

AVALIAÇÃO HEPÁTICA E RENAL EM EQUINOS COM PITIOSE TRATADOS COM IODETO DE POTÁSSIO, ATRAVÉS DA DETERMINAÇÃO DAS PROTEÍNAS, SUBSTÂNCIAS NITROGENADAS E ENZIMAS SÉRICAS*

HEPATIC AND RENAL ANALYSIS IN HORSES WITH PYTHIOSIS TREATED WITH POTASSIUM IODATE, THROUGH THE DETECTION OF SERUM PROTEINS, NITROGENATED SUBSTANCES AND ENZYMES

Ronaldo Barros Salomão-Nascimento¹; Edwards Frazão-Teixeira² e Francisco Carlos Rodrigues de Oliveira³

ABSTRACT. Salomão-Nascimento R.B., Frazão-Teixeira E. & Oliveira F.C.R. de. [Hepatic and renal analysis in horses with pythiosis treated with potassium iodate, through the detection of serum proteins, nitrogenated substances and enzymes]. Avaliação hepática e renal em equinos com pitiose tratados com iodeto de potássio, através da determinação das proteínas, substâncias nitrogenadas e enzimas séricas. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, 32(2):105-110, 2010. Laboratório de Sanidade Animal, CCTA, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Avenida Alberto Lamego, 2000, Parque Califórnia, Campos dos Goytacazes, RJ 28015-620, Brasil. E-mail: foliveira@uenf.br

Nine horses naturally infected with *Pythium insidiosum* from Campos dos Goytacazes were daily treated orally with potassium iodate solution (55mg/kg) until two weeks after wounds were healed completely. Data on the wounds regression and serum protein variations, nitrogenated substances and enzymes of the animals were determined. Wounds were healed completely in 28 to 56 days of treatment, and the treatment period was directly related to the size of the wounds. In addition, there were not detected any biochemical changes that allow us to infer that the treatment did not caused any renal or hepatic failure in treated animals. Based in these results, potassium iodate at the dose of 55mg/kg was efficient for treating pythiosis in horses.

KEY WORDS. *Pythium insidiosum*, oomycete, *Kunkers*, horses.

RESUMO. Nove equinos naturalmente infectados com *Pythium insidiosum* e oriundos de Campos dos Goytacazes-RJ foram tratados diariamente via oral com solução de iodeto de potássio (55mg/kg) por um período até duas semanas após a completa cura das lesões. Foram registrados dados sobre a involução das lesões e alterações nas taxas de proteínas, substâncias nitrogenadas e enzimas séricas dos animais. Estes apresentaram involução completa das lesões num período de

28 a 56 dias de tratamento, e o tempo de duração do tratamento foi diretamente proporcional ao tamanho das lesões. Além disto, não foram verificados parâmetros bioquímicos que permitam inferir que o tratamento tenha causado danos renais ou hepáticos aos animais. Desta forma, o iodeto de potássio, na dose de 55mg/kg de peso vivo, foi eficiente no tratamento da pitiose equina.

PALAVRAS-CHAVE. *Pythium insidiosum*, oomiceto, *kunkers*, equinos.

* Recebido em 5 de outubro de 2009.

Aceito em 10 de dezembro de 2009.

¹Curso de Graduação em Medicina Veterinária, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (Uenf), Avenida Alberto Lamego, 2000, Horto, Campos dos Goytacazes, RJ 28015-620, Brasil.

²Médico-veterinário, *Dr.Ci.Ani*. Laboratório de Sanidade Animal (LSA), Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias (CCTA), Uenf, Avenida Alberto Lamego, 2000, Horto, Campos dos Goytacazes, RJ 28015-620, Brasil. – bolsista Faperj.

³Médico-veterinário, *PhD*. LSA, CCTA, Uenf, Avenida Alberto Lamego, 2000, Horto, Campos dos Goytacazes, RJ 28015-620, Brasil. E-mail: foliveira@uenf.br – bolsista CNPq.

INTRODUÇÃO

A pitiose é uma doença causada pelo oomiceto *Pythium insidiosum* (de Cock et al. 1987). O genero *Pythium* possui mais de 120 espécies, sendo a maioria habitante do solo e patógenos de plantas. Algumas espécies têm sido estudadas para utilização como controle biológico, enquanto apenas *P. insidiosum* é conhecido como patógeno de mamíferos e plantas (Alexopoulos et al. 1996; Moore-Landecker, 1996).

