

Pitiose intestinal em cão - Dopplerfluxometria

Canine Intestinal Pythiosis - Doppler Flowmetry

Dallyana Roberta dos Santos Querino¹, José Ferreira da Silva Neto¹, Francisca Maria Sousa Barbosa¹,
Alane Pereira Alves¹, Markyson Tavares Linhares¹, Wesley Drayton Queiroz da Silva¹,
Glaucia Denise Kommers² & Ricardo Barbosa Lucena¹

ABSTRACT

Background: Pythiosis is a chronic pyogranulomatous infection of the gastrointestinal tract caused by the oomycete of the genus *Pythium*, which inhabits soil and aquatic environments. This disease has a global distribution, predominantly affecting horses, canines, and humans. In dogs, the gastrointestinal form is more prevalent than the cutaneous form. Pythiosis leads to thickening of the gastrointestinal wall and obliteration of its layers. Histopathologically, it is characterized by a pyogranulomatous inflammatory reaction with a marked eosinophilic component. Diagnosis can be confirmed through immunohistochemistry or other techniques, such as isolation and molecular evaluation. This study aims to report a case of canine gastrointestinal pythiosis, detailing the clinical, ultrasonographic, histopathological, and immunohistochemical findings.

Case: A 3-year-old male Pointer dog was presented to the Veterinary Hospital at the Federal University of Paraíba (UFPB), Areia, Brazil, with a 1-month history of anorexia, vomiting, and progressive weight loss. On physical examination, a mass was palpated in the medial portion of the abdomen. Ultrasonography revealed thickening of the gastrointestinal wall, with areas showing both normal and obliterated layers. Vascularization was observed within the thickened wall via Color Doppler. Based on these findings, the dog underwent an exploratory celiotomy. Due to the extensive nature of the lesions and an unfavorable prognosis, euthanasia was performed. Macroscopic evaluation revealed wall thickening from the distal duodenum to the middle 3rd of the jejunum, along with obliteration of the jejunal lumen layers and the presence of a large serosal mass (8 cm). Cytology demonstrated rare, uniform, linear, elongated, branched, and poorly septated hyphae within a pyogranulomatous and eosinophilic inflammatory reaction. Tissue samples were fixed in 10% formalin, routinely processed, embedded in paraffin, and stained with hematoxylin and eosin. Histopathological examination revealed multinucleated giant cells, macrophages, neutrophils, and numerous eosinophils extending from the mucosa to the serosa. Hyphae were observed in some areas, surrounded by eosinophilic and pyogranulomatous inflammation. Grocott methenamine silver staining showed positivity for branched and irregularly septated hyphae. In the immunohistochemical evaluation, positive staining confirmed the diagnosis of *Pythium insidiosum* infection.

Discussion: Gastrointestinal pythiosis typically presents with nonspecific clinical signs and should be considered a differential diagnosis in adult dogs with gastrointestinal disorders. This disease occurs in a significant percentage of canines in suburban areas, often without documented exposure to environments with water accumulation and high temperatures, as described in this case. The diagnosis of intestinal pythiosis in this report was based on a combination of clinical, epidemiological, ultrasonographic, microbiological, histopathological, and immunohistochemical findings. This case exhibited characteristics consistent with previous reports, but notably, the gastric wall was not involved. Due to the extensive lesions extending from the end of the duodenum to the middle 3rd of the jejunum and the poor prognosis, euthanasia was elected. Consequently, the treatment typically recommended in the literature, which includes surgical resection combined with postoperative antifungal therapy, was not pursued.

Keywords: canine, intestine, pyogranulomas, ultrasound, stains.

Descritores: canino, intestino, piogranulomas, ultrassom, colorações.

DOI: 10.22456/1679-9216.141493

Received: 29 August 2024

Accepted: 6 January 2025

Published: 9 February 2025

¹Hospital Veterinário, Centro de Ciências Agrárias (CCA), Universidade Federal da Paraíba (UFPB), Areia, PB, Brazil. ²Laboratório de Patologia Veterinária, Departamento de Patologia, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria, RS, Brazil. CORRESPONDENCE: R.B. Lucena [ricardolucena@cca.ufpb.br]. Hospital Veterinário - CCA - UFPB. CEP 58397-000 Areia, PB, Brazil.

