 | 4 | 5 |
| 1995 | 1 | 1 |
| 1996 | 3 | 3 |
| 1997 | 3 | 3 |
| 1998 | 4 | 6 |
| 1999 | 0 | 3 |
| 2000 | 2 | 4 |
| 2001 | 2 | 2 |
| 2002 | 7 | 8 |
| 2003 | 13 | 13 |
| 2004 | 8 | 8 |
| 2005 | 7 | 7 |
| 2006 | 3 | 6 |
| 2007 | 4 | 4 |
| 2008 | 11 | 12 |
| 2009 | 16 | 16 |

| | | |
|------|----|----|
| 2010 | 11 | 12 |
| 2011 | 12 | 20 |
| 2012 | 19 | 23 |
| 2013 | 21 | 24 |
| 2014 | 22 | 23 |
| 2015 | 21 | 27 |
| 2016 | 23 | 23 |
| 2017 | 20 | 23 |
| 2018 | 30 | 34 |
| 2019 | 27 | 32 |
| 2020 | 30 | 31 |
| 2021 | 25 | 30 |
| 2022 | 30 | 32 |
| 2023 | 9 | 12 |