

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

KAYLANE VITÓRIA NASCIMENTO FERREIRA DE LIMA

**ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DE *Pythium insidiosum* EM EQUINOS NA
BAIXADA MARANHENSE**

São Luís
2026

KAYLANE VITÓRIA NASCIMENTO FERREIRA DE LIMA

**ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DE *Pythium insidiosum* EM
EQUINOS NA BAIXADA MARANHENSE**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
ao Curso de Medicina Veterinária da
Universidade Estadual do Maranhão para a
obtenção do grau de Bacharel em Medicina
Veterinária.

Orientador: Prof^a. Dr^a. Larissa Sarmiento dos
Santos Ribeiro.

De Lima, Kaylane Vitória Nascimento Ferreira.

Isolamento e identificação de *Pythium Insidiosum* em equinos na Baixada Maranhense / Kaylane Vitória Nascimento Ferreira de Lima. – São Luís, MA, 2026.

43. fl

Monografia (Graduação) – Curso de Medicina Veterinária, Universidade Estadual do Maranhão, 2026.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Larissa Sarmento dos Santos Ribeiro.

1. Pitiose. 2. Cavalo. 3. *Kunkers*. I. Título.

CDU: 619:636.1(812.1)

KAYLANE VITÓRIA NASCIMENTO FERREIRA DE LIMA

**ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DE *Pythium insidiosum* EM
EQUINOS NA BAIXADA MARANHENSE**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
ao Curso de Medicina Veterinária da
Universidade Estadual do Maranhão para a
obtenção do grau de Bacharel em Medicina
Veterinária.

Aprovado em: 01 / 07 / 2026

BANCA EXAMINADORA

Documento assinado digitalmente
 **LARISSA SARMENTO DOS SANTOS RIBEIRO**
Data: 09/07/2026 09:51:28-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Profa. Dra. Larissa Sarmento dos Santos Ribeiro (Orientadora)
Doutora em Biodiversidade e Biotecnologia
Universidade Estadual do Maranhão

Documento assinado digitalmente
 **DANIEL PRASERES CHAVES**
Data: 09/07/2026 09:56:09-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Prof. Dr. Daniel Praseres Chaves (1º Membro)
Doutor em Patologia clínica
Universidade Estadual do Maranhão

Documento assinado digitalmente
 **MIGUEL FELIX DE SOUZA NETO**
Data: 09/07/2026 10:13:43-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Prof. Me. Miguel Felix de Souza Neto (2º Membro)
Mestre em Ciência Animal
Centro Universitário Uninassau

Dedico esta monografia aos meus pais, José Ferreira de Lima e Lucinalva do Nascimento Costa, que foram e sempre serão a razão da minha força e coragem, sendo o meu maior alicerce nos momentos de incerteza e minha força nos momentos mais difíceis. Com amor, dedicação e renúncias silenciosas, sempre acreditaram nos meus sonhos antes mesmo que eu tivesse coragem de acreditar, e se hoje concluo essa etapa tão importante da minha vida, é porque nunca caminhei sozinha, esta conquista é acima de tudo, de vocês

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por me conceder força, sabedoria e perseverança para superar cada desafio encontrado ao longo desta jornada. Em todos os momentos de dúvida, cansaço e incerteza, foi a fé que me permitiu continuar caminhando e acreditar que este sonho seria possível.

Aos meus pais, José Ferreira de Lima e Lucinalva Nascimento Costa, e ao meu irmão Kayhellison Nascimento, que sempre estiveram ao meu lado oferecendo amor, apoio e incentivo incondicionais. Obrigada por compreenderem minhas ausências, por acreditarem em mim mesmo quando eu duvidei das minhas capacidades e por celebrarem cada conquista como se fosse de vocês. Esta vitória também pertence a vocês que contribuíram para minha formação humana e profissional.

À minha avó, Maria Conceição Nascimento, que esteve presente em cada etapa da minha trajetória, oferecendo amor, cuidado, apoio e palavras de incentivo nos momentos mais difíceis. Sua presença constante, sua força e seu carinho foram fundamentais para que eu chegasse até aqui. Esta conquista também é sua, pois carrega um pouco de tudo aquilo que me ensinou e de todo o amor que sempre dedicou a mim.

Ao meu namorado, Adriano França, por caminhar ao meu lado durante esta jornada, oferecendo apoio, compreensão e incentivo em todos os momentos. Obrigada pela paciência nos dias mais difíceis, pelas palavras de encorajamento quando o cansaço parecia maior que a vontade de continuar e por acreditar em mim. Sua presença tornou esta caminhada mais leve, e seu companheirismo foi fundamental para que eu chegasse até aqui. Compartilho esta conquista com você, que fez parte de cada etapa desse sonho. Te amo.

Às minhas amigas, Lara Susan e Isadora, por compartilharem comigo risadas, lágrimas, aprendizados e sonhos. Vocês tornaram essa caminhada mais leve, mais divertida e inesquecível. Aos demais amigos, mesmo aqueles com quem hoje não tenho tanta proximidade, agradeço pelas experiências, pelas lembranças e pelos momentos que contribuíram, de alguma forma, para a pessoa que me tornei. A convivência, o companheirismo e as experiências vividas tornaram esta caminhada incrível.

A Iskay e a Stacie, meus amigos de quatro patas, minha gratidão é infinita. Vocês estiveram comigo todos os dias, nas horas de estudo, nas noites longas e até nos momentos de cansaço, oferecendo alegria, companhia e amor incondicional. Cada lambida, cada olhar carinhoso me lembrava que não estava sozinha, que a vida também se constrói com pequenas alegrias e que a presença de quem nos ama faz toda a diferença.

Aos professores que fizeram parte da minha formação acadêmica, por todos os ensinamentos transmitidos, pela dedicação à profissão e pelo compromisso com a educação. Cada orientação, conselho e experiência compartilhada contribuíram para a construção da profissional que estou me tornando.

À minha orientadora, Larissa Sarmento, meu sincero agradecimento pela paciência, atenção e dedicação ao longo de todo este trabalho. Seu incentivo, orientação e confiança em mim foram fundamentais para que eu pudesse transformar ideias em um trabalho significativo e consistente, e seu exemplo será sempre inspiração em minha trajetória profissional.

A todos os profissionais, médicos-veterinários, residentes, técnicos e funcionários que participaram da minha formação prática, compartilhando conhecimentos e experiências que ultrapassam os livros e as salas de aula. Em especial, aos veterinários Miguel Félix e Roberta Castro, pela inspiração, pelos ensinamentos e por demonstrarem, através de suas condutas, o compromisso com a Medicina Veterinária e o cuidado com os animais. O exemplo de vocês foi fundamental para fortalecer meu propósito nesta profissão.

Aos animais, que foram e sempre serão a razão da minha escolha profissional. Cada paciente que tive o prazer de acompanhar e conhecer ao longo da graduação contribuiu para meu crescimento técnico, científico e humano, reforçando diariamente meu compromisso com a Medicina Veterinária.

Por fim, agradeço a mim mesma, por não desistir diante das dificuldades, pelos esforços realizados ao longo de todos esses anos e pela coragem de continuar seguindo em frente, mesmo quando o caminho parecia difícil. Concluir esta etapa representa não apenas uma conquista acadêmica, mas a concretização de um sonho construído com dedicação, persistência e amor pela profissão.

A todos que, de alguma forma, fizeram parte desta trajetória, meu mais sincero agradecimento. Este trabalho não é apenas meu, é de todos que caminharam

comigo, me apoiaram e me motivaram a seguir, e é com imensa emoção que dedico esta conquista a cada um que fez parte desta história.

Nossa maior glória não está em nunca cair,
mas em nos levantarmos toda vez que
caímos.

Confucius

RESUMO

A pitiose é uma doença granulomatosa que afeta principalmente o tecido cutâneo e subcutâneo em animais domésticos, selvagens e humanos. O presente trabalho teve como objetivo determinar a ocorrência da infecção por *Pythium insidiosum* em equinos, utilizando cultivo fúngico, isolamento e identificação fenotípica em equinos da Baixada Maranhense – MA e municípios próximos. Foram coletadas amostras de 23 equinos que apresentavam sinais clínicos característicos de pitiose oriundos dos seguintes municípios: Arari, Pedro do Rosário, Penalva, Pinheiro, São João Batista, São Vicente e Viana, além da realização das coletas em municípios próximos: Itapecuru-Mirim e Matões do Norte. Os animais apresentavam lesões ulcerativas de aspecto granulomatoso, com secreção serossanguinolenta e presença de pequenos grânulos firmes de coloração amarelada, conhecidos como *kunkers*. O material foi obtido por meio de biópsia tecidual ou fragmentos de *kunkers*, armazenado em coletores universais estéreis com tampas contendo solução salina 0,9% e transportado sob refrigeração para o Laboratório de Micologia da UEMA. As amostras foram lavadas com antibiótico e solução salina 0,9% e inoculadas em Ágar Extrato de Levedura, e posteriormente incubadas a 37°C em estufa por dois a cinco dias. Após o período de incubação, 7 amostras apresentavam colônias com aspecto membranoso, textura suave e ligeiramente viscosa, exibindo uma coloração creme uniforme. Possuía crescimento rápido, cobrindo a superfície do meio de cultura com um desenvolvimento micelial robusto e bem definido, formando bordas levemente irregulares e de margens elevadas. Microscopicamente, as colônias revelaram hifas hialinas, asseptadas ou pouco septadas que possuíam largo diâmetro, esparsamente separadas com ramificações em ângulo agudo, irregulares e que se destacavam pela ausência de divisões transversais, uma característica típica de certos organismos patogênicos como o *P. insidiosum*. Esses resultados destacam a importância do diagnóstico precoce e preciso para o controle da pitiose, uma doença de impacto significativo na saúde animal, especialmente em regiões endêmicas como a Baixada Maranhense. A identificação e isolamento do agente patogênico em equinos reforçam a necessidade de vigilância contínua e de estratégias de manejo que possam mitigar os efeitos dessa enfermidade nos animais afetados.