INTRODUÇÃO

Pythium insidiosum é um oomiceto aquático [2,5,12], causador da pitiose em animais [17]. As espécies mais afetadas incluem os equinos, os cães, os bovinos e os humanos [3,6,11,13,15,19,20]. Sendo relatados também casos esporádicos em gatos, ovinos, aves e animais tropicais mantidos em cativeiro [6]. Nos caninos a manifestação gastrointestinal é mais prevalente que a cutânea [5,12].

Os cães acometidos por pitiose têm envolvimento predominante gastrointestinal, que resulta em perda de peso, inapetência, diarreia intermitente, vômitos, anorexia, tenesmo e aumentos de volumes palpáveis no abdômen [6,10]. Pode ocorrer estenose do lúmen dos órgãos e não é incomum o acometimento de 2 ou mais segmentos do trato digestório ou outros órgãos [12].

O diagnóstico da pitiose gastrointestinal consiste no exame clínico [10], ultrassonografia abdominal [8], histopatologia, isolamento com identificação do agente através de suas características morfológicas de cultivo, imuno-histoquímica, além de técnicas moleculares e sorológicas [10]. A ultrassonografia (US) abdominal pode ser utilizada para revelar espessamento segmentar da parede gástrica ou intestinal, linfadenopatia mesentérica ou massa abdominal [12]. A técnica de Doppler colorido, por sua vez, permite visualizar a direção do fluxo sanguíneo em relação ao transdutor de forma rápida e não invasiva [16]. Porém, no conhecimento dos autores, ainda não há descrição de avaliação da US Doppler em lesões de pitiose intestinal em cães.

Objetiva-se descrever os aspectos clínicos, ultrassonográficos dopplerfluxométricos, citológicos, histopatológicos, histoquímicos e imuno-histoquímicos de 1 caso de pitiose intestinal canina.

CASO

Um cão, macho, Pointer Inglês, com 3 anos de idade, aproximadamente 16 kg, foi atendido no Hospital Veterinário da Universidade Federal da Paraíba (UFPB), com histórico de anorexia, vômito e emagrecimento progressivo, há aproximadamente 1 mês. De acordo com o tutor, o cão vivia no quintal e alimentava-se de comida caseira. Ao exame físico foi observado escore corporal baixo e na palpação havia um aumento de volume na porção média do abdômen em topografia de intestino delgado. Exames de hemograma e bioquímico com avaliação renal e hepática não apresentaram alterações.

A ultrassonografia modo B demonstrou aumento de espessura da parede do intestino, com aspecto de massa, que envolvia as camadas intestinais, variando de 1,53 cm a 4,33 cm de espessura. O espessamento estendia-se entre o intestino delgado e grosso. Havia ainda segmentos em que a estratificação parietal não era completamente distinguível dentro da parede espessada, com obliteração do lúmen intestinal. O espessamento apresentava aparência uniformemente homogênea e hipoecoica (Figura 1A). A ultrassonografia modo color Doppler permitiu observar a vascularização, refletida por aumento no número de pixels coloridos dos vasos intestinais na parede espessada, indicava presença da irrigação sanguínea (Figura 1B). Os demais componentes da cavidade abdominal não demonstraram anormalidades ao exame. A partir desses achados, o animal foi encaminhado para a celiotomia exploratória.

Durante a abertura da cavidade abdominal foi visualizado o aumento de volume extraluminal que se estendia do duodeno ao jejuno, que resultou no estreitamento do lúmen intestinal (Figura 1C). Realizou-se uma incisão em um segmento intestinal, que evidenciou espessamento das camadas (Figura 1D) e trajetos necróticos amarelados, em meio ao tecido fibroso. Foi realizada análise citológica dessa área, com a observação de eosinófilos, macrófagos e neutrófilos, sugerindo o diagnóstico de pitiose ou granuloma eosinofílico. Devido à extensão da lesão, optou-se pela realização da eutanásia, seguido de necropsia.

