

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DA PARAÍBA
CAMPUS SOUSA
CURSO DE BACHARELADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

Yuri José de Souza Cavalcante Dias

CONIDIOBOLOMICOSE SISTÊMICA EM OVINO NO SEMIÁRIDO PARAIBANO

SOUSA – PB
2018

Yuri José de Souza Cavalcante Dias

CONIDIOBOLOMICOSE SISTÊMICA EM OVINO NO SEMIÁRIDO PARAIBANO

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Instituto Federal de
Educação, Ciência e Tecnologia da
Paraíba, Campus Sousa, como parte das
exigências para a conclusão do Curso de
Bacharelado em Medicina Veterinária.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Lisanka Ângelo Maia

SOUSA – PB

2018



INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DA PARAÍBA
CAMPUS SOUSA

CURSO SUPERIOR DE BACHARELADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

Título: “Conidiobolomicose Sistêmica em Ovino no Semiárido Paraibano”.

Autor: Yuri Jose de Sousa Cavalcante Dias,

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia da Paraíba, Campus Sousa como parte das exigências para a obtenção do título de Bacharel em Medicina Veterinária.

Aprovado pela Comissão Examinadora em: 04/ 10//2018

Professora Doutora Lisanka Ângelo Maia
Professor Orientador

Professor Doutor Vinicius Longo Ribeiro Vilela
IFPB – Campus Sousa
Examinador 1

Professora Doutora Amélia Lizziane Leite Duarte
IFPB – Campus Sousa
Examinador 2

Professora Doutora Patricy de Andrade Salles
IFPB – Campus Sousa
Examinador 3

“Escolha um trabalho que você ama e você nunca terá que trabalhar um dia sequer na vida.”

Confúcio

*Aos meus pais Alvaci e Martina,
por todos os incentivos e minha
avó Antônia Gonçalves de Souza
(in memorian), pela dedicação e
principalmente paciência com que
me dedicou toda a vida.*

*A minha namorada Vitória
Caroline por me apoiar nos
momentos mais difíceis, me dando
a força necessária para superar os
obstáculos ao longo de toda a
graduação.*

*A minha irmã Yalli, meu cunhado
Emanuel e meu sobrinho João
Emanuel, por me alegrar nos
momentos difíceis.*

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus por sempre me guiar nos momentos difíceis, mostrando-me sempre uma saída.

A minha orientadora Lisanka Ângelo Maia, por ter aceitado esta árdua tarefa, na realização deste trabalho.

Aos Doutores, Herly Carlos, Zeno Fixina, José Cleston e João Grigório pelos valorosos ensinamentos, na arte da medicina veterinária.

A toda turma 2014.1 do curso de Medicina Veterinária do IFPB São Gonçalo, colegas e amigos.

Aos amigos da “cavalgada” pelo apoio e companheirismo ao longo dessa jornada.

A minha colega Naiane Araújo, pela oportunidade de voluntariado em seu projeto de iniciação científica.

A toda equipe da Farmácia Veterinária Dr. Vacellos.

Agradeço em especial aos meus avós, José Manoel de Souza, Lourival Dias, Aldenora Dias, a meu primo e grande incentivador Joaquim Ubiracir, ao professor Adílio Azevedo grande mestre (*in memoriam*).

A todos aqueles que não foram citados, mais que de alguma forma contribuíram para o término desta graduação.

Muito obrigado!