Palavras-chave: pitiose, cavalo, *kunkers*.

ABSTRACT

Pythiosis is a granulomatous disease that primarily affects the cutaneous and subcutaneous tissues in domestic animals, wildlife, and humans. The present study aimed to determine the occurrence of *Pythium insidiosum* infection in horses, using fungal culture, isolation, and phenotypic identification in horses from the Baixada Maranhense region – MA and neighboring municipalities. Samples were collected from 23 horses showing clinical signs characteristic of pythiosis from the following municipalities in the Baixada Maranhense: Arari, Pedro do Rosário, Penalva, Pinheiro, São João Batista, São Vicente, and Viana, in addition to collections in nearby municipalities: Itapecuru-Mirim and Matões do Norte. The animals presented ulcerative lesions with a granulomatous appearance, serosanguineous exudate, and the presence of small firm yellowish granules known as kunkers. Material was obtained through tissue biopsy or fragments of kunkers, stored in sterile universal collectors with caps containing 0.9% saline solution, and transported under refrigeration to the Mycology Laboratory of UEMA. The samples were washed with antibiotic and 0.9% saline solution and inoculated onto Yeast Extract Agar, then incubated at 37°C in an oven for two to five days. After the incubation period, seven samples presented colonies with a membranous appearance, smooth and slightly viscous texture, exhibiting a uniform cream coloration. The colonies displayed rapid growth, covering the surface of the culture medium with robust and well-defined mycelial development, forming slightly irregular and raised edges. Microscopically, the colonies revealed hyaline, aseptate or sparsely septate hyphae with a large diameter, sparsely separated, with branching at acute angles, irregular, and distinguished by the absence of transverse divisions—a typical characteristic of certain pathogenic organisms such as *P. insidiosum*. These results highlight the importance of early and accurate diagnosis for controlling pythiosis, a disease with a significant impact on animal health, especially in endemic regions such as the Baixada Maranhense. The identification and isolation of the pathogen in horses reinforce the need for continuous surveillance and management strategies that can mitigate the effects of this disease in affected animals.

Keywords: pythiosis, horse, kunkers.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Distribuição mundial de ocorrências do quadro de pitiose equina	19
Figura 2 - Mapa da localização da microrregião da Baixada Maranhense	20
Figura 3 - Equino com acesso livre a áreas alagadas	21
Figura 4 - Ciclo biológico do <i>P. insidiosum</i>	22
Figura 5 - Características e localização das lesões características de pitiose em equinos; a. Lesão na região de membro pélvico; b. Lesão na região abdominal	23
Figura 6 - Processo do quadro clínico de Pitiose	24
Figura 7 - Colônias de <i>P. insidiosum</i> em meio Sabouraud	26
Figura 8 - Hifas cenocíticas de <i>P. insidiosum</i>	26
Figura 9 - Arte de divulgação do projeto para diagnóstico da pitiose equina por meio do Instagram	29
Figura 10 - a, b e c. Amostras de fragmentos característicos de <i>kunkers</i> de equinos com lesões sugestivas de pitiose oriundos da Baixada Maranhense	30
Figura 11 - Esquema ilustrando processo de coleta de <i>kunkers</i> em equinos com lesões sugestivas de pitiose e a subsequente inoculação em Ágar Extrato de Levedura para isolamento e identificação do agente etiológico	31
Figura 12 - Esquema ilustrando o processo de preparação de lâminas para avaliação microscópica de colônias de <i>Pythium insidiosum</i>	31
Figura 13 - A. Lesão granulomatosa característica de pitiose no membro anterior esquerdo de equino do município de Arari - MA; B. Equino com acesso à áreas alagadas no município de Pinheiro - MA; C. Modo de criação no manejo extensivo no município de Pinheiro – MA	33
Figura 14 - Localização das lesões características de pitiose em equinos. a. Lesão na região de membro torácico; b. Lesão com aspecto inflamatório no membro locomotor; c. Lesão na região do prepúcio; d. Lesão na região de membro torácico; e. Lesão na região de membro pélvico; f. Lesão na região abdominal; g. Lesão na região abdominal se apresentando de forma serossanguinolenta; h. Lesão na região da mucosa nasal; i. Lesão na região ventral; j. Lesão na região glútea com presença de <i>kunkers</i> ; k. Lesão na região de membro torácico com presença de <i>kunkers</i> ; l. Lesão na região da face	35

Figura 15 - Cultura de <i>Pythium insidiosum</i> a partir de amostra de <i>kunker</i> obtida de equinos da Baixada Maranhense. A. Colônia após 2 dias de incubação a 37°C; B. Colônia obtida a partir de recultivo após 5 dias de incubação a 37°C	36
Figura 16 - Exame microscópico de <i>Pythium insidiosum</i> a. Hifas hialinas, asseptadas e espessas (objetiva de 10x) b. Hifas com ramificações em ângulo reto (objetiva de 40x); c. Hifa asseptada (objetiva de 100x); d. Hifas asseptadas com ramificações em ângulo reto (objetiva de 100x)	37

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	OBJETIVOS	17
2.1	Objetivo geral	17
2.2	Objetivos específicos	17
3	REVISÃO DE LITERATURA	17
3.1	Etiologia	17
3.2	Epidemiologia	18
3.3	Patogenia	21
3.4	Sinais clínicos	23
3.5	Diagnóstico	26
4	METODOLOGIA	28
4.1	Comitê de Ética	28
4.2	Área de estudo	28
4.3	Coleta de amostras	29
4.4	Cultura fúngica	31
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	32
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS	39
	REFERÊNCIAS	40

1 INTRODUÇÃO

A pitiose é uma enfermidade granulomatosa causada pelo oomiceto aquático *Pythium insidiosum*, organismo pertencente ao grupo dos Oomycetes, o agente etiológico é um microorganismo que pertence ao reino Stramenotopila, Filo Pseudofungi, Classe Oomycetes, Ordem Pythiales, Família Phytiacea e Gênero *Pythium* (Leal *et al.*, 2001)

Considerada uma importante enfermidade infecciosa de ocorrência mundial, a doença acomete diversas espécies animais, incluindo equinos, caninos e bovinos, além de seres humanos, sendo mais frequentemente observada em regiões tropicais e subtropicais, onde as condições ambientais favorecem o desenvolvimento e a disseminação do agente (Gaastra *et al.*, 2010; Bezerra *et al.*, 2020; Souto *et al.*, 2022).

A transmissão da pitiose está diretamente relacionada à presença de ambientes aquáticos ou alagados, nos quais *P. insidiosum* produz zoósporos biflagelados, considerados sua principal forma infectante. Em condições favoráveis de temperatura e umidade, os esporângios liberam zoósporos móveis capazes de alcançar tecidos lesionados do hospedeiro. Após o contato, essas estruturas encistam-se, germinam e originam hifas através do tubo germinativo, responsáveis pela secreção de enzimas que contribuem para a invasão mais profunda do patógeno (Megid *et al.*, 2016).

Em equinos, as lesões localizam-se principalmente nos tecidos cutâneos e subcutâneos, especialmente em regiões corporais que permanecem em contato frequente com ambientes úmidos, como as extremidades distais dos membros e a região ventral do abdômen (Leal *et al.*, 2001). Clinicamente, a doença caracteriza-se pela formação de lesões ulcerativas de rápida evolução, associadas à intensa resposta inflamatória, exsudação serossanguinolenta, prurido de intensidade variável e presença de kunkers, estruturas necróticas consideradas características da pitiose equina (Santurio *et al.*, 2016; Lemos *et al.*, 2018).

O diagnóstico da pitiose pode ser realizado por diferentes métodos, incluindo avaliação clínica, histopatologia, exames sorológicos, técnicas moleculares e isolamento microbiológico. Entre essas abordagens, o isolamento do agente permanece como importante ferramenta para confirmação etiológica da enfermidade, permitindo sua caracterização fenotípica e subsidiando estudos epidemiológicos e

laboratoriais. Entretanto, o cultivo de *P. insidiosum* ainda representa um desafio, devido ao crescimento variável do agente, à frequente contaminação por microrganismos ambientais e à semelhança morfológica com fungos filamentosos, fatores que podem dificultar sua identificação (Taylor *et al.*, 2019).

A enfermidade possui relevante impacto econômico e sanitário, uma vez que o tratamento frequentemente é prolongado, oneroso e nem sempre apresenta resultados satisfatórios. Em casos avançados, pode ocorrer incapacitação temporária ou permanente dos animais, comprometendo seu desempenho e utilização nas atividades produtivas (Moraes *et al.*, 2017). Embora não seja considerada uma zoonose clássica, a pitiose também pode acometer seres humanos expostos aos mesmos ambientes contaminados, evidenciando sua importância sob a perspectiva da Saúde Única (Santurio *et al.*, 2016).