No equino, a pitiose é caracterizada por lesões ulcerativas granulomatosas, formando grandes massas teciduais com bordas irregulares e com hifas recobertas por células necróticas, que formam massas branco-amareladas, chamadas de *kunkers*. Estes animais, quando infectados, apresentam intenso prurido e geralmente se mutilam na tentativa de aliviar o desconforto no local da lesão. Claudicação é um sinal frequente em animais afetados nos membros (Meirelles et al. 1993; Chaffin et al. 1995). A maioria dos casos descritos relata apenas uma lesão em cada animal, porém lesões cutâneas multifocais também têm sido relatadas (Miller e Campbell 1982, Chaffin et al. 1992).

O canino é a segunda espécie mais atingida pela pitiose, também nas formas cutânea e gastrointestinal. Esta última é a forma mais comum e se manifesta com distúrbios digestivos como vômito, anorexia crônica, perda de peso, diarreia (às vezes sanguinolenta) e presença de massas nodulares, quando submetido à palpação abdominal (Miller et al. 1983, Smith et al. 1989, Fischer et al. 1994). Os cães afetados são normalmente oriundos de regiões rurais ou estiveram, esporadicamente, em locais alagados (Foil et al. 1984). Outros animais podem ser naturalmente acometidos pela pitiose, como bovinos, gatos e ovinos; no entanto, Miller & Campbell (1983) demonstraram a eficiência do coelho como modelo experimental para a doença.

A maioria dos casos de pitiose humana foi observada na Tailândia e, esporadicamente, nos EUA, Austrália, Haiti e Nova Zelândia, tendo os primeiros casos sido relatados em 1986, na Tailândia (Imwidthaya, 1994). Segundo este autor, as infecções por *P. insidiosum* em humanos podem apresentar-se de três formas: 1) lesões granulomatosas no tecido subcutâneo de pacientes talassêmicos; 2) forma sistêmica, caracterizada por desenvolvimento de arterite crônica, trombose arterial e gangrena, atingindo geralmente as extremidades dos membros inferiores de pacientes talassêmicos; e 3) ceratite, podendo ou não ser associada à talassemia (Sathapatayavongs et al. 1989).

A pitiose ocorre em regiões de clima tropical, subtropical e temperado, tendo sido descrita nas Américas, alguns países europeus e no sudeste asiático (Chaffin et

al. 1995, Foil 1996, Mendoza et al. 1996). Não há predisposição por sexo, idade ou raça, e as fontes de infecções são os zoósporos ambientais, não havendo relatos de transmissão direta entre animais e entre estes e o homem (Mendoza et al. 1996). As condições ambientais são fundamentais para o desenvolvimento do organismo. Para a produção de zoósporos são necessárias temperaturas entre 30 e 40°C e o acúmulo de água em banhados e lagoas (Miller & Campbell 1982). Em equinos as lesões são encontradas mais frequentemente em locais cuja água contaminada com zoósporos, fica em contato com os membros, região ventral e toracoabdominal (Chaffin et al. 1995, Foil 1996). Nestas condições, a doença também pode atingir caninos, bovinos, felinos, humanos (Meireles et al. 1993, Mendonza et al. 1996) e peixes (Thianprasit et al. 1996).

Há relatos de lesões nos pulmões, linfonodos (Goat 1984, Miller & Campbell 1984), intestinos (Morton et al. 1991, Purcell et al. 1994) e ossos (Alfaro & Mendonza 1990). Lesões subcutâneas e gastrointestinais foram descritas em cães (Miller et al. 1985, Patton et al. 1996, Riet-Correa et al. 1998, Dykstra et al. 1999, Helman & Oliver 1999). Dois casos da doença foram descritos em felinos (Bissonnette et al. 1991, Thomas & Lewis 2000) e dois em bovinos (Miller et al. 1985, Santurio et al. 1998).

Pythium insidiosum coloniza as plantas aquáticas até a formação dos zoósporos, que são as formas infectantes. A temperatura é um fator de grande influência para o desenvolvimento dos zoósporos, pois eles necessitam de uma temperatura entre 30 e 40°C, juntamente com acúmulo de água (Santurio et al. 2000, Leal et al. 2001).