RESUMO: Descreve-se um caso de conidiobolomicose rinofacial com metástases em um ovino, macho, 9 meses de idade, que foi atendido no Hospital Veterinário do Instituto Federal de Ciência e Tecnologia da Paraíba, apresentando dificuldade respiratória acentuada e progressiva, aumento de volume na porção rostral da cabeça e secreção purulenta bilateral fétida, com evolução de 21 dias. Esse animal era criado com outros 5 ovinos, incluindo jovens e adultos, no município de São Gonçalo, Sousa - PB, no quintal de uma casa e tinha acesso a uma espécie de quarto fechado com pouca ventilação contendo fezes e matéria orgânica em decomposição, o animal não tinha acesso a áreas de açudes ou alagadas. Acredita-se que o ambiente fechado, úmido, submetido a altas temperaturas e rico em matéria orgânica em decomposição favoreceu a proliferação de esporos. Devido o prognóstico desfavorável o animal foi eutanasiado e encaminhado para o Laboratório de Patologia Animal do IFPB para realização da necropsia. Macroscopicamente, ao corte sagital da cabeça, observou-se massa amarelada friável ocupando a porção rostral da cavidade nasal, estendendo-se ao palato causando fissuras. Ao corte, os linfonodos submandibulares e retrofaríngeos exibiam perda da arquitetura anatômica, com substituição do parênquima normal por conteúdo amarelado e friável associado a áreas avermelhadas. Nos pulmões, fígado, rins e coração foram observados nódulos amarelados multifocais a coalescentes, firmes, circundados por halo avermelhado. Microscopicamente, as lesões na cavidade nasal caracterizaram-se por áreas de necrose, circundadas por infiltrado inflamatório de neutrófilos, macrófagos e ocasionais células gigantes multinucleadas, associado a hifas intralésionais, às vezes, circundadas por Splendori-Hoepli. Lesões semelhantes foram observadas nos linfonodos, pulmões, fígado, coração e rins. Pelo GMS e PAS as hifas foram fortemente impregnadas em preto e fracamente coradas em rosa, respectivamente. Caracterizaram-se morfológicamente por serem largas, raramente septadas e por vezes apresentavam dilatação balonosa na extremidade. Observou-se imunomarcção das hifas em marrom para *C. lamproauges*. O diagnóstico foi realizado com base nos aspectos epidemiológicos, clínico-patológicos e imuno-histoquímica. Apesar de considerada endêmica em algumas regiões do Nordeste, poucos trabalhos descrevem essas características epidemiológicas. As lesões em outros órgãos caracterizaram metástase da cavidade nasal que possivelmente ocorreu por via linfática e hematogena. Metástases são frequentemente observadas na sua forma rinofaríngea. É importante incluir conidiobolomicose como diagnóstico diferencial de pitiose nasal, criptococose e neoplasias.

Palavras-chave: Pequenos ruminantes. *Conidiobolus* spp. Rinofacial. Esporos.

ABSTRACT: A case of rinofacial conidiobolomycosis with metastases in a male sheep, 9 months of age, was treated at the Veterinary Hospital of the Federal Institute of Science and Technology of Paraíba, presenting severe and progressive respiratory difficulty, increased volume in the rostral portion of the head and fetid bilateral purulent secretion, with evolution of 21 days. This animal was raised with 5 other sheep, including young and adults, in the municipality of São Gonçalo, Sousa - PB, in the backyard of a house and had access to a kind of closed room with little ventilation containing feces and decomposing organic matter. animal had no access to damp or flooded areas. It is believed that the closed environment, humid, subjected to high temperatures and rich in decomposing organic matter favored the proliferation of spores. Due to the unfavorable prognosis, the animal was euthanized and referred to the Animal Pathology Laboratory of the IFPB for necropsy. Macroscopically, at the sagittal cut of the head, there was a friable yellowish mass occupying the rostral portion of the nasal cavity, extending to the palate causing fissures. At the cut, submandibular and retropharyngeal lymph nodes exhibited loss of anatomical architecture, with normal parenchyma replaced by yellowish and friable contents associated with reddish areas. In the lungs, liver, kidneys, and heart, multifocal, yellowish, coalescing, firm nodules surrounded by reddish halo were observed. Microscopically, lesions in the nasal cavity were characterized by areas of necrosis, surrounded by inflammatory infiltrates of neutrophils, macrophages and occasional multinucleated giant cells, associated with intralesional hyphae, sometimes surrounded by Splendori-Hoepli. Similar lesions were seen in the lymph nodes, lungs, liver, heart and kidneys. By GMS and PAS the hyphae were strongly impregnated in black and weakly stained in rose, respectively. They were characterized morphologically because they were broad, rarely septate and sometimes presented balloon dilatation at the extremity. Brown hyphal immunostaining was observed for *C. lamprauges*. The diagnosis was made based on epidemiological, clinical-pathological and immunohistochemical aspects. Although considered endemic in some regions of the Northeast, few papers describe these epidemiological characteristics. The lesions in other organs characterized metastasis of the nasal cavity that possibly occurred by lymphatic and hematogenous way. Metastases are often observed in their rhinopharyngeal form. It is important to include conidiobolomycosis as a differential diagnosis of nasal pythiosis, cryptococcosis and neoplasias.