Na necropsia foi observado conteúdo sangüinolento no lúmen intestinal, vasos do intestino delgado e estômago ingurgitados. O intestino delgado exibia uma lesão de espessamento da parede com aderências desde o final do duodeno até o terço médio do jejuno (Figura 2A, B & C). Havia uma obliteração do lúmen intestinal e a presença de uma massa de grande volume medindo 8 cm de diâmetro na serosa do jejuno. Optou-se por uma avaliação citológica, que revelou raras hifas uniformes, lineares, alongadas, ramificadas e pouco septadas, de permeio à inflamação piogranulomatosa e eosinofílica. A amostra foi fixada em formol a 10% e processada rotineiramente, emblocada em parafina e confeccionadas lâminas histológicas, coradas pelas técnicas de hematoxilina e eosina (HE) e metenamina-nitrato de prata de Grocott (GMS).

Histologicamente foram observadas extensas áreas de necrose, circundadas por células gigantes

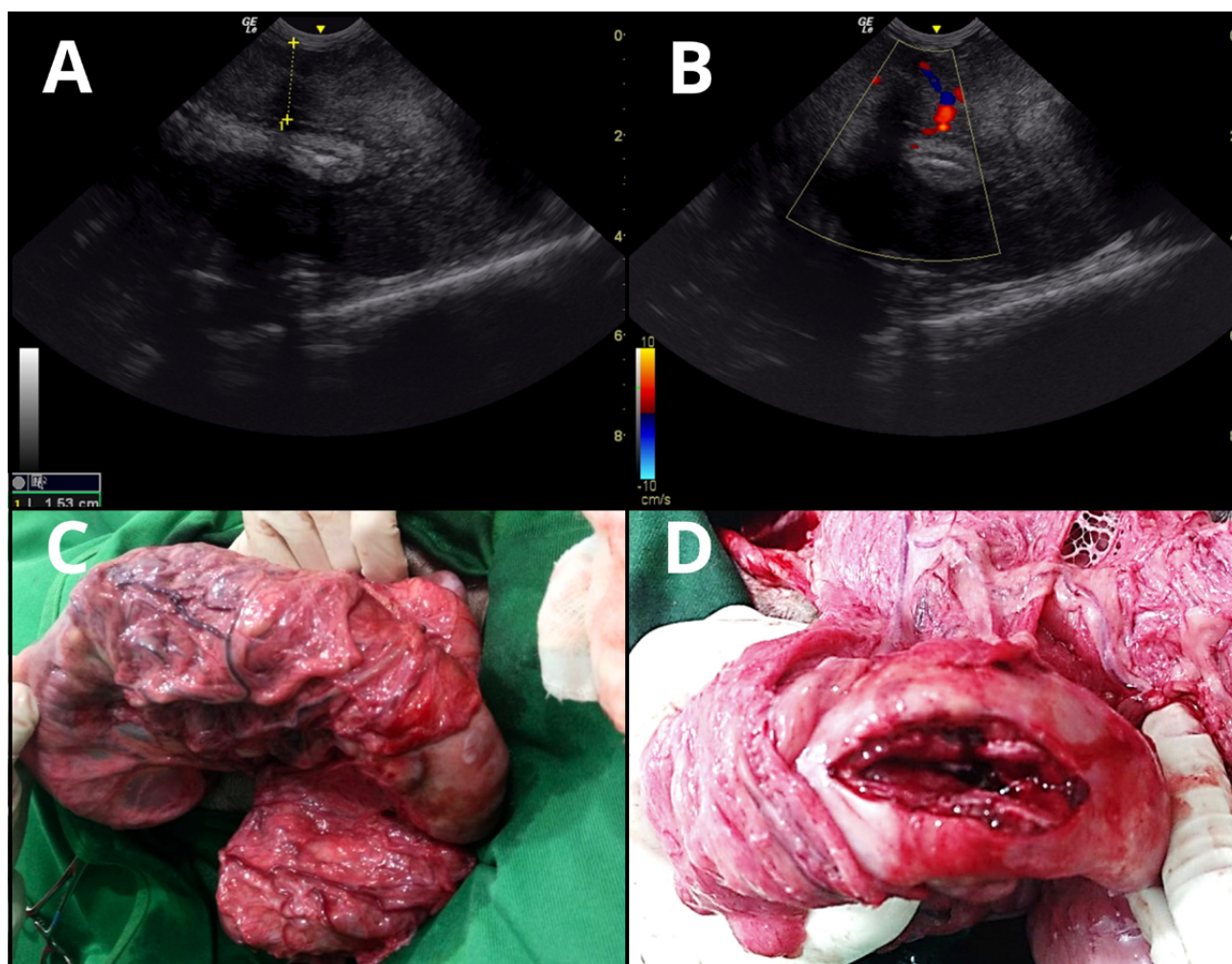


Figura 1. Avaliação ultrassonográfica e observação do intestino durante a celiotomia em canino acometido por pitiose intestinal. A- Imagem ultrassonográfica modo B demonstrando espessamento intestinal homogêneo e hipoecoico, com aspecto de massa, envolvendo as todas as camadas intestinais. B- Ultrassonografia modo color Doppler com presença de vascularização intensa, refletida por aumento no número de pixels coloridos dos vasos intestinais na parede espessada, indicando presença da irrigação sanguínea. C- Intensa hiperemia e congestão do mesentério e serosa intestinal observadas durante a celiotomia. D- Marcado espessamento das camadas da parede do jejuno ao corte.