De acordo com Miller (1981), o tratamento da pitiose pode ser cirúrgico, químico ou imunológico. O tratamento cirúrgico requer uma excisão de toda a área da lesão, incluindo boa parte da área sem lesão, para garantir uma margem de segurança. Quando nos membros, este tratamento é dificultado pelas estruturas anatómicas. No tratamento químico são usadas algumas drogas como cetoconazol, miconazol, fluconazol, intraconazol, anfotericina B, além do iodeto de potássio e sódio (Miller 1981) e do imunoterápico Pitium Vac[®], produzido no Laboratório de Pesquisas Micológicas (LAPEMI), da Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, a partir de culturas fúngicas do agente. Fatores que influenciam o tratamento da lesão são: estado nutricional, tamanho da lesão e idade do animal, entre outros (Leal et al. 2001).

A pitiose é uma doença enzoótica da região Norte do Estado do Rio de Janeiro, e bastante observada na baixada campista. Desta forma, justifica-se um trabalho que identifique um tratamento eficaz, barato e de fácil

aplicação, para ser utilizado por pequenos produtores, que não têm condições financeiras para custear o tratamento cirúrgico, que é caro e de eficiência ainda não comprovada. Portanto, esta pesquisa teve como objetivo verificar a eficiência do iodeto de potássio no tratamento da pitiose equina de animais criados na baixada campista, Norte Fluminense.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 10 equinos sadios, como controle do parâmetro bioquímico, e nove naturalmente infectados com *P. insidiosum* criados na baixada campista, microrregião de Campos dos Goytacazes, RJ. A confirmação da pitiose foi feita através de exame histopatológico. Para tanto, amostras de tecido foram colhidas, fixadas em formol a 10% tamponado, acondicionadas em frascos de vidro de boca larga e levadas ao Laboratório de Sanidade Animal (LSA) para realização do exame.

Vinte e cinco animais doentes foram tratados com iodeto de potássio (55 mg/kg) diariamente até duas semanas após a involução das lesões. Para cada animal foi aferido o peso vivo e calculada a quantidade diária de iodeto de potássio administrada via oral. Foram fornecidas porções diárias do produto aos tratadores dos animais, treinados na administração do medicamento. Cada porção diária préestabelecida foi diluída em 20 a 30 ml de óleo vegetal (óleo de soja comum), formando uma solução de fácil aplicação. Através de seringas comuns, o medicamento era depositado diretamente na boca do animal (Figura 1), com o cuidado para não ocasionar perda do produto ou aspiração.

No primeiro dia do tratamento, e depois semanalmente, foram coletadas amostras sanguíneas dos animais doentes, através de punção da veia jugular, após anti-sepsia local com solução de álcool iodado a 2%, utilizando-se agulhas descartáveis de dimensões 40 x 12 mm. As amostras foram acondicionadas em tubos de 5 ml e levadas ao LSA, onde foram centrifugadas a 350G por 10 minutos para a separação do soro. Para os animais sadios a coleta de sangue foi realizada em um único dia e em cavalos de várias propriedades distribuídas na mesma região onde foram verificados animais doentes.

Foram realizadas análises bioquímicas das amostras séricas, através de aparelho automatizado multicanal (BIOSYSTEMS), onde foram determinados os valores de proteínas totais e albumina, além das enzimas aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT), γ -glutamilttransferase (GGT) e fosfatase alcalina (ALP). Foram também avaliadas as substâncias nitrogenadas como uréia e creatinina. Para estas análises foram utilizados kits comerciais (LABORTEST®),



Figura 1. Tratamento de pitiose em um equino com aplicação de iodeto de potássio em suspensão em óleo vegetal (óleo de soja comum). Aplicação do medicamento direto na boca, tendo-se o cuidado para que não haja perda ou falsa via.

obedecendo às especificações de calibração do fabricante para o aparelho utilizado.