Keywords: Small ruminants. *Conidiobolus* spp. Rhinofacial. Spores.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	10
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	12
2.1 Etiologia e Patogenia	12
2.2 Epidemiologia	12
2.3 Apresentação Clínica	14
2.4 Patologia	15
2.5 Diagnóstico	16
2.6 Tratamento	17
3. Material e métodos	17
4. Relato de caso	18
5. DISCUSSÃO	22
6. CONCLUSÃO	24
7. REFERÊNCIAS	25

1. INTRODUÇÃO

O gênero *Conidiobolus* é um patógeno oportunista pertencente à classe dos Zigomicetos, ordem Entomophthorales, causador da conidiobolomicose em humanos e animais. É um fungo saprofítico encontrados normalmente no solo, vegetação em decomposição, ambientes úmidos, regiões tropicais e subtropicais (Gugnani, 1992). A infecção geralmente ocorre a partir de pequenas lesões de pele ou pela mucosa nasal após inalação dos esporos de fontes ambientais contaminadas (Sánchez et al., 2001).

Fungos do gênero *Conidiobolus* foram descritos afetando caninos (Bauer et al. 1997), equinos (Miller & Campbell 1982, Humber et al. 1989, Zamos et al. 1996), lhamas (Moll et al. 1992, French & Ashworth 1994), ovinos (Carrigan et al. 1992, Ketterer et al. 1992, Morris et al. 2001), veados (Stephens & Gibson 1997), caprinos e humanos (Tadano et al. 2005, Hoogendjik et al. 2006).

Dois formas clínicas da conidiobolomicose têm sido diagnosticada em ovinos. A forma rinofacial se caracteriza por um aumento de volume no vestíbulo nasal, união mucocutânea do nariz, pele da região anterior da face e lábio superior, apresentando lesões ulceradas na mucosa nasal e no palato duro (Riet-Correa 2007, Silva et al. 2007a). A outra forma é denominada nasofaríngea, pois afeta principalmente a região etmoidal, faringe e seios paranasais, o ovino pode apresentar dispnéia, secreção nasal, respiração ruidosa, assimetria crânio-facial e exoftalmia unilateral (Riet-Correa 2007, Silva et al. 2007a). A lesão pode estender-se da região nasofaríngea para os seios nasais, placa cribiforme, podendo invadir a órbita ocular e a região frontal do cérebro (Ketterer et al. 1992, Morris et al. 2001). Outros órgãos como pulmões rins, linfonodos, coração, fígado e vesícula biliar podem ser afetados (Carrigan et al. 1992, Silva et al. 2007b). No nordeste do Brasil, ambas formas de apresentação foram relatadas na Paraíba, Piauí, Bahia e Ceará (Silva et al., 2007), em ovinos no criatório semi-extensivo.

O hábito de pastar próximo ao solo é possivelmente um fator predisponente para a ocorrência da doença em ovinos, devido à inalação de conídios de fungos do solo ou de vegetação em decomposição (Aguiar et al., 2014; Silva et al., 2007b). A alta umidade e a temperatura promovem o crescimento desses fungos tanto no solo quanto na vegetação em decomposição, o que explicaria parcialmente a ocorrência de surtos durante os verões chuvosos (Furlan et al., 2010; Silva et al., 2007b), especialmente se ovinos são mantidas em áreas alagadas (Riet-Correa et al., 2008).

O diagnóstico de conidiobolomicose tem sido realizado com base nos achados clínicos, patológicos e principalmente no isolamento de *Conidiobolus* sp.

Em ovinos, o tratamento com o fluconazol (10 mg / kg de peso corporal) por via oral ou por via intravenosa a cada 3 dias e o tratamento com iodeto de potássio (1 g / dia durante 15 dias) foram ineficazes (Boabaid et al., 2008; Portela et al., 2010). Essas falhas poderiam ser explicadas pelo grau avançado de extensão das lesões apresentadas pelos animais no início do tratamento (Riet-Correa et al., 2008), ou por uma duração insuficiente do período de tratamento.