multinucleadas, macrófagos, neutrófilos e muitos eosinófilos que se estendiam desde a mucosa até a serosa. Em meio à lesão havia imagens negativas de hifas, circundadas por inflamação eosinofílica a piogranulomatosa. As hifas foram positivas pelo GMS, sugerindo infecção por *Pythium insidiosum*.

Para a detecção por imuno-histoquímica (IHQ) de *Pythium insidiosum*, seções amostras de intestino foram cortadas a 3 µm em lâminas silanizadas, desparafinizadas e reidratadas. A peroxidase endógena foi bloqueada com peróxido de hidrogênio (3%). A recuperação antigênica foi em forno micro-ondas em TRIS-EDTA (pH 9,0)¹. O bloqueio das reações inespecíficas foi com bloqueador de proteína (EP-12-20532, EasyPath)², em temperatura ambiente (TA) por 10 min. As seções foram incubadas com o anticorpo primário anti-*Pythium insidiosum* (não comercial),

diluído 1:000 em PBST¹, por 1 h a 37°C. Um polímero-HRP (EasyLinkOne-HRP, EP-12-20502, EasyPath)² foi então utilizado (em TA por 30 min), seguido do substrato-cromógeno 3,3'-diaminobenzidina (DAB; EasyPath)². A contra-coloração foi com hematoxilina de Harris². Como controle positivo, foram utilizadas seções histológicas de caso confirmado de pitiose canina. Como controle negativo, as mesmas seções foram utilizadas, com substituição do anticorpo primário por PBST. Foi observada forte imunomarcação para *P. insidiosum*, confirmando o diagnóstico de pitiose intestinal (Figura 2D).

DISCUSSÃO

O diagnóstico definitivo de pitiose intestinal foi realizado através da avaliação histopatológica e imuno-histoquímica [7,14,20]. Entretanto, os exames