Entre as regiões brasileiras que apresentam condições favoráveis à ocorrência da pitiose, destaca-se a Baixada Maranhense, uma extensa planície de inundação localizada no norte do estado do Maranhão, caracterizada pela presença de campos alagáveis, lagos, rios e áreas periodicamente inundadas durante a estação chuvosa. Essas condições ambientais resultam em elevada umidade e intenso contato dos animais com coleções hídricas naturais, criando um ambiente favorável à manutenção e disseminação de agentes aquáticos, incluindo *Pythium insidiosum*. Nessa região, os equinos desempenham importante função nas atividades agropecuárias da região, sendo amplamente utilizados para transporte, manejo de rebanhos e deslocamento entre propriedades rurais, especialmente em áreas de difícil acesso durante os períodos de inundação (Vieira *et al.*, 2015).

Apesar das características ambientais favoráveis à ocorrência da enfermidade e da importância dos equinos para a dinâmica socioeconômica regional, ainda são escassas as informações relacionadas ao isolamento e à identificação de *Pythium insidiosum* na Baixada Maranhense. A limitada disponibilidade de dados laboratoriais dificulta a compreensão da distribuição da pitiose na região e pode contribuir para subdiagnósticos ou diagnósticos equivocados, especialmente diante da semelhança clínica com outras afecções cutâneas que acometem equinos. Dessa forma, estudos voltados ao isolamento e à identificação do agente são fundamentais para ampliar o conhecimento sobre a enfermidade, contribuindo para o aprimoramento do diagnóstico, da vigilância epidemiológica e das estratégias de prevenção e controle da pitiose equina na Baixada Maranhense.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

- Isolar e identificar *Pythium insidiosum* em equinos com lesões sugestivas de pitiose na Baixada Maranhense – MA e municípios adjacentes.

2.2 Objetivos específicos

- a) Realizar o isolamento de *P. insidiosum* a partir de amostras coletadas de equinos com lesões sugestivas de pitiose;
- b) Identificar fenotipicamente os isolados obtidos por meio das características macro e micromorfológicas;
- c) Determinar a frequência de isolamento de *P. insidiosum* nas amostras analisadas.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Etiologia

A pitiose é uma enfermidade infecciosa causada por *Pythium insidiosum*, microrganismo inicialmente descrito como pseudo-fungo em razão de suas semelhanças morfológicas com fungos filamentosos (Megid *et al.*, 2016). Entretanto, análises filogenéticas baseadas em biologia molecular demonstraram que o agente pertence ao filo Oomycota, sendo atualmente classificado como um oomiceto aquático inserido no reino Straminipila, Filo Oomycota, Classe Oomycetes, Ordem Pythiales e Família Pythiaceae, sendo, portanto, evolutivamente distinto dos fungos verdadeiros.

Os oomicetos diferenciam-se estrutural e bioquimicamente dos fungos verdadeiros (Quadro 1). A parede celular de *P. insidiosum* é composta predominantemente por celulose e β -glucanos, enquanto nos fungos a quitina constitui o principal componente estrutural. Ademais, a membrana plasmática dos oomicetos não apresenta ergosterol (Bosco *et al.*, 2016), substância característica dos fungos e

alvo de diversos agentes antifúngicos, particularidade que possui relevância terapêutica e diagnóstica (Cardona *et al.*, 2013).

Do ponto de vista morfológico, *P. insidiosum* caracteriza-se pela formação de hifas largas, hialinas e asseptadas ou paucisseptadas, também denominadas cenocíticas, observáveis em exames histopatológicos e em cultivo microbiológico. Trata-se de um microrganismo eucariótico filamentoso capaz de produzir estruturas reprodutivas típicas dos oomicetos, como esporângios e zoósporos biflagelados, elementos fundamentais para sua identificação taxonômica e laboratorial (Riet-Correa *et al.*, 2008).

Quadro 1 - Principais diferenças estruturais entre Oomicetos e Fungos verdadeiros

Estrutura	Oomicetos aquáticos	Fungos
Parede Celular	Celulose e glucanos	Quitina
Esporos com flagelos	Sim	Não
Septos	Ausentes	Presentes
Plodia	Diploides	Haploides

Fonte: Adaptado de Santurio (2006)

A correta compreensão da natureza taxonômica e das particularidades estruturais de *P. insidiosum* é essencial para diferenciar a pitiose das micoses verdadeiras, bem como para orientar abordagens diagnósticas adequadas.

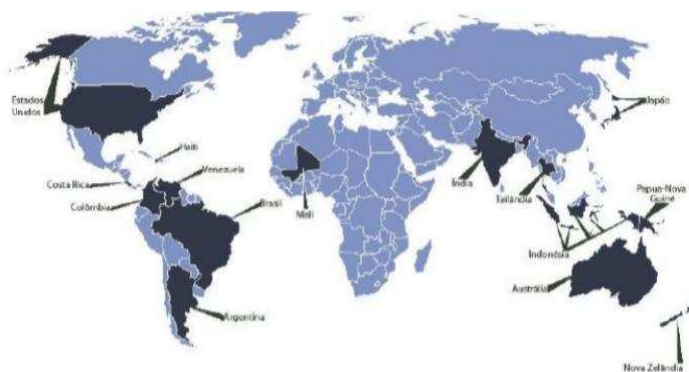
3.2 Epidemiologia

A pitiose apresenta distribuição mundial, com maior prevalência em regiões tropicais e subtropicais, onde temperaturas elevadas e alta umidade relativa do ar favorecem a sobrevivência e multiplicação de *Pythium insidiosum* em ecossistemas aquáticos (Santurio *et al.*, 2006).

Nessas áreas, a combinação entre clima quente e disponibilidade hídrica permanente cria condições ideais para a formação e liberação de zoósporos biflagelados, principais formas infectantes do oomiceto. Existem registros de sua

ocorrência na região da Costa do Golfo dos Estados Unidos, alguns países da América do Sul e na Austrália (Reed; Bayly, 2000). De forma complementar, Almeida (2010) afirma que também há relatos de ocorrência na Costa Rica, Haiti, Índia, Indonésia, Japão, Mali, Nova Zelândia, Papua - Nova Guiné e Tailândia (Figura 1).

Figura 1 - Distribuição mundial de ocorrências do quadro de pitiose equina



Fonte: Almeida (2010)

No Brasil, a enfermidade é considerada endêmica em diferentes regiões, com maior número de relatos nas regiões Sul, Centro-Oeste, Norte e Nordeste, destacando-se estados como Rio Grande do Sul, Mato Grosso, Pará e Maranhão, onde fatores climáticos, hidrológicos e de manejo favorecem a manutenção do agente no ambiente (Cardona *et al.*, 2013). A ocorrência da doença está intimamente relacionada à presença de coleções hídricas naturais ou artificiais, como açudes, lagoas, brejos e áreas de várzea, especialmente quando há acúmulo de matéria orgânica em decomposição, substrato que favorece o desenvolvimento do oomiceto.

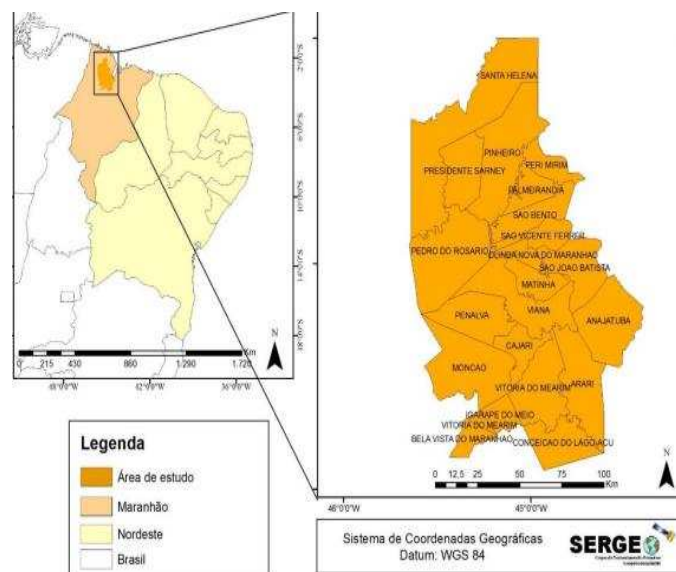
No território brasileiro, observa-se padrão sazonal bem definido, com aumento significativo do número de casos durante e após o período chuvoso (D'utra Vaz *et al.*, 2009). A elevação do índice pluviométrico promove a formação de áreas temporariamente alagadas, ampliando o contato dos equinos com ambientes potencialmente contaminados e, conseqüentemente, aumentando o risco de infecção. Esse comportamento sazonal reforça a influência determinante dos fatores ambientais na dinâmica epidemiológica da enfermidade.

Os equinos representam a principal espécie doméstica acometida no país, sobretudo aqueles mantidos em sistema extensivo, nos quais o acesso irrestrito a áreas alagadiças é frequente (Riet-Correa *et al.*, 2008). A exposição prolongada à água contaminada, associada à ocorrência de microtraumas cutâneos, comuns em

animais criados a campo, constitui importante porta de entrada para o agente. Dessa forma, a pitiose equina evidência claramente a interação entre agente, hospedeiro e ambiente, caracterizando-se como enfermidade de base ecológica.

No contexto regional, a Baixada Maranhense reúne condições ambientais altamente favoráveis à manutenção do ciclo epidemiológico de *P. insidiosum*. De acordo com dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (2022), a região apresenta clima tropical úmido, com temperaturas médias anuais elevadas e índices pluviométricos expressivos, além de extensas áreas sujeitas a inundações periódicas. Essa dinâmica hidrológica sazonal resulta na formação de ambientes aquáticos temporários e permanentes, favorecendo a persistência do agente no ecossistema. Ademais, a predominância do sistema extensivo de criação equina na região potencializa a exposição dos animais a áreas alagáveis, consolidando um cenário epidemiológico propício à ocorrência da enfermidade.