No Brasil, onde a doença é comum e a letalidade é de 100% (Aguilar et al, 2014; Silva et al, 2007a), a falta de resposta ao tratamento faz com que muitos produtores abandonar a ovinocultura (Carmo, 2012).

Tendo em vista a importância da doença e a ocorrência de um caso de conidiobolomicose sistêmica diagnosticado no hospital veterinário, apresentando características epidemiológicas distintas dos dados relatados na literatura nacional, uma vez que a doença ocorreu em criação intensiva e sem acesso a locais considerados de grande proliferação e ocorrência do *Conidiobolus lamprageus*, ressalta-se também a ocorrência de metástase na forma rinofacial ainda não relatado por outros autores, propondo estudar melhor esses fatores a fim de alertar produtores e médicos veterinários e despertar a necessidade de adoção de medidas preventivas. Portanto, o objetivo geral deste estudo é descrever os aspectos epidemiológicos, clínicos e patológicos de um caso de conidiobolomicose sistêmica em um ovino, diagnosticado no HV/IFPB, bem como compilar dados da literatura sobre essa doença em ovinos.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Etiologia e Patogenia

A conidiobolomicose é causada por fungos do gênero *Conidiobolus*, ordem *Entomophthorales*, classe *Zygomycetes*. Esses são fungos sapróbios, que ocorrem principalmente em regiões de clima tropical e subtropical, em áreas de alta umidade, sendo encontrado como parasita de insetos, vegetais em decomposição e solo (Fonseca et al. 1989, Almeida & Scully 2002).

O gênero *Conidiobolus* é frequentemente associado com rinite granulomatosa crônica no homem e nos animais (Aydogdu et al. 2001, Rane et al. 2002, Prabhu & Patel 2004, Hoogendijk et al. 2006, Thomas et al. 2006). Em animais os principais espécies diagnosticadas foram *Conidiobolus coronatus*, *C. incongruus* e *C. lamprageus* (Humber et al. 1989, Zamos et al. 1996, Morris et al. 2001).

O modo de transmissão do *Conidiobolus* spp. não está bem esclarecido, mas acredita-se que a infecção ocorra por inalação de esporos do solo durante o pastejo (Carrigan et al. 1992, Ketterer et al. 1992) ou no pernoite, visto que os conídios são ejetados a uma altura de mais de 2 cm do solo e assim poderiam atingir a mucosa nasal (Humber et al. 1989). Outra forma de contaminação ocorre por meio de conídios em insetos infectados (Humber et al. 1989) ou, ainda, através de plantas pontiagudas contendo estes conídios (Ketterer et al. 1992). Não há transmissão da doença entre os animais (Carrigan et al., 1992).

A resposta do organismo à infecção por um grande número de fungos é a formação de granulomas. Esses granulomas são produzidos nas principais doenças fúngicas. A resposta imune mediada por células está envolvida na formação do granuloma. A supuração também ocorre em certas doenças fúngicas (Levinson, W & Jawetz, E. 2002).

2.2 Epidemiologia

Conidiobolomicose frequentemente é relatada afetando rebanhos de ovinos no Brasil e no mundo (Carrigan et al. 1992, Silva et al. 2007b). Na Austrália *C. incongruus* foi isolado de ovinos com micose rinofacial e nasofaríngea (Ketterer et al. 1992, Carrigan et al. 1992). *Conidiobolus* sp. é relatado, também, afetando ovinos em Trinidad Tobago (Morris et al. 2001).

O hábito de pastejo próximo ao solo dos ovinos, é possivelmente um fator predisponente para a ocorrência da doença em ovinos, devido à inalação de conídios de fungos do solo ou de vegetação em decomposição (Aguiar et al., 2014; Silva et al., 2007b), o que possivelmente justifica a menor frequência da doença em outras espécies como caprinos e bovinos que apresentam hábito arbóreo ou com maior distância do solo (Kwon-Chung & Bennett 1992).