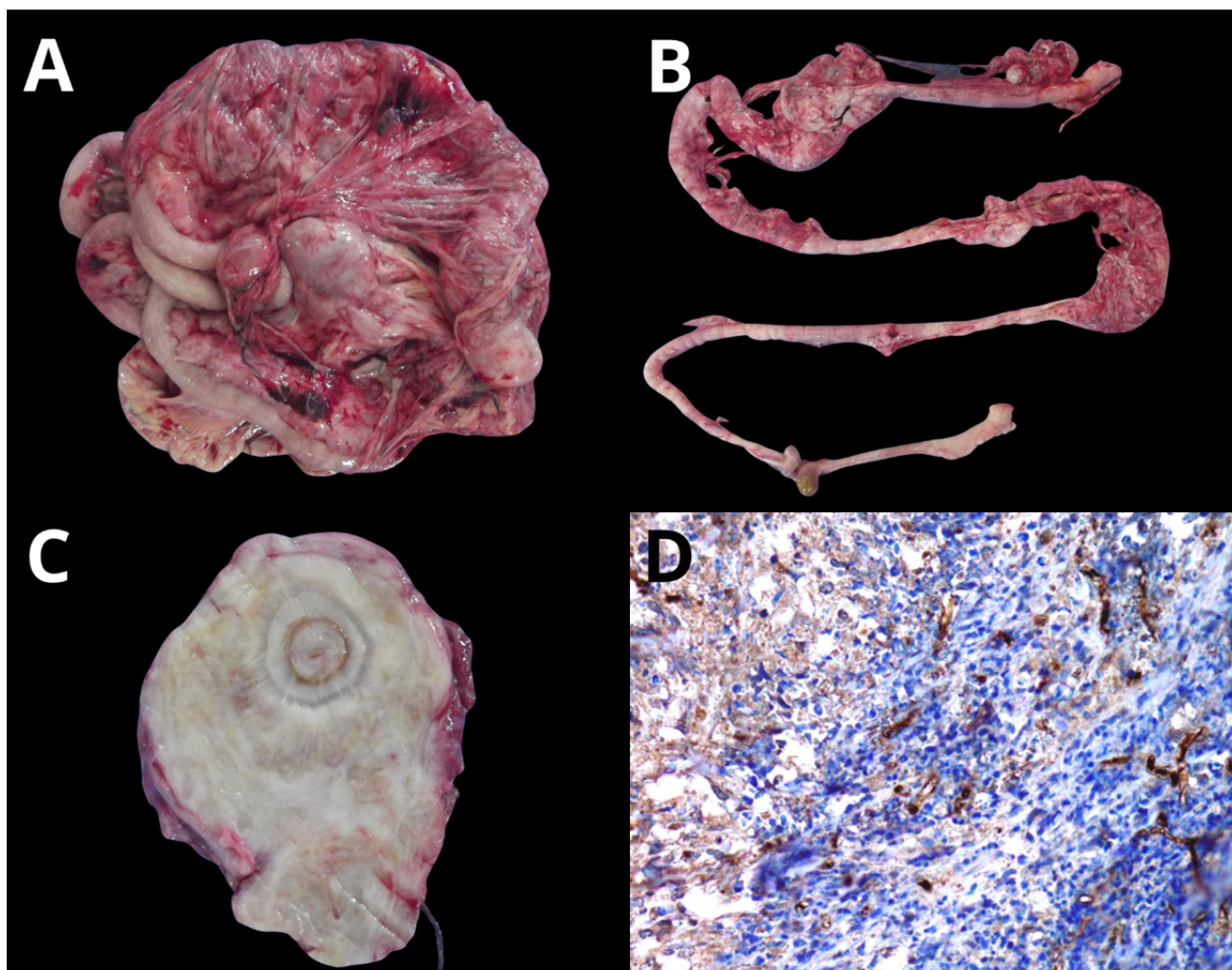


Figura 2. Achados de necropsia e imuno-histoquímicos em canino acometido por pitiose intestinal. A- As alças intestinais e mesentério apresentam extensas aderências. B- Múltiplas áreas de espessamento da parede dos intestinos delgados e do cólon. C- Marcado espessamento transmural da parede do jejuno que resulta na oclusão do lúmen intestinal. D- Forte imunomarcacão de hifas de *Pythium insidiosum* [Técnica da imuno-histoquímica, por polímero-HRP, contra-coloração com hematoxilina de Harris (Obj. 20x; Barra = 50 µm)].

ultrassonográficos e a realização da celiotomia exploratória associada à citologia transcirúrgica, possibilitaram antecipar as suspeitas diagnósticas e a determinação do prognóstico para o animal.

A pitiose canina é frequentemente observada em cães com menos de 3 anos de idade, machos, de raças de grande porte, semidomiciliados e com histórico de exposição a ambientes quentes e alagados [9,12,20]. Porém, o cão desse relato não tinha contato frequente com ambiente aquático favorável à infecção de acordo com o tutor. No entanto, de acordo com a literatura há uma percentagem significativa de casos que ocorrem em áreas suburbanas, sem histórico de exposição ao ambiente aquático [20].

Clinicamente o cão apresentava vômito, emagrecimento progressivo, inapetência e massa abdominal palpável, houve suspeita clínica de intussuscepção

ou neoplasia intestinal. Esses sinais clínicos inespecíficos são descritos na forma intestinal da pitiose [8]. A pitiose intestinal deve ser incluída nos diagnósticos diferenciais para casos com suspeitas de massas abdominal ou intussuscepção.

As alterações ultrassonográficas da pitiose neste caso foram inespecíficas e similares as alterações neoplásicas, quando comparadas as lesões inflamatórias, semelhante ao descrito em outros estudos [8]. Isso ocorre devido as doenças inflamatórias geralmente envolverem apenas o espessamento da parede intestinal e aumento dos linfonodos, diferentemente das neoplasias do intestino que são relatados como massas de ecogenicidade variável de espessamento da parede com aparência hipoeoica e obliteração de camadas, como observado no presente caso.