Foram feitas visitas semanais às propriedades e distribuídas novas porções do medicamento para os próximos sete dias de tratamento. Durante estas visitas, os animais foram examinados sobre a involução das lesões e a correta aplicação do produto.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os tratamentos tiveram duração de 28 a 56 dias (Tabela 1) e o tempo de tratamento foi diretamente proporcional ao tamanho das lesões. De acordo com a literatura, na maioria dos casos as lesões decorrentes de pitiose são únicas (Miller & Campbell 1982, Chaffin et al. 1992). Entretanto, nesta pesquisa, foram observadas lesões cutâneas pequenas e multifocais e o período de tratamento destas foi mais curto em comparação ao observado para as lesões grandes e únicas.

Tabela 1. Resultado do tratamento da pitiose em equinos criados na baixada campista do Município de Campos dos Goytacazes.

| Animais | Tratamento | | | |
|---------|--------------|---------------|------|-----------|
| | Peso vivo/Kg | Dose diária/g | Dias | Involução |
| 1 | 480 | 26,4 | 42 | Total |
| 2 | 370 | 21,0 | 56 | Total |
| 3 | 420 | 23,1 | 42 | Total |
| 4 | 280 | 15,4 | 35 | Total |
| 5 | 410 | 22,5 | 35 | Total |
| 6 | 320 | 17,6 | 28 | Total |
| 7 | 180 | 9,9 | 49 | Total |
| 8 | 240 | 13,2 | 28 | Total |
| 9 | 400 | 22,0 | 28 | Total |