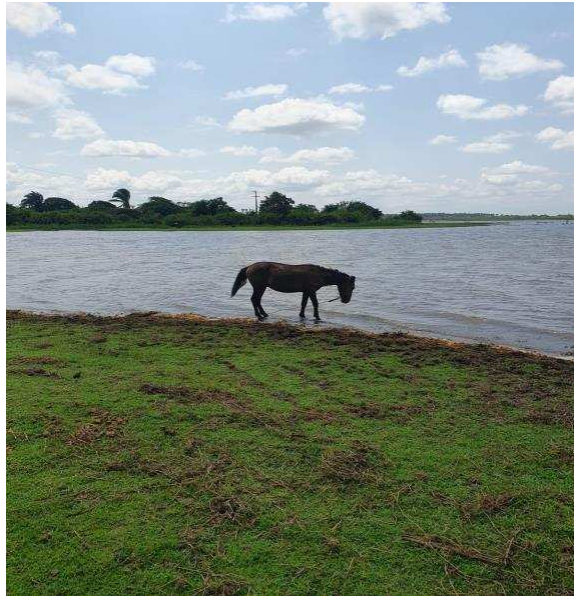
Figura 2 - Mapa da localização da microrregião da Baixada Maranhense



Fonte: Reativar Ambiental (2014)

Assim, a pitiose pode ser caracterizada como uma enfermidade emergente associada a ecossistemas alagáveis, cuja ocorrência depende da convergência entre condições climáticas favoráveis, presença do agente no ambiente e fatores de manejo que aumentam a exposição do hospedeiro (Figura 3).

Figura 3 - Equino com acesso livre a áreas alagadas.



Fonte: Elaborado pelo autor (2024)

Em regiões como a Baixada Maranhense, essa interação estabelece um perfil epidemiológico compatível com a manutenção endêmica da doença.

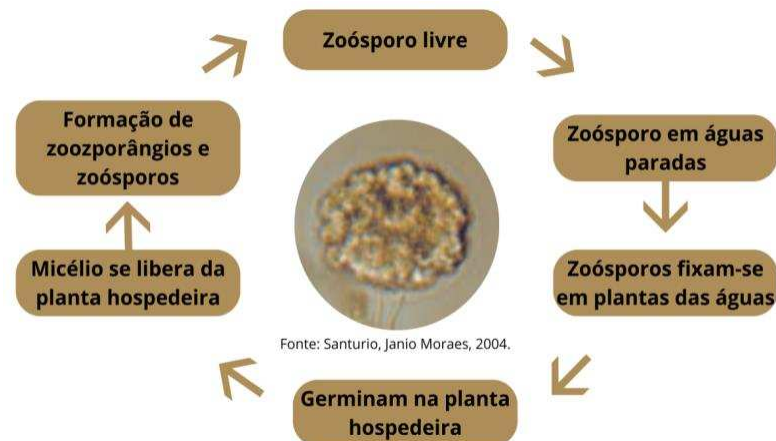
3.3 Patogenia

A patogenia da pitiose equina está intrinsecamente ligada ao ciclo biológico de *Pythium insidiosum* (figura 4), um oomiceto aquático que produz zoósporos biflagelados, caracterizados por sua capacidade de locomoção em ambientes hídricos e responsáveis pela infecção inicial (Mendonza *et al.*, 1990). Esses zoósporos são gerados nos esporângios quando condições ambientais favoráveis, como temperatura elevada, alta umidade e presença de matéria orgânica, promovem a reprodução assexuada do agente, facilitando a sua sobrevivência em ecossistemas lênticos ou água estagnada, características típicas de zonas alagadiças frequentes no Brasil (Mendonza *et al.*, 1988).

Quando um equino entra em contato com água contaminada, os zoósporos são atraídos quimiotaticamente para áreas de tecido lesionado ou microtraumas cutâneos, onde se aderem firmemente à superfície da pele. Neste ponto, eles perdem seus flagelos e passam por uma fase de encistamento, resultando em formação de cistos que dão origem a tubos germinativos, os quais se estendem e originam as hifas,

a forma invasiva do patógeno diretamente envolvida na invasão tecidual (Ravishankar *et al.*, 2001).

Figura 4 - Ciclo biológico do *P. insidiosum*



Fonte: Adaptado de Santurio e Ferreira (2008)

Esta capacidade suficiente de degradar tecidos não apenas contribui para a expansão da infecção local, como também favorece a liberação de exoantígenos que modulam a resposta imune do animal. Estudos nacionais apontam que tais exoantígenos atuam como agentes quimiotáticos, atraindo macrófagos e outras células imunológicas para o foco da infecção, desencadeando uma resposta imune predominantemente do tipo Th2, caracterizada pela produção de interleucina-4 (IL-4) e interleucina-5 (IL-5), que promovem a ativação de linfócitos B e a produção de imunoglobulinas IgG e IgE (Mendonza *et al.*, 2005).

Além do impacto direto no tecido do hospedeiro, a composição peculiar da parede celular de *P. insidiosum*, rica em β -glucanas e celulose, confere uma resistência natural a agentes antifúngicos convencionais e reduz a eficácia de certos mecanismos de reconhecimento imunológico, uma vez que essas estruturas não correspondem aos padrões moleculares típicos de fungos clássicos, dificultando o reconhecimento eficaz pelo sistema imune inato (Gaastra *et al.*, 2010).

Assim, a patogenia da pitiose equina pode ser entendida como um conjunto de fatores biológicos inerentes ao agente, como a produção de zoósporos infectantes, capacidade de germinação e crescimento das hifas invasivo, interagindo com condições ambientais que favorecem sua sobrevivência e proliferação, e com respostas do hospedeiro que muitas vezes são insuficientes para controlar a infecção.

Essa interação complexa entre ambiente, agente e hospedeiro fundamenta o processo patogênico observado clinicamente em equinos e está intimamente relacionada aos mecanismos de crescimento e proliferação deste oomiceto.

3.4 Sinais clínicos

A manifestação clínica da pitiose em equinos decorre diretamente do ciclo infectante e da capacidade invasiva de *Pythium insidiosum*. Após a adesão dos zoósporos a tecidos lesionados e a formação das hifas invasivas, o agente provoca uma reação inflamatória intensa, caracterizada pela infiltração de eosinófilos, macrófagos e linfócitos B ativados, que resulta na formação da clássica lesão granulomatosa ulcerativa (Miller *et al.*, 1984). Clinicamente, essas lesões apresentam inicialmente pequenos nódulos ou pápulas eritematosas, que rapidamente se expandem para áreas de granulação exuberante, frequentemente úmidas, com secreção serossanguinolenta ou purulenta, refletindo a ação de enzimas proteolíticas do microrganismo e a intensa resposta imune local (Figura 5).

Figura 5 - Características e localização das lesões características de pitiose em equinos.



Fonte: Elaborado pelo autor (2024)

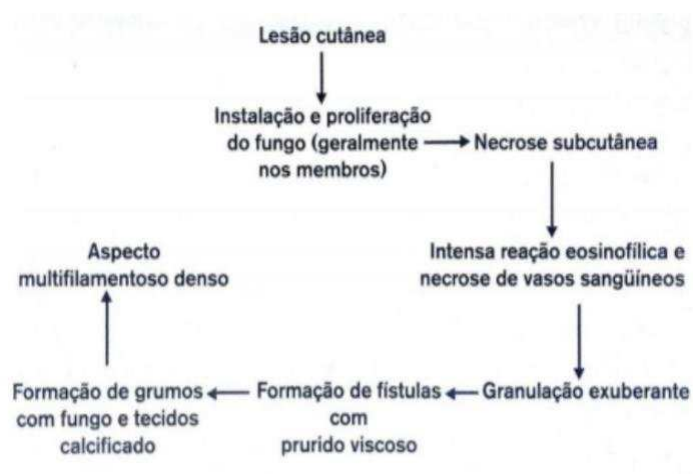
Um dos achados clínicos mais característicos da pitiose equina é a presença dos chamados kunkers, estruturas firmes de coloração branco-amarelada, constituídas por tecido necrótico, eosinófilos degenerados, material inflamatório e fragmentos de hifas de *Pythium insidiosum*. Essas massas são frequentemente observadas no interior das lesões ulcerativas e representam um importante indicativo clínico da enfermidade (Miller *et al.*, 1984).

A presença dos kunkers está associada à intensa reação inflamatória eosinofílica desencadeada pelo agente e à persistência da infecção nos tecidos, contribuindo para a dificuldade de cicatrização espontânea e para a progressão das lesões quando não há intervenção terapêutica adequada (Gaastra *et al.*, 2010). Em muitos casos, as lesões apresentam crescimento rápido e comportamento localmente invasivo, resultando em extensa destruição tecidual.

Devido ao intenso prurido característico das lesões causadas por *Pythium insidiosum*, resultado da degranulação de eosinófilos e mastócitos com liberação de histamina e outros mediadores inflamatórios (Gaastra *et al.*, 2010), os equinos frequentemente apresentam comportamento de automutilação, coçando as áreas afetadas em superfícies ásperas ou mesmo utilizando os dentes. Essa prática exacerba a proliferação granulomatosa local, dificultando o controle clínico da lesão e aumentando a complexidade do tratamento (Figura 6).

Em casos de infecção avançada ou disseminada, os relatos nacionais evidenciam que as lesões podem se tornar extensas, envolvendo múltiplos sítios cutâneos ou mucosas, como região ventral, abdômen ou até mucosa nasal, levando a secreção filamentosa, edema local e inflamação difusa (Chaffin *et al.*, 1995). Nesses casos, o animal pode apresentar perda progressiva de peso e caquexia, refletindo tanto a cronicidade da infecção quanto o estresse metabólico provocado pela inflamação persistente.