Através da avaliação do trato intestinal pela técnica de color Doppler, foram identificados sinais de intensa vascularização interna em alguns segmentos da parede espessada. Acredita-se que a vascularização aumentada seja resultado da angiogênese ocasionada pelo granuloma. No entanto, a técnica Doppler não identificou alterações vasculares compatíveis com trombose vascular, descritas na pitiose humana [18].

Macroscopicamente, neste relato não foi observado aumento de volume localizado na parede gástrica diferentemente do descrito em outros trabalhos [4,19]. Já foram descritas lesões segmentares em diferentes órgãos em um mesmo cão. No entanto, lesões gastrintestinais e mucocutâneas simultaneamente, são raramente encontradas em cães [12].

Em relação à análise citológica e histopatológica, os achados foram semelhantes a outros relatos [9,13,14]. Porém, as hifas são difíceis de serem visualizadas em seções de tecido coradas por HE, sendo frequentes em áreas de necrose e pouco visualizadas no centro de granulomas discretos [9]. Portanto, a

marcação com a coloração de GMS e a IHQ foram fundamentais para a visualização das hifas.

Entre todos os exames utilizados para a identificação da pitiose, o diagnóstico confirmatório foi realizado pelo exame de IHQ, pois esta técnica identifica características moleculares desse agente [5,6,9,10,12,19]. Além disso, a IHQ permite a exclusão de micoses que também podem apresentar hifas em meio às lesões [1].

O diagnóstico de pitiose intestinal canina deve ser baseado nos aspectos epidemiológicos, clínicos, histopatológicos e confirmado pela imuno-histoquímica. Recomenda-se realização da ultrassonografia abdominal associada ao modo color Doppler, pois permite incluir a pitiose como diagnóstico diferencial.

MANUFACTURERS

¹Merck KGaA. Darmstadt, Germany.

²Grupo Erviegas. Indaiatuba, SP, Brazil.

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

REFERENCES

- 1 **Alves R.C., Soares, Y.G.S., Costa D.F.L., Firmino M.O., Brito Jr. J.R.C., Souza A. P., Galiza G.J.N. & Dantas A.F.M. 2023.** Fungal diseases in dogs and cats in Northeastern Brazil. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 43: e07169. DOI: 10.1186/1471-2164-10-170
- 2 **Azevedo M.I., Pereira D.I.B., Botton S.A., Costas M.M., Mahl C.D., Alves S.H & Santurio J.M. 2012.** *Pythium insidiosum*: Morphological and molecular identification of Brazilian isolates. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 32(7): 619-622. DOI: 10.1590/S0100-736X2012000700005
- 3 **Barbosa J.D., Oliveira H.G.S., Bosco S.M.G., Silveira N.S.S., Barbosa C.C., Brito M.F., Oliveira C.M.C. & Salvarani F.M. 2023.** Cutaneous pythiosis in equines in the Amazon Biome. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 43: e07167. DOI: 10.1590/1678-5150-PVB-7167
- 4 **Berryessa N.A., Marks S.L., Pesavento P.A., Krasnansky T., Yoshimoto S.K., Johnson E.G. & Grooters A.M. 2008.** Gastrointestinal Pythiosis in 10 Dogs from California. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 22:1065-1069. DOI: 10.1111/j.1939-1676.2008.0123.x
- 5 **Firmino M.O., Frade M.T.S., Alves R.C., Maia L.Â., Olinda R.G., Ximenes R.G., Souza A.P. & Dantas A.F.M. 2017.** Intestinal intussusception secondary to enteritis caused by *Pythium insidiosum* in a bitch: case report. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 69(3): 623-626. DOI: 10.1590/1678-4162-9107
- 6 **Gaastera W., Lipman L.J.A., De Cock A.W.M., Exel T.K., Pegge R.B.G., Scheurwater J., Vilela R. & Mendoza L. 2010.** *Pythium insidiosum*: An overview. *Veterinary Microbiology*. 146: 1-16. DOI: 10.1016/j.vetmic.2010.07.019
- 7 **Galiza G.J.N., Silva T.M., Caprioli R.A., Barros C.S.L., Irigoyen L.F., Figuera R.A., Lovato M. & Kommers G.D. 2014.** Ocorrência de micoses e pitiose em animais domésticos: 230 casos. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 34(3): 224-232. DOI: 10.1590/S0100-736X2014000300005
- 8 **Grahamm J.P., Newell S.M., Roberts G.D. & Lester N.V. 2000.** Ultrasonographic features of canine gastrointestinal pythiosis. *Veterinary Radiology & Ultrasound*. 41(3): 273-277. DOI: 10.1111/j.1740-8261.2000.tb01490.x
- 9 **Hunning P.S., Rigon G., Faraco C.S., Pavarini S.P., Sampaio D., Beheregaray W. & Driemeier D. 2010.** Obstrução intestinal por *Pythium insidiosum* em um cão: relato de caso. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 62(4): 801-805. DOI: 10.1590/S0102-09352010000400006