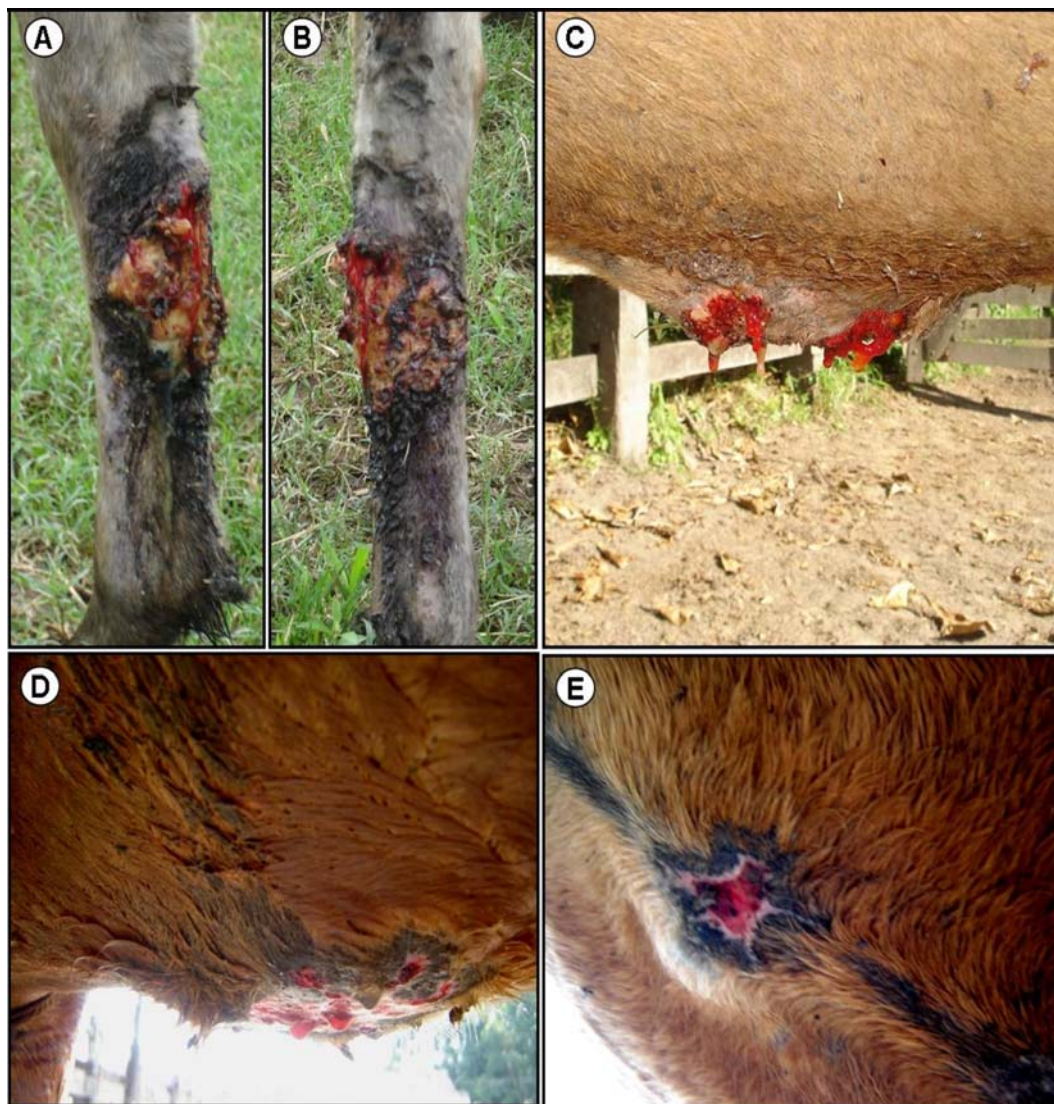


Figura 2. Equinos com pitiose. (A) lesão ulcerativa e granulomatosa com intenso prurido; (B) a mesma lesão após sete dias de tratamento, com menor exsudação da ferida; (C) lesão sem tratamento; (D) lesão no período intermediário de tratamento e (E) lesão considerada curada com sete dias de tratamento.

O exame físico dos animais revelou que na primeira semana de tratamento as lesões mudaram de característica. Lesões inicialmente ulcerativas e granulomatosas com intenso prurido (Figura 2A) mudaram para lesões mais secas, caracterizando menor exsudação da ferida (Figura 2B). Com a continuidade do tratamento, as lesões involuíram até a cura completa (Figuras 2C, D e E). Muitos são os relatos de lesões em outras localizações, como pulmões, linfonodos (Goat 1984, Miller & Campbell 1984), intestinos (Morton et al. 1991, Purcell et al. 1994) e ossos (Alfaro & Mendonza, 1990). O tratamento sistêmico parece ser melhor indicado no tratamento da pitiose multifocal, visto que nesta pesquisa todos os animais tratados tiveram a total involução das lesões (Tabela 1). Ainda, durante todo o tratamento, independente do animal, local de criação ou período de tratamento, não foi observado sinais clínicos de iodismo

ou qualquer outra doença, bem como anormalidades sistêmicas características de intoxicação.

Embora não significativos, foram observados nos animais doentes, tratados ou não, redução nas taxas de proteínas totais e albumina sérica. No entanto, estes valores estiveram sempre dentro dos padrões normais para a espécie (Tabela 2). Por ser o fígado o principal sintetizador de proteínas (Gonzalez & Scheffer 2002), este parâmetro pode ser indicativo da funcionalidade hepática. A diminuição nos valores séricos pode ser advinda da ingestão inadequada de nutrientes ou perda excessiva de proteínas resultante de queimaduras ou feridas (Coles 1984). Parecem ser estes os fatores que levaram a taxas reduzidas nos animais doentes e não problemas hepáticos devido ao tratamento. A albumina é a principal proteína circulante e sua variação é lenta devido à baixa velocidade de síntese e degradação

Tabela 2. Enzimas, substâncias nitrogenadas e proteínas séricas em cavalos sadios (controle) e com pitiose, antes e durante o tratamento com iodeto de potássio (55 mg/kg de peso diariamente) até a completa involução da lesão com no máximo 56 dias.