Figura 6 - Processo do quadro clínico de Pitiose



Fonte: Thomassian (2005)

A evolução das lesões na pitiose é tipicamente lenta, mas contínua, e a variabilidade da apresentação clínica está relacionada a fatores como tempo de exposição à água contaminada, extensão do trauma cutâneo e resposta imunológica individual do animal, reforçando a necessidade de diagnóstico precoce baseado em achados clínicos típicos, exames laboratoriais e confirmação por cultura ou métodos moleculares (Mendonza *et al.*, 2005). Portanto, os sinais clínicos da pitiose em equinos, lesões ulcerativas, granulomatosas, presença de *kunkers*, secreção serossanguinolenta, prurido intenso, claudicação e, em casos graves, caquexia, são diretamente correlacionados com a biologia do agente, seu ciclo infectante e a interação com o sistema imune do hospedeiro, permitindo uma compreensão integrada do quadro clínico e patogênico da doença.

Estudos realizados no Brasil demonstram que a identificação precoce das lesões e a confirmação laboratorial são determinantes para o prognóstico dos animais acometidos, uma vez que lesões extensas e de longa evolução tendem a apresentar maior dificuldade terapêutica e pior resposta ao tratamento (Marcolongo-Pereira *et al.*, 2012).

3.5 Diagnóstico

A confirmação laboratorial por cultura permite não apenas identificar o agente causador das lesões granulomatosas, mas também avaliar sua viabilidade, características morfológicas e potencial de invasão tecidual, elementos essenciais para o planejamento terapêutico e monitoramento da evolução clínica. A obtenção de amostras para cultura envolve a coleta de fragmentos de tecido lesionado, incluindo bordas ativas da úlcera ou granuloma, evitando material necrosado ou contaminado, garantindo maior probabilidade de isolamento do agente.

Devido ao caráter granulomatoso das lesões, frequentemente associado a áreas necróticas, secreção serossanguinolenta e prurido intenso, o diagnóstico clínico da pitiose pode ser desafiador, uma vez que diversas outras patologias dermatológicas apresentam características semelhantes, podendo levar o médico veterinário a conclusões equivocadas (Thomassian, 2005). Diante dessa semelhança clínica, torna-se essencial a utilização de técnicas laboratoriais complementares para a confirmação definitiva da doença. Entre os métodos empregados destacam-se o cultivo microbiológico, que permite o isolamento e identificação do agente, demais

métodos como a histopatologia, imunohistoquímica, testes sorológicos como imunodifusão em gel de ágar e ELISA, que possibilitam detectar respostas imunológicas específicas contra *Pythium insidiosum* (Almeida, 2010). A combinação dessas abordagens laboratoriais com a avaliação clínica detalhada garante maior precisão diagnóstica, permitindo ao profissional definir estratégias terapêuticas adequadas e reduzir o risco de progressão das lesões.

Em estudos nacionais recentes, demonstrou-se que *P. insidiosum* cresce de forma caracteristicamente filamentosa em meios nutritivos específicos, como Ágar Extrato de Levedura suplementado com antibióticos, com desenvolvimento de colônias após cinco a dez dias de incubação em temperatura controlada, geralmente entre 28–30 °C (Carnaúba *et al.*, 2023). As colônias apresentam textura algodonosa ou filamentosa, inicialmente branca, tornando-se mais densa e esbranquiçada à medida que amadurecem (Figura 7) A morfologia observada macroscopicamente permite diferenciação de outros fungos superficiais, enquanto a observação microscópica revela hifas espessas, asseptadas, ramificadas e hialinas, compatíveis com *P. insidiosum*.

Figura 7 - Colônias de *P. insidiosum* em meio Sabouraud



Fonte: Cruz (2010)

Figura 8 - Hifas cenocíticas de *P. insidiosum*



Fonte: Cruz (2010).

O isolamento microbiológico de *Pythium insidiosum* constitui uma importante ferramenta para a confirmação diagnóstica da pitiose. O agente apresenta crescimento rápido em meios de cultura apropriados, como Ágar Extrato de Levedura e outros meios enriquecidos, frequentemente suplementados com antibióticos para minimizar a contaminação bacteriana. Em condições adequadas de incubação, as colônias podem ser observadas entre dois e sete dias, apresentando crescimento filamentoso característico (Mendoza *et al.*, 1988).

Macroscopicamente, as colônias apresentam coloração branca a creme, aspecto membranoso ou algodoso e crescimento radial abundante, tornando-se mais densas à medida que amadurecem. Embora essas características não sejam exclusivas da espécie, auxiliam na diferenciação inicial de outros agentes envolvidos nos diagnósticos diferenciais da pitiose (Gaastra *et al.*, 2010).

Ao exame microscópico, observam-se hifas hialinas, largas, predominantemente asseptadas ou pouco septadas, com ramificações irregulares, características compatíveis com *P. insidiosum*. A avaliação microscópica associada às características culturais constitui importante etapa para a identificação fenotípica do agente, especialmente em laboratórios que não dispõem de técnicas moleculares (Santurio *et al.*, 2006).

4 METODOLOGIA

4.1 Comitê de ética

Este projeto foi aprovado pela Comissão de Ética e Experimentação Animal (CEEAA) da Universidade Estadual do Maranhão, sob protocolo de número 07/2022.

4.2 Área de estudo

A pesquisa foi realizada em municípios pertencentes à Baixada Maranhense. A Baixada Maranhense está inserida na Mesorregião Norte Maranhense, limitando-se ao norte com o litoral (Oceano Atlântico), ao sul com a região dos Cocais, a leste com a região pré-Amazônica e a oeste com o cerrado. Localizada sob as coordenadas 01°59' - 04°00'S; 44°00' - 45°33'W, abrangendo uma área total de 17.579,366 km² (IBGE, 2014), a região inclui uma ampla diversidade de ricos ecossistemas, tais como rios, lagos, estuários e áreas alagáveis, fazendo parte da Amazônia Legal Brasileira (Vasconcelos, 2012).

A Baixada Maranhense está dividida em 21 municípios: Anajatuba, Arari, Bela Vista do Maranhão, Cajari, Conceição do Lago Açu, Igarapé do Meio, Matinha, Monção, Olinda Nova do Maranhão, Palmeirândia, Pedro do Rosário, Penalva, Perimirim, Pinheiro, Presidente Sarney, Santa Helena, São Bento, São João Batista, São Vicente de Ferrer, Viana e Vitória do Mearim (Brasil, 2010). Dentre esses, foram realizadas coletas em 7 municípios: Arari, Pedro do Rosário, Penalva, Pinheiro, São João Batista, São Vicente e Viana e em 2 municípios adjacentes de Itapecuru-Mirim e Matões do Norte.

4.3 Coleta de amostras

Inicialmente, foi realizada a divulgação do projeto para diagnóstico da pitiose equina por meio de mídias sociais, como o Instagram (Figura 9), o que resultou no recebimento de relatos de equinos com lesões sugestivas da doença. Com base nesses relatos, foram feitas visitas às propriedades para conduzir o exame clínico e a coleta de amostras. Alternativamente, foram realizadas visitas a propriedades

criadoras de equinos em conjunto com projetos de extensão, para anamnese e exame clínico dos animais, visando à identificação de lesões características.

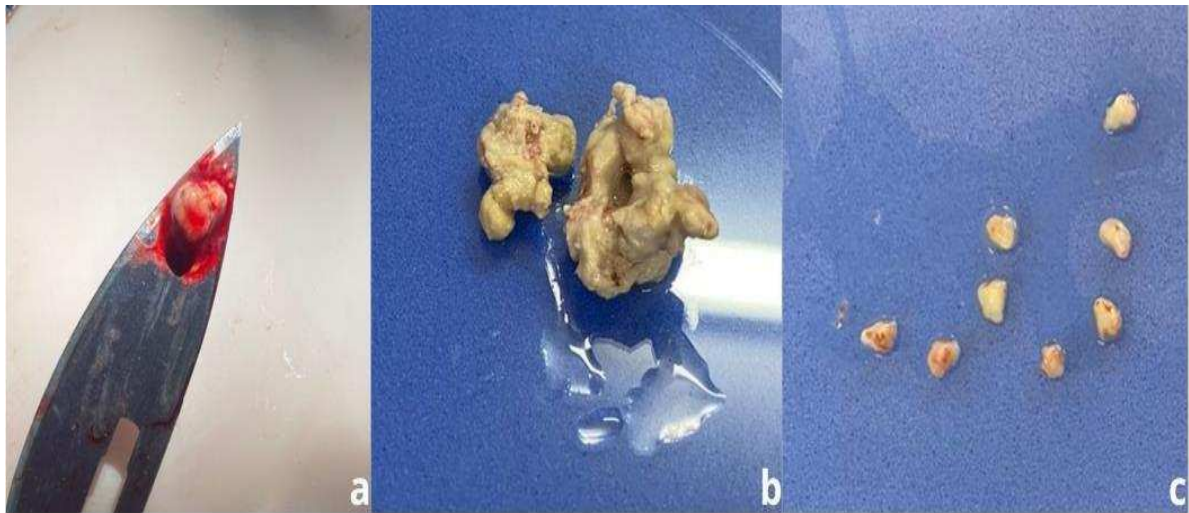
Ao todo, foram examinados 653 equinos oriundos de municípios da Baixada Maranhense e municípios adjacentes. Para o estudo, foram selecionados 23 animais que apresentaram sinais clínicos característicos de pitiose, sendo realizada a resenha de cada um deles. Após a avaliação física dos animais, fragmentos dos *kunkers* (Figura 10) ou do tecido ulcerativo das lesões sugestivas foram obtidos por biópsia. O material obtido foi armazenado em coletores universais estéreis, com tampas contendo solução salina NaCl 0,9%, e transportado, sob refrigeração, para o Laboratório de Micologia da UEMA.