- 10 Leal A.T., Leal A.B.M., Flores E.F. & Santurio J.M. 2001. Pitiose. *Ciência Rural*. 31(4): 735-743. DOI: 10.1590/S0103-84782001000400029
- 11 Macêdo L.B., Oliveira I.V.P.M., Pimentel M.M.L., Reis P.F.C.C., Macedo M.F. & Filgueira K.D. 2014. Primary description of pythiosis in autochthonous canine from the city of Mossoró, Rio Grande do Norte, Brazil. *Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal*. 8(4): 88-109. DOI: 10.5935/1981-2965.20140136
- 12 Macêdo L.B., Pimentel M.M.L., Reis P.F.C.C., Oliveira I.V.P.M., Macedo M.F. & Filgueira K.D. 2015. Pitiose canina: uma doença despercebida na clínica de pequenos animais. *Acta Veterinaria Brasileira*. 9(1):1-11.
- 13 Martins T.B., Kommers G.D., Trost M.E., Inkelmann M.A., Figuera R.A. & Schild A.L. 2012. A Comparative Study of the Histopathology and Immunohistochemistry of Pythiosis in Horses, Dogs and Cattle. *Journal of Comparative Pathology*. 146: 122-131. DOI: 10.1016/j.jcpa.2011.06.006
- 14 Salas Y.J., Márquez A.A., Corro A.C. & Colmenárez V. 2009. Caracterización Macroscópica y Microscópica de la Pythiosis Gastrointestinal de Perros en Venezuela. *Revista de la Facultad de Ciencias Veterinarias*. 50(1): 23-31.
- 15 Santos C.E.P., Loreto E.S., Zanette R.A., Bortolini J., Santurio J.M. & Marques L.C. 2024. Anti-*Pythium insidiosum* intradermal immunotherapy in horses: diagnosis and therapy. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 44: e07370. DOI: 10.1590/1678-5150-PVB-7212
- 16 Silva L.O.P.D., Santos M.C.S., Pina B.F., Souza G.N. & Ferreira M.D.L.G. 2023. B-mode and Doppler ultrasound of bitches' kidneys with mammary neoplasia submitted to adjuvant chemotherapy. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 43: e07212. DOI: 10.1590/1678-5150-PVB-7212
- 17 Santurio J.M., Alves S.H., Pereira D.B. & Argenta J.S. 2006. Pitiose: uma micose emergente. *Acta Scientiae Veterinariae*. 34(1): 1-14. DOI: 10.1590/1678-5150-PVB-7370
- 18 Sermsathanasawadi N., Praditsuktavorn B., Hongku K., Wongwanit C., Chinsakchai K., Ruangsetakit C., Hahtapornsawan S. & Mutirangura P. 2016. Outcomes and factors influencing prognosis in patients with vascular pythiosis. *Journal of Vascular Surgery*. 64(2): 411-417. DOI: 10.1016/j.avsg.2014.04.020
- 19 Trost M.E., Gabriel A.L., Masuda E.K., Figuera R.A., Irigoyen L.F. & Kommers G.D. 2009. Aspectos clínicos, morfológicos e imuno-histoquímicos da pitiose gastrintestinal canina. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 29(8): 673-679. DOI: 10.1590/S0100-736X2009000800012
- 20 Venancio F.R., Alberti T.S., Engelmann T.M., Sallis E.S.V. & Schild A.L. 2024. Cutaneous diseases diagnosed in cattle in southern Brazil from 2000 to 2022. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 44: e07458. DOI: 10.1590/1678-5150-PVB-7458