No Brasil, a doença foi descrita em ovinos, pela primeira vez, em 2007 no Piauí (Silva et al. 2007ab) e, posteriormente, na Paraíba (Riet-Correa 2007), Mato Grosso (Boabaid et al., 2008), Santa Catarina (Furlan et al., 2010) e Rio Grande do Sul (Vilela, et. al 2010). Entretanto, focos de conidiobolomicose também foram diagnosticados nos estados do Rio Grande do Norte (Portela et al., 2010) e Bahia (Peixoto et al., 2014). Nesse último Estado, além de ovinos, a doença também foi descrita em dois caprinos, causando lesões granulomatosas na cavidade nasal e na pele (Peixoto et al., 2014).

No estado do Piauí, conidiobolomicose é considerada endêmica (Silva et al., 2007b). Focos frequentes e recorrentes de conidiobolomicose são associados a períodos de alta precipitação pluviométrica. Entretanto, há registros de focos também no período seco, demonstrando que outros fatores, além da precipitação pluviométrica, contribuem para o surgimento dos casos (Aguiar et al., 2014). Em Mato Grosso (Boabaid et al., 2008) e Santa Catarina (Furlan et al., 2010), os focos foram também associados ao período chuvoso ou ao final das chuvas.

De acordo com Aguiar (2014), no Nordeste, a ocorrência de focos mesmo após o final do período de chuvas pode ser atribuída à presença de matéria vegetal decomposta das plantas aquáticas presentes à margem dos açudes, pois altos índices de umidade e altas temperaturas favorecem o desenvolvimento de fungos. Nas propriedades onde há mortalidade dos animais no período seco, as margens das aguadas podem ser as principais fontes de forragem verde, o que favorecem e intensificam o pastejo nessas áreas, aumentando a exposição dos animais aos agentes (Aguiar et. al., 2014). Em outros trabalhos, a presença de matéria orgânica nos locais de pastejo, associada à umidade, foram também relacionadas à ocorrência de focos (Carrigan et al., 1992; Silva et al., 2007a; 2007b; Boabaid et al., 2008; Riet- Correa et al., 2008).

Aguiar (2014) também descreve que focos de Conidiobolomicose ocorrerem com maior frequência nas propriedades que possuem açudes de maior perímetro, e o maior número de óbitos ocorrem nas propriedades com reservatórios mais volumosos, pois, por mais que haja uma redução no volume dos açudes, esses não secam e os animais têm acesso a áreas úmidas tanto no período seco quanto no chuvoso. Essas áreas úmidas são denominadas de

vazantes e possuem solo fértil e úmido, facilitando o desenvolvimento de plantas e formando um ambiente favorável para a proliferação de fungos.

A taxa de letalidade em ovinos é de 100%. Em 25 focos de conidiobolomicose descritos por SILVA et al. (2007b), no Piauí, a morbidade média anual, em 25 propriedades, variou de 2,4% a 3,4%, enquanto que a morbidade por propriedade variou de 0,1% a 14,3%, com uma letalidade de 100%. Esses dados, no seu conjunto, demonstram a importância da conidiobolomicose em ovinos no semiárido, o que, associado à ineficiência do tratamento, evidencia a necessidade de conhecer aspectos epidemiológicos da doença para determinar medidas de controle.

A ocorrência de focos com alta morbidade demonstra que os animais estão sendo muito expostos aos agentes. HUMBER et al. (1989) ressaltaram que as micoses causadas por fungos sapróbios não são facilmente adquiridas e que os hospedeiros precisam ser constantemente desafiados ou estar imunologicamente comprometidos para que a infecção ocorra. O pastejo nas áreas dos açudes onde há umidade, detritos de plantas e solo rico em matéria orgânica, seguramente expõe os animais aos agentes e favorece a ocorrência da enfermidade. Por outro lado, o estado nutricional satisfatório da maioria dos animais acometidos sugere que, em ovinos, fatores que conduzam a uma queda na imunidade não são necessários para o desenvolvimento da conidiobolomicose. (Ketterer et al. 1992) sugerem, também, que não é necessário depressão imunológica para a ocorrência da conidiobolomicose. Estudos em humanos são controversos quanto à necessidade de uma queda no estado imunológico e a ocorrência da conidiobolomicose, pois a doença acomete tanto pacientes saudáveis como aqueles com imunossupressão transitória (Ribes et al., 2000).