Figura 9 - Arte de divulgação do projeto para diagnóstico da pitiose equina por meio do Instagram



Fonte: Elaborado pelo autor (2024)

Figura 10. a, b e c. Amostras de fragmentos característicos de *kunkers* de equinos com lesões sugestivas de pitiose oriundos da Baixada Maranhense



Fonte: Elaborado pelo autor (2024)

4.4 Cultura fúngica

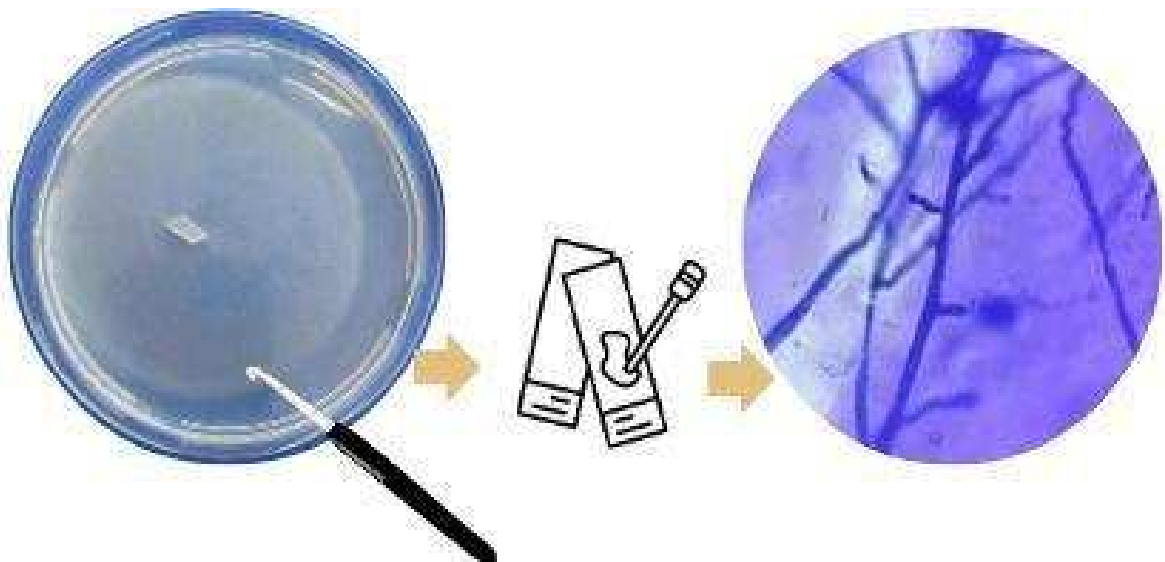
As amostras coletadas foram lavadas com o antibiótico Pencivet, enxaguadas com solução salina 0,9% e inoculadas em placas contendo Ágar Extrato de Levedura (Figura 11). As placas foram incubadas a 37°C por dois a cinco dias para o isolamento e identificação de *P. insidiosum*. Colônias que se assemelharam a *P. insidiosum*, apresentando aspectos macroscópicos como coloração creme e aspecto membranoso (Figura 12), após o processo de incubação, foram submetidas à técnica de recultivo com o objetivo de isolar o oomiceto e também foi conduzido o microcultivo para melhor visualização das estruturas de hifas presentes ao exame microscópico. A avaliação microscópica foi realizada com a coleta de amostra presente na colônia de *P. insidiosum*, colocada em lâmina de ponta fosca e corada utilizando o corante 3 do kit panótico rápido (Figura 12).

Figura 11 - Esquema ilustrando processo de coleta de *kunkers* em equinos com lesões sugestivas de pitiose e a subsequente inoculação em Ágar Extrato de Levedura para isolamento e identificação do agente etiológico



Fonte: Elaborado pelo autor (2024).

Figura 12 - Esquema ilustrando o processo de preparação de lâminas para avaliação microscópica de colônias de *Pythium insidiosum*



Fonte: Elaborado pelo autor (2024)

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dentre 653 equinos avaliados, 23 apresentavam lesões sugestivas de pitiose (Tabela 1), variando desde a fase inicial até a fase granulomatosa da doença. Os proprietários relataram que os equinos tinham acesso frequente a áreas alagadas (Figura 13B) e eram criados em sistema de manejo extensivo (Figura 13C).

De acordo com os relatos dos proprietários, esses equinos tinham acesso frequente a áreas alagadas (Figura 13B), onde a presença constante de umidade pode ter contribuído para a infecção. Além disso, os animais eram manejados em um sistema extensivo (Figura 13C), o que implica menor controle sobre as condições ambientais e de higiene, possivelmente favorecendo a exposição ao patógeno causador da doença (Mendoza; Arseven; Vilela, 2016).

Tabela 1 - Dados das amostras de equinos com lesões sugestivas de pitiose, coletadas nos municípios da Baixada Maranhense e proximidades

Amostras	Sexo	Local da coleta	Característica da lesão	Resultado
E1	F	Arari	Granulomatosa, ulcerada, inflamado	-
E2	M	Pinheiro	Inflamação, edema, sanguinolenta	+
E3	M	Pedro do Rosário	inflamada, serosanguinolento	-
E4	M	Pinheiro	Edemaciado	-
E5	M	Penalva	Erupção, lesão circular	-
E6	M	Arari	Serosanguinolento, ulceradas	-
E7	M	Arari	Ulcerada, multinodular	+
E8	F	São João Batista	Inflamação, secreção purulenta	-
E9	F	Penalva	Em cicatrização	-
E10	F	Penalva	Em cicatrização	-
E11	M	Penalva	Inflamação, presença de miíase	-
E12	M	Itapecuru	Ulcerada, com presença de kunkers	+
E13	M	Viana	Sanguinolenta, presença de kunkers	-
E14	M	Viana	Ulcerada, presença de kunkers	+
E15	M	Viana	Inflamação aguda e nodular	+

E16	F	Viana	Lesão pequena, presença de kunkers	-
E17	F	Arari	Ulcerada, inflamação	-
E18	F	Matões do Norte	Ulcerada, presença de <i>kunkers</i>	+
E19	M	São Vicente	Em cicatrização	-
E20	M	Penalva	Lesão ulcerada, presença de <i>kunkers</i>	-
E21	F	Penalva	Lesão pequena, aspecto inflamatório	-
E22	M	Itapecuru	Granulomatosa, presença de <i>kunkers</i>	+
E23	F	Matões do Norte	Granulomatosa, presença de <i>kunkers</i>	-

Fonte: Elaborado pelo autor (2024)

Figura 13 - A. Lesão granulomatosa característica de pitiose no membro anterior esquerdo de equino do município de Arari - MA; B. Equino com acesso à áreas alagadas no município de Pinheiro - MA; C. Modo de criação no manejo extensivo no município de Pinheiro - MA



Fonte: Elaborado pelo autor (2024)

Esses resultados destacam a importância das condições ambientais e de manejo no desenvolvimento da pitiose. Bezerra *et al.* (2010) e Reed e Bayly (2010) ressaltam que a presença de áreas alagadas e a criação em sistemas extensivos são

fatores de risco significativos para a infecção por *P. insidiosum*. A umidade constante facilita a exposição aos zoósporos do patógeno, o que é apoiado por estudos mais recentes, como os de Ocampo *et al.* (2016) e Pimentel *et al.* (2020), que investigam a ecologia e os fatores de risco associados à pitiose. Essas condições de manejo e os hábitos de vida dos equinos reforçam a necessidade de práticas preventivas e diagnósticos precoces, especialmente em regiões onde a pitiose é endêmica.

Após o exame clínico, observou-se que a maioria dos animais apresentava lesões de aspecto granulomatoso, com processo inflamatório, ulceradas, com secreção serossanguinolenta e intenso prurido, além da presença de kunkers (Tabela 1; Figura 14). As lesões localizavam-se nas extremidades, como prepúcio, mucosa nasal, membros anteriores e posteriores, e região ventral (Figura 14). Essas áreas são mais acometidas pela pitiose devido ao contato com a água contaminada e, frequentemente, apresentam lesões ou microlesões prévias causadas pela utilização de equipamentos de montaria, o que facilita a infecção pelo agente etiológico (Bosco *et al.*, 2020).

Quanto ao diagnóstico micológico, sete amostras (n=7; 30,43%) apresentaram colônias com crescimento rápido, aspecto filamentoso, coloração branco-amarelada e textura membranosa, características de *Pythium insidiosum* (Figura 15). Esses resultados são consistentes com outros estudos, que relatam taxas de isolamento de *P. insidiosum* entre 25% e 40% em equinos com lesões sugestivas de pitiose (Bosco *et al.*, 2020).

No entanto, as amostras que não demonstraram crescimento do oomiceto merecem uma análise mais detalhada. Em alguns casos, o processo de cicatrização pode ter reduzido a quantidade de hifas viáveis, dificultando o cultivo (Mendoza; Vilela, 2016). Além disso, a contaminação bacteriana ou fúngica pode ter inibido o crescimento de *P. insidiosum* no meio de cultura, resultando em falsos negativos (Mendoza *et al.*, 2013).