| Substância analisada | Valor padrão ¹ | n ² | Animais doentes | | n ⁴ | Animais sadios | Valor de P |
|-------------------------|---------------------------|----------------|-----------------------------------|--|----------------|-----------------------------------|------------|
| | | | Tratados n ³ | Controle | | | |
| AST (UI/L) | (226-366) | 25 | 190±72,08 (116-394) | 9 214±69 (152-325) | 10 | 242±20 (193-257) | 0,1045 |
| ALT (UI/L) | (3-23) | 25 | 8,0±2,0 (6-10) | 9 9,2±7,6 (3-36) | 10 | 8,9±2,6 (7-15) | 0,9313 |
| GGT (UI/L) | (4,3-13,5) | 25 | 16,2±5,9 (5-32) | 9 18,6±3,4 (15-24) | 10 | 17,8±3,1 (14-23) | 0,5315 |
| ALP UI/L) | (143-395) | 25 | 284±87 (175-460) | 9 306±78 (221-432) | 10 | 247±100 (132-475) | 0,4135 |
| Creatinina (mg/dL) | (1,2-1,9) | 25 | 1,01±0,24 (0,63-1,54) | 9 1,04±0,34 (0,67-1,52) | 10 | 1,11±0,16 (0,81-1,40) | 0,5236 |
| Uréia (mg/dL) | (21,4-51,36) | 25 | 27,4±5,29 ^A (19-42) | 9 27,2±1,30 ^A (26-29) | 10 | 40,8±8,32 ^B (29-54) | 0,0001 |
| Proteínas Totais (g/dL) | (5,2-7,9) | 25 | 5,94±0,99 (4,3-7,6) | 9 6,48±0,73 (5,3-7,1) | 10 | 6,71±0,53 (5,7-7,7) | 0,0633 |
| Albumina (g/dL) | (2,6-3,7) | 25 | 2,13±0,49 (1,3-2,9) | 9 2,18±0,64 (1,3-2,8) | 10 | 2,4±0,22 (2,1-2,9) | 0,2144 |

¹Segundo Thrall (2006).

²Número total de amostras coletadas após o início dos tratamentos.

³Número total de amostras coletadas antes do início dos tratamentos, e que serviram como controle.

⁴Animais da mesma região que nunca apresentaram lesões cutâneas características de pitiose e que serviram como controle.

(González & Scheffer 2002), portanto mudanças significativas podem ser indicativas de doença crônica (Kaneko et al. 1997). A pitiose é uma doença de caráter crônico e as taxas séricas reduzidas de albumina sérica dos animais doentes em relação aos sadios, embora não significativas, podem estar relacionadas ao tempo em que as lesões estão presentes sem o envolvimento de lesões hepáticas devido ao tratamento.

As substâncias nitrogenadas são importantes na avaliação renal, geralmente feita pela dosagem de uréia e creatinina sérica (Finco 1997). Logo, os parâmetros dentro da normalidade para uréia, principalmente para os animais doentes, tratados ou não, são indicativos de que o tratamento preconizado não provocou lesões renais. O aumento dos níveis séricos de uréia pode ser devido a causas pré-renais ou pós-renais (González & Scheffer 2002) e estes fatores podem ter determinado a diferença estatística dos níveis dos animais sadios frente ao doente (Tabela 2).

Quanto às enzimas séricas, observou-se que os resultados variaram dentro da normalidade e sem diferença estatística entre os grupos estudados. A AST está presente em vários tecidos como fígado, músculo esquelético e cardíaco (Frape 1998) e pode ser utilizada para avaliação de lesões hepáticas nos equinos (Stockham 1995). Também, a ALT está presente em grande quantidade no fígado de pequenos animais, mas em ruminantes e equinos a AST é predominante e a enzima de escolha para determinação de lesões hepáticas. A GGT é uma enzima de membrana e está associada a uma série de tecidos (Meyer et al. 1998), principalmente ao tecido epitelial dos ductos renais e biliares (Kramer & Hoffman 1997). A colestase provoca aumento

dos níveis séricos da GGT e este tipo de lesão é mais bem avaliado por esta enzima do que pela ALP, por ter menor amplitude dos parâmetros e por estar a ALP associada a membrana de células de diversos tecidos e amplamente distribuída no organismo (Coles 1984).

Desta forma, não foram verificados parâmetros relacionados a proteínas, substâncias nitrogenadas ou enzimas séricas que permitam inferir que o tratamento tenha causado danos renais ou hepáticos. Outros tratamentos químicos, incluindo o iodeto de potássio, são preconizados, como cetoconazol, miconazol, fluconazol, intraconazol e anfotericina B (Miller 1981). Entretanto, com a dose de iodeto de potássio preconizada na presente pesquisa, nenhuma lesão aparente foi observada. Ainda, trabalhos futuros devem ser feitos para melhor evidenciar possíveis injúrias uma vez que o estado nutricional, tamanho da lesão, idade do animal, entre outros, são fatores que podem influenciar no sucesso do tratamento da doença (Leal et al. 2001).