2.3 Apresentação Clínica

Duas formas clínicas da conidiobolomicose têm sido diagnosticada em ovinos. A forma rinofacial se caracteriza por um aumento de volume na parte anterior ou rostral da face, no vestíbulo nasal, união mucocutânea do nariz, além de lesões ulceradas na mucosa nasal e no palato duro (Riet-Correa 2007, Silva et al. 2007a).

A forma nasofaríngea da conidiobolomicose causa aumento da porção posterior da cavidade nasal, envolvendo a região etmoidal e tecidos ao redor, que é caracterizada como zigomicose rinocerebral. Além dos ossos etmoidais, podem estar afetados cornetos, seios paranasais, palato mole, órbita, faringe, músculos próximos e gânglios linfáticos locais. A lesão grave na cavidade nasal leva à exoftalmia e lesões oculares da órbita, que geralmente

são unilaterais, além de opacidade e ulcera de córnea, conjuntivite, inflamação do globo com corrimento ocular e cegueira unilateral. O curso clínico geralmente varia de 7 a 15 dias; no entanto, casos que persistem até 56 dias foram relatados (Ketterer et al., 1992; Morris et al., 2001).

Em ambas as apresentações podem ocorrer depressão, anorexia, emagrecimento progressivo e dificuldade respiratória, às vezes com ruídos respiratórios, corrimento nasal seroso ou muco-sanguinolento, aumento da frequência respiratória e cardíaca (Riet-Correa 2007, Silva et al. 2007a, Silva et al., 2007b).

2.4 Patologia

As alterações macroscópicas na cavidade nasal são observadas após a secção longitudinal da cabeça. Na conidiobolomicose nasofaríngea pode ser observado presença de massa nodular, com superfície granulosa, de coloração amarela ou branca com necrose da região etmoidal, cornetos, meatos nasais e seios frontais. Em alguns casos, a massa pode causar destruição dos ossos etmoidais e infiltrar a placa cribiforme e alcançando as meninges e atingindo a porção frontal do cérebro, além de região retro bulbar, com adesão ao globo ocular e cavidade orbital, projetando o olho para fora de sua órbita (Ketterer et al., 1992, Morris et al., 2001). É comum na maioria dos animais apresentarem lesões invadindo os pulmões e, mais raras, nos rins, linfonodos, coração, fígado, vesícula biliar, abomaso, intestinos (Carrigan et al. 1992, Silva et al. 2007b). Nódulos amarelados multifocais a coalescentes podem ser observados em todos os órgãos citados anteriormente.

Na conidiobolomicose rinofacial, apresenta áreas ulceradas de coloração marrom escura na cavidade nasal e deformidade facial com necrose e fistulas no palato duro e septo nasal na região média e rostral da cavidade nasal (Riet-Correa, 2007).

Histologicamente, caracterizam-se por inflamação crônica granulomatosa multifocal, com centro necrótico contendo imagens negativas de hifas largas circundadas por material amorfo eosinófilo caracterizando fenômeno Splendori-Hoepli. Ao redor da área de necrose há proliferação de tecido fibroso com infiltrado de neutrófilos, eosinófilos, linfócitos, células epitelióides, com numerosas células gigantes multinucleadas (Morris et al. 2001, Riet-Correa 2007).

Hifas ou fragmentos delas podem ser observadas em células gigantes ou livres, não relacionadas com material Splendore-Hoepli, mas circundadas por células inflamatórias, por vezes discretamente coradas pela eosina. Neovascularização, deposição de colágeno,

trombose vascular, congestão e hemorragia são observadas com frequência (Silva et al., 2007b)

Na impregnação pela prata-metanamina (método de Grocott), visualizavam-se hifas largas (6-25 μ m de largura), com paredes finas, pobremente septadas e com dilatação balonosa na extremidade. Os contornos destas hifas apresentação marcação enegrecida mais evidente que a área central. As paredes das hifas coram-se fracamente em rosa na coloração de ácido periódico de Schiff (PAS) (Silva et al., 2007b).

2.5 Diagnóstico

O diagnóstico baseia-se nos achados epidemiológicos como regiões de clima tropical, com altos índices pluviométricos, associado com as lesões granulomatosas, e histórico da doença na região. O diagnóstico definitivo é realizado por meio do isolamento e identificação do agente etiológico a partir do tecido lesionado e/ou por realização da técnica de reação de cadeia em polimerase (PCR) e imunohistoquímica (Kaufman et al., 1990). O conceito fundamental por trás da IHQ é a demonstração de antígenos (Ag) em secções de tecidos (frescos ou fixados em formol e emblocados em parafina) por meio de anticorpos (Ac) específicos (Ramos-Vara, 2005).