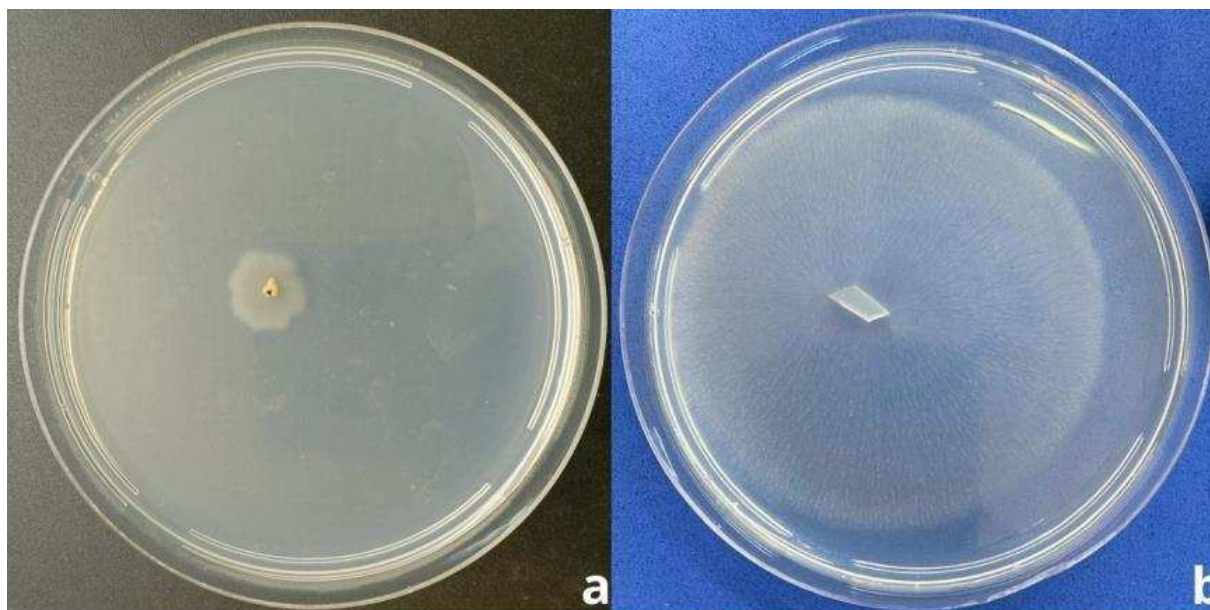
Outro fator é que as lesões podem ter sido causadas por doenças com apresentações clínicas semelhantes, como a habronemose, o que ressalta a importância de um diagnóstico diferencial preciso (Grooters *et al.*, 2020).

Figura 14. Localização das lesões características de pitiose em equinos. **a.** Lesão na região de membro torácico; **b.** Lesão com aspecto inflamatório no membro locomotor; **c.** Lesão na região do prepúcio; **d.** Lesão na região de membro torácico; **e.** Lesão na região de membro pélvico; **f.** Lesão na região abdominal; **g.** Lesão na região abdominal se apresentando de forma serossanguinolenta; **h.** Lesão na região da mucosa nasal; **i.** Lesão na região ventral; **j.** Lesão na região glútea com presença de kunkers; **k.** Lesão na região de membro torácico com presença de kunkers; **l.** Lesão na região da face.



Fonte: Elaborado pelo autor (2024)

Figura 15 - Cultura de *Pythium insidiosum* a partir de amostra de *kunker* obtida de equinos da Baixada Maranhense. A. Colônia após 2 dias de incubação a 37°C; B. Colônia obtida a partir de recultivo após 5 dias de incubação a 37°C.

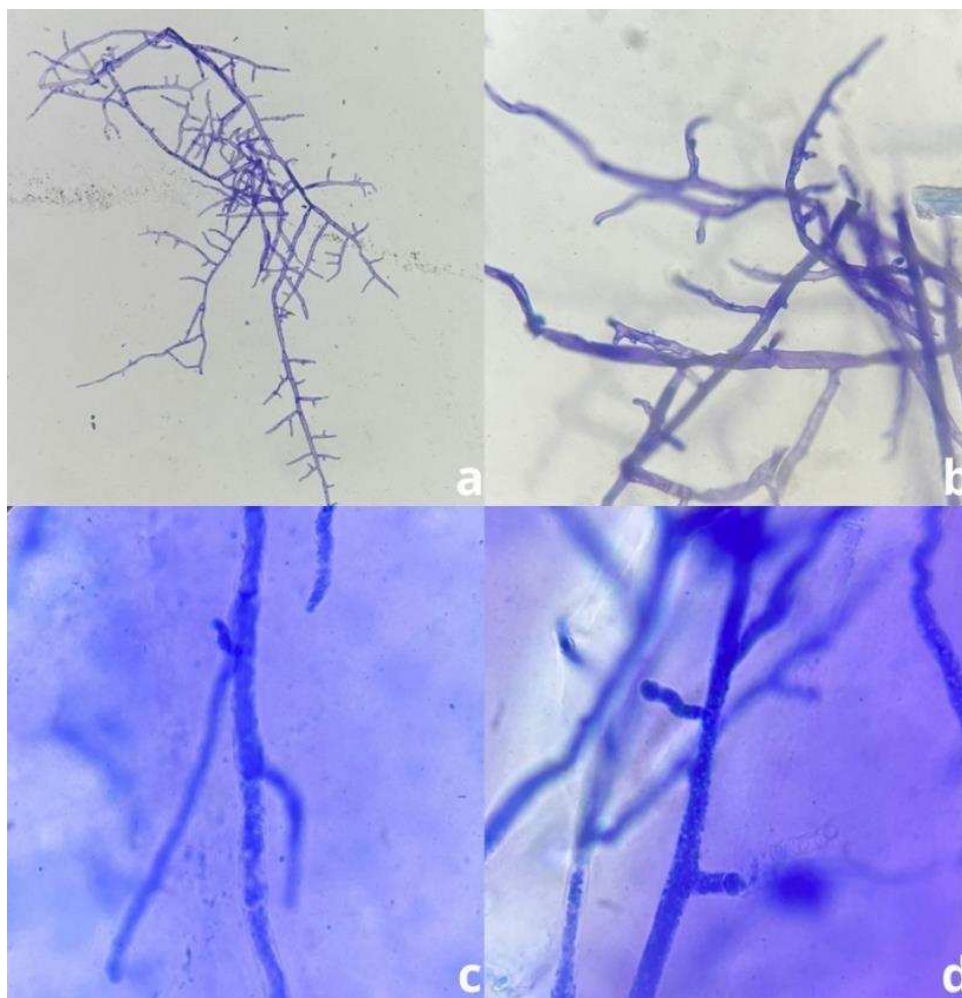


Fonte: Elaborado pelo autor (2024)

A análise microscópica revelou hifas hialinas, asseptadas, com diâmetro largo e ramificações em ângulo reto (Figura 16). Essas características morfológicas são compatíveis com as descritas para *P. insidiosum* e confirmaram o diagnóstico de pitiose.

Observou-se também que as hifas tinham uma tendência a formar ramificações raras e desordenadas, com algumas áreas mostrando torções ou ondulações leves. Em alguns casos, as hifas também demonstraram variações no diâmetro ao longo de seu comprimento, com partes ligeiramente dilatadas, o que é uma característica adicional associada a esse patógeno. Essas características morfológicas das hifas são típicas de *P. insidiosum* e são fundamentais para o diagnóstico preciso da pitiose, reforçando a identificação do oomiceto nas amostras analisadas.

Figura 16 - Exame microscópico de *Pythium insidiosum* a. Hifas hialinas, asseptadas e espessas (objetiva de 10x) b. Hifas com ramificações em ângulo reto (objetiva de 40x); c. Hifa asseptada (objetiva de 100x); d. Hifas asseptadas com ramificações em ângulo reto (objetiva de 100x).



Fonte: Elaborado pelo autor (2024)

Os achados deste estudo estão plenamente alinhados com a literatura sobre a morfologia de *Pythium insidiosum*. Pesquisas conduzidas por Santurio *et al.* (2006) e Silva *et al.* (2017) descrevem hifas espessas, hialinas, ramificadas e pouco septadas, características que coincidem com as observadas neste trabalho, tanto em cultura quanto em análises microscópicas de tecidos lesionados. A identificação dessas estruturas morfológicas é de extrema importância, pois permite diferenciar *P. insidiosum* de outros patógenos filamentosos semelhantes, cuja morfologia apresenta hifas mais finas e altamente septadas. Nesse contexto, a confirmação laboratorial por cultivo microbiológico, associada à análise microscópica detalhada, permanece como método central para o diagnóstico preciso, como enfatizado por Bosco *et al.* (2016) e Pereira *et al.* (2019), reforçando a necessidade de protocolos diagnósticos rigorosos e padronizados para garantir confiabilidade na identificação do agente.

Paralelamente, a literatura recente ressalta a importância de estratégias preventivas e de manejo para reduzir a ocorrência da pitiose em equinos. Estudos nacionais, como os de Moraes *et al.* (2013) e Carvalho *et al.* (2022), destacam a

relevância de práticas como restrição de acesso a áreas alagadas, drenagem de açudes, manutenção da higiene das pastagens e manejo adequado durante períodos de maior pluviosidade, de modo a diminuir a exposição dos animais ao agente. A conscientização de proprietários e tratadores, aliada à implementação de programas de monitoramento contínuo, é fundamental para a detecção precoce de lesões e para o sucesso das intervenções terapêuticas. Dessa forma, a integração entre diagnóstico laboratorial confiável, observação clínica detalhada e medidas preventivas constitui a base para o controle eficaz da pitiose, prevenindo a progressão da doença e promovendo a saúde e o bem-estar dos equinos.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo permitiu o isolamento e a identificação fenotípica de *Pythium insidiosum* em equinos com lesões compatíveis com pitiose na Baixada Maranhense, confirmando a ocorrência do agente na região. Os resultados demonstram que as condições ambientais locais podem favorecer a manutenção e disseminação desse oomiceto, reforçando a importância da pitiose como enfermidade de relevância sanitária para os equinos.