CONCLUSÃO

O iodeto de potássio na dose de 55 mg/kg de peso vivo foi eficiente no tratamento da pitiose equina e não causa lesões hepáticas ou renais durante o tratamento.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alexopoulos C.J., Mims C.W. & Blackwell M. *Phylum Oomycota. Introductory mycology*. John Wiley & Sons, New York, 1996. p.683-737.
- Alfaro A.A. & Mendoza L. Four cases of equine bone lesions caused by *Pythium insidiosum*. *Equine Vet. J.*, 22:295-297, 1990.

- Bissonnette K.W., Sharp N.J.H. & Dykstra M.H. Nasal and retrobulbar mass in a cat caused by *Pythium insidiosum*. *J. Med. Vet. Mycol.*, 29:39-44, 1991.
- Chaffin M.K., Schumacher J. & Hooper N. Multicentric cutaneous pythiosis in a foal. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 201:310-312, 1992.
- Chaffin M.K., Schumacher J. & McMullan W. Cutaneous pythiosis in the horse. *Vet. Clin. North Am.: Equine Pract.*, 11:91-103, 1995.
- Cole E.H. *Patologia Clínica Veterinária*. 3ª ed., Manole, São Paulo, 1984. 566p.
- De Cock A.W.A.M., Mendonza L. & Padhye A.A. *Pythium insidiosum* sp. nov., the etiologic agent of pythiosis. *J. Clin. Microbiol.*, 25:344-349, 1987.
- Dykstra M.J., Sharp N.J.H., Olivry T., Hillier A., Murphy K.M., Kaufman L., Kunkle G.A. & Pucheu-Haston C. A description of cutaneous-subcutaneous pythiosis in fifteen dogs. *Med. Mycol.*, 37:427-433, 1999.
- Finco D.R. Kidney function, p.441-484. In: Kaneko J.J., Harvey J.W. & Bruss M.L. (Eds), *Clinical biochemistry of domestic animals*. 5th ed. Academic Press, New York, 1997.
- Fischer J.R., Pace L.W., Turk J.R., Kreeger J.M., Miller M.A. & Gosser H.S. Gastrointestinal pythiosis in Missouri dogs: eleven cases. *J. Vet. Diagn. Invest.*, 6:380-382, 1994.
- Foil C.S. Update on pythiosis (Oomycosis). *Proceedings of The North American Veterinary Conference*. Bayer Animal Health, Orlando, 1996, p.57-63.
- Foil C.S.O., Short B.G., Fadok V.A. & Kunkle G.A. A report of subcutaneous pythiosis in five dogs and a review of the etiologic agent *Pythium* spp. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.*, 20:959-966, 1984.
- Frape D. *Equine Nutrition & Feeding*. 2nd ed. Blackwell Science, Oxford, 1998. p.564.
- Goad M.E.P. Pulmonary pythiosis in a horse. *Vet. Pathol.*, 21:261-262, 1984.
- González F.H.D. & Scheffer J.F.S. Perfil sanguíneo: ferramenta de análise clínica, metabólica e nutricional. Avaliação metabólico-nutricional de vacas leiteiras por meio de fluidos corporais. Anais do 29º Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária, Gramado. SOMVERS, Porto Alegre, 2002. 1 CDRoom.
- Helman R.G. & Oliver J. Pythiosis of the digestive tract in dogs from Oklahoma. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.*, 35:111-114, 1999.
- Imwidthaya P. Human pythiosis in Thailand. *Postgrad Med. J.*, 70:558-560, 1994.
- Kaneko J.J., Harvey J. & Bruss M.L. *Clinical biochemistry of domestic animals*. 5th ed. Academic Press, San Diego, 1997. p.932.
- Kramer J.W. & Hoffmann W.E. Clinical enzymology, p.303-323. In: Kaneko J.J., Harvey J.W. & Bruss M.L. (Eds), *Clinical biochemistry of domestic animals*. 5th ed. Academic Press, New York, 1997.
- Leal A.T., Leal A.B.M., Flores E.F. & Santurio J.M. Pitiose. *Cienc Rural*, 31:735-743, 2001.
- Meireles M.C.A., Riet-Correa F., Fischman O., Zambrano A.F., Zambrano M.S. & Ribeiro G.A. Cutaneous pythiosis in horses from Brazil. *Mycoses*, 36:139-142, 1993.