Para o isolamento o material coletado deve ser lavado em solução salina estéril acrescida de antibiótico (ampicilina 50mg/L), macerados e semeados em Agar Sabouraud Dextrose 2% (SDA) e Agar Sabouraud Dextrose acrescido de cloranfenicol (SDAC) e incubadas a 30°C por até 7 dias. A caracterização morfológica deve ser realizada através da técnica de microcultivo em lâminas e pela coloração com Lactofenol-Azul de Algodão (LPCB). No isolamento pode ser observado crescimento de colônias planas de coloração creme, lisas nos primeiros dias, e após 5 dias tornam-se rugosas e firmemente aderidas ao ágar. No microcultivo em lâminas coradas com Lactofenol-Azul de Algodão observam-se hifas com septos escassos e extremidades com dilatações globosas com papilas basais arredondadas proeminentes.

O diagnóstico diferencial deve ser realizado com outras rinites granulomatosas crônicas, em especial, com a pitiose causada pelo oomiceto *Pythium insidiosum* que cursa com achados clínico-patológicos semelhantes, porém provoca uma reação de Splendore-Hoeppli mais discreta e as hifas são mais finas e com paredes mais espessas (Pedroso et al., 2009).

2.6 Tratamento

Em ovinos, o tratamento com o fluconazol (10 mg / kg de peso corporal) por via oral ou por via intravenosa a cada 3 dias e o tratamento com iodeto de potássio (1 g / dia durante 15 dias) foram ineficazes (Boabaid et al., 2008; Portela et al., 2010). Essas falhas poderiam ser explicadas pelo grau avançado de extensão das lesões apresentadas pelos animais no início do tratamento (Riet-Correa et al., 2008), ou por uma duração insuficiente do período de tratamento. No Brasil, onde a doença é comum e a mortalidade é de 100% (Aguiar et al, 2014; Silva et al, 2007a), a falta de resposta ao tratamento faz com que muitos produtores abandonem a ovinocultura (Carmo, 2014).

3. Material e Métodos

Inicialmente realizou-se uma revisão da ficha de atendimento clínico na Clínica Médica de Grandes Animais e do protocolo de necropsia no Laboratório de Patologia Animal do HV/IFPB, de um caso de conidiobolomicose sistêmica em um ovino. Da ficha clínica e protocolo de necropsia extraíram-se informações como sexo, idade, raça, sinais clínicos, tempo de evolução, localização das lesões ou achados macroscópicos e microscópicos.

Adicionalmente realizou-se visita a propriedade a fim de identificar possíveis fatores de risco associados a ocorrência da enfermidade, como por exemplo, tipo de criação, local de pastejo, identificação da provável fonte de infecção, dados sobre o clima e geografia local, hábitos dos animais, número de animais acometidos, número de animais expostos, época de ocorrência, histórico de doença em anos anteriores, aparecimento de casos em propriedades vizinhas.

Para melhor detalhamento das lesões microscópicas revisou-se as lâminas histológicas do caso. Para caracterização do agente foi realizada colorações histoquímicas especiais como metenamina nitrato de prata de Grocott (GMS) e ácido periódico de Schiff (PAS). Adicionalmente, foi realizada imuno-histoquímica (IHQ) utilizando anticorpo policlonal não comercial anti-*Conidiobolus lampreauges*.

4. Relato de caso

Um ovino, macho, 9 meses de idade, foi atendido na Clínica Médica de Grandes Animais (CMGA) do Hospital Veterinário (HV) do Instituto Federal de Ciência e Tecnologia da Paraíba (IFPB), no dia 13/07/2016, apresentando aumento de volume no focinho, há aproximadamente 15 dias. Esse animal era oriundo de uma propriedade localizada no Núcleo II, distrito de São Gonçalo, Município de Sousa - PB. Clinicamente verificou-se dificuldade respiratória acentuada, aumento de volume na porção rostral da cabeça, secreção purulenta bilateral fétida, área amarelada