Além disso, o isolamento do agente contribui para o aprimoramento do diagnóstico laboratorial da doença e amplia o conhecimento sobre sua ocorrência na Baixada Maranhense. Dessa forma, os achados deste estudo fornecem subsídios para futuras investigações epidemiológicas e para o desenvolvimento de estratégias de vigilância, prevenção e controle da pitiose equina na região.

REFERÊNCIAS

- ADHIKARI B. N; HAMILTON J.P; ZERILLO M.M; TISSERAT N.; LÉVESQUE C.A.; BUELL C.R.; Comparative genomics reveals insight into virulence strategies of plant pathogenic oomycetes. **PloS One**, v. 8, n. 10, p. e75072. doi: 10.1371/journal.pone.0075072, 2013
- ALMEIDA, M. R. Pitiose e sua importância em Medicina Veterinária e Saúde Pública. Jaboticabal, 2010, Monografia (Residência) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP, 2010.
- BEZERRA, D. *et al.* Pitiose em equinos no Brasil: Revisão e aspectos epidemiológicos. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 19, n. 1, p. 40-47, 2010.
- BOSCO, S. M. G., *et al.* Clinical and molecular aspects of pythiosis: An emerging and underdiagnosed disease. **Veterinary Microbiology**, v. 192, p. 182-188. doi:10.1016/j.vetmic.2016.07.017, 2016.
- BOSCO, S. M. G.; FERREIRA, L. C.; VIEIRA, L. Q.; SILVA, M. E. Pythiosis in horses: an overview and updates on infection mechanisms, epidemiology, and treatments. **Journal of Veterinary Science**, v. 21, n. 4, p. e4. doi:10.4142/jvs.2020.21.e455, 2020.
- BOSCO, S. M. G. *et al.* PITIOSE. IN: MEGID, J.; RIBEIRO, M. G.; PAES, A. C.. **Doenças infecciosas em animais de produção e de companhia**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan/roca, . Cap. 89. p. 946-957, 2016.
- CHAFFIN, M. K.; SCHUMACHER, J.; McMULLAN, W. C. **Cutaneous pythiosis in the horse**. Veterinary Clinics of North America: Equine Practice, 1995.
- CRUZ, M. T. *et al.* Pitiose em equinos: Características clínicas e patológicas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 62, n. 5, p. 1210-1219, 2010.
- CRUZ, L. C. H. Micologia Veterinária. 2ª Edição, Rio de Janeiro: Revinter, 2010.
- D'UTRA VAZ, B. B; MAIA, F.C.L; ROCHA, N.S; THOMASSIAN, A. Pitiose nasal em equino. **Medicina Veterinaria**, v. 3, n. 4, p. 27-32. 2009. Disponível em: <http://hdl.handle.net/11449/71191>.
- GAASTRA, W. *et al.* Pythium insidiosum: An overviem. **Veterinary Microbiologu**, v.146, n.1-2, p. 1-16, Nov. 2010.
- GARCIA, A. B., *et al.* Emerging oomycete infections in animals: A challenge in veterinary medicine. **Veterinary Quarterly**, v. 37, n. 1, p. 47-60, 2017. doi:10.1080/01652176.2017.1282558

GROOTERS, A. M., & GEE, M. K. Pythium and Lagenidium infections. **Infectious Disease Clinics of North America**, v. 33, n. 4, p. 885-900. doi:10.1016/j.idc.2019.08.006, 2019.

LEAL, A. T., *et al.* Pitiose. **Ciência Rural**, 31(4), 735–743. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782001000400029>, 2001.

LEMOS, L. S., *et al.* Pitiose em Equinos: Relato de Caso e Revisão da Literatura. **Revista de Medicina Veterinária**, v. 19, n. 3, p. 72-76. doi:10.4322/rmv.2018.040, 2018

LEMOS, G. B. *et al.* Tratamento da pitiose cutânea equina com acetato de triancinolona e iodeto de potássio: relato de casos. **Revista Acadêmica: Ciência Animal**, v. 16. 2018.

LOPES, M. F., *et al.* Epidemiology and clinical findings of equine pythiosis in Brazil: A retrospective study of 224 cases. **BMC Veterinary Research**, v. 14, p. 290. doi:10.1186/s12917-018-1592-5, 2018.

MACHADO, G., *et al.* Detection and identification of Pythium insidiosum using molecular techniques: A rapid and specific diagnostic approach. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 58, n. 3, p. e01234-19. doi:10.1128/JCM.01234-19, 2020.

MARCOLONGO-PEREIRA, C.; ADRIEN, M. L.; SALLIS, E. S. V.; GRECCO, F. B.; RAFFI, M. B.; SOARES, M. P.; SCHILD, A. L. **Epidemiologia e aspectos clínico-patológicos da pitiose equina no sul do Brasil**. Pesquisa Veterinária Brasileira, Rio de Janeiro, v. 32, n. 9, p. 865-870, 2012.

MENDOZA, L.; ALFARO, A. A. **Four cases of equine bone lesions caused by Pythium insidiosum**. Equine Veterinary Journal, v. 22, n. 4, p. 295-297, 1990.

MENDOZA, L.; PRENDAS, J. **A method to obtain rapid zoosporogenesis of Pythium insidiosum**. Mycopathologia, v. 104, p. 59-62, 1988.

MENDOZA, L.; NEWTON, J. C. **Immunology and immunotherapy of the infections caused by Pythium insidiosum**. Medical Mycology, v. 43, n. 6, p. 477-486, 2005.

MENDOZA, L., *et al.* Zoospore biogenesis and infection in oomycetes: An update on the infectious cycle of Pythium insidiosum. **Veterinary Research Communications**, 40(3-4), 177-189. doi:10.1007/s11259-016-9674-8, 2016.

MEGID, J.; RIBEIRO, M. G.; PAES, A. C.. **Doenças infecciosas em animais de produção e de companhia**. Roca: Rio de Janeiro, 2016

MILLER, R. I.; CAMPBELL, R. S. F. **The comparative pathology of equine cutaneous phycomycosis**. Veterinary Pathology, v. 21, p. 325-332, 1984.

MORAES A. S. *et al.* **Impactos Econômicos, Sociais e Ambientais de Tecnologias da Embrapa Pantanal**. 2. Pitium Vac - Imunoterápico Contra Pitiose Equina. Embrapa, 1º ed. Corumbá, p.37, abri. 2013.

MORAES, G. H. K., *et al.* Advances in the treatment of equine pythiosis: Therapeutic approaches and outcomes. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 31, n. 3, p. 784-790. doi:10.1111/jvim.12078, 2017.

MORAES, F. S. *et al.* Estratégias de manejo para controle da pitiose em equinos. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 35, n. 4, p. 232-241, 2013.

OCAMPO, J. *et al.* Environmental factors influencing the epidemiology of Pythiosis in horses. **Veterinary Parasitology**, v. 230, p. 45-53, 2016.

PEREIRA, S. A. *et al.* Advances in the diagnosis of Pythiosis in equines. **Veterinary Dermatology**, v. 30, n. 4, p. 290-e77, 2019.

PEREIRA, D. I. B., *et al.* The epidemiology of pythiosis in Brazil. **Mycopathologia**, v. 179, n. 1- 2, p. 197-200. doi:10.1007/s11046-, 2015.

PEREIRA, D. I. B. *et al.* Equidae pythiosis in Brazil and the world: a systematic review of the last 63 years (1960-2023). **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 55, n. 3, p. 2969-2981, 2024. DOI: 10.1007/s42770-024-01435-6.

PIMENTEL, J. *et al.* Epidemiology of Pythiosis in horses: A study in South America. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 85, p. 102832, 2020.

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

REED, S. M.; BAYLY, W. M. Clinical Management of Pythiosis in Horses. **Equine Veterinary Journal**, v. 42, n. 6, p. 525-533, 2010.

REED, S.; BAYLY, W. **Medicina Interna Equina**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010.

RIET-CORREA, F. *et al.* **Doenças de Ruminantes e Equídeos**. 3ª edição, São Paulo: Varela, 2007.

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

SANTÚRIO, J. M; FERREIRO, L. **Pitiose: uma abordagem micológica e terapêutica**. 1ª ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS, 2008. 111 p.

SILVA, A. *et al.* Morphological characterization of *Pythium insidiosum* in equine clinical samples. **Mycopathologia**, v. 182, n. 3-4, p. 225-233, 2017.

THOMASSIAN, A. **Enfermidades dos cavalos**. 4. ed. São Paulo: Varela, 2005.

VASCONCELOS, A. B. de et al. Molecular detection of *Pythium insidiosum* in cutaneous lesions of horses from Northeastern Brazil. **Animals**, v. 15, n. 19, p. 2863,

VIEIRA, E. R.; REZENDE, A. S. C.; LANA, A. M. Q.; SILVA, A. A. **Aspectos sociais e econômicos da criação de equinos em Minas Gerais**. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, v. 67, n. 1, p. 319-327, 2015.