- Mendoza L., Ajello L. & McGinnis M.R. Infections caused by the oomycetous pathogen *Pythium insidiosum*. *J. Mycol. Med.*, 6:151-164, 1996.
- Meyer D.J. & Haver J.W. Laboratory medicine testing: specimen interferences and clinical enzymology, p3-21. In: Meyer D.J. & Haver J.W. (Eds), *Veterinary Laboratory medicine: interpretation and diagnosis*. Saunders, Philadelphia, 1998.
- Miller R.I. Investigations into the biology of three 'phycomycotic' agents pathogenic for horses in Australia. *Mycopathologia*, 81:23-28, 1983.
- Miller R.I. Treatment of equine phycomycosis by immunotherapy and surgery. *Aust. Vet. J.*, 57:377-382, 1981.
- Miller R.I. & Campbell R.S.F. Experimental pythiosis in rabbits. *Med. Mycol.*, 21:331-341, 1983.
- Miller R.I. & Campbell R.S.F. Immunological studies on equine phycomycosis. *Aust. Vet. J.*, 58: 227-231, 1982.
- Miller R.I. & Campbell R.S.F. The comparative pathology of equine cutaneous phycomycosis. *Vet. Pathol.*, 21:325-332, 1984.
- Miller R.I., Olcott B.M. & Archer M. Cutaneous pythiosis in beef calves. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.*, 186:984-986, 1985.
- Miller R.I., Qualls C.W. & Turnwald G.H. Gastrointestinal phycomycosis in a dog. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 182:1245-1246, 1983.
- Moore-Landecker J. Zoospore fungi, p.33-79. In: Moore-Landecker E., *Fundamentals of the fungi*. Prentice Hall, New Jersey, 1996.
- Morton L.D., Morton D.G., Baker G.J. & Gelberg H.B. Chronic eosinophilic enteritis attributed to *Pythium* sp. in a horse. *Vet. Pathol.*, 28:542-544, 1991.
- Patton C.S., Hake R., Newton J. & Toal R.L. Esophagitis due to *Pythium insidiosum* infection in two dogs. *J. Vet. Intern. Med.*, 10:139-142, 1996.
- Purcell K.L., Johnson P.J., Kreeger J.M. & Wilson D.A. Jejunal obstruction caused by a *Pythium insidiosum* granuloma in a mare. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 205:337-339, 1994.
- Riet-Correa F., Ferreira J.L.M., Schild A.L. *Boletim do Laboratório Regional de Diagnóstico-UFPEL*. UFPEL, Pelotas, 1998. 55p.
- Santurio J.M., Monteiro A.B., Leal A.T., Kommers G.D., Sousa R.S. & Catto J.B. Cutaneous pythiosis insidiosa in calves from the Pantanal region of Brazil. *Mycopathologia*, 141:123-125, 1998.
- Santurio J.M., Leal A.M. & Leal T.A. Pitiose. Anais do 1º Simpósio Brasileiro Sobre Micoses Animais. UFRGS, Porto Alegre, 2000, p.28-44.
- Sathapatayavongs B., Leelachaikul P., Prachaktam R., Atichartakarn V., Srihojanart S., Trairatvorakul P., Jirasiritham S., Nontasut S., Eurvilaichit C. & Flegel T. Human pythiosis associated with Thalassemia Hemoglobinopathy Syndrome. *J. Infect. Dis.*, 159:274-280, 1989.
- Smith J.B., Padhye A.A., Maslin W.R., Hamilton C., McDonald R.K. & Woody B.J. Canine pythiosis – isolation and identification of *Pythium insidiosum*. *J. Vet. Diagn. Invest.*, 1:295-298, 1989.
- Stockham S.L. Interpretation of equine serum biochemical profile results. *Vet. Clin. North Am. Equine Pract.*, 11:391-414, 1995.
- Thianprasit M., Chairprasert A. & Imwidthaya P. Human pythiosis. *Curr. Top. Med. Mycol.*, 7:43-54, 1996.
- Thomas R. & Lewis D. Pythiosis. *Selec. Vet.*, 8:31-319, 2000.
- Thrall M.A. *Hematologia e bioquímica clínica veterinária*. Roca, São Paulo, 2006. 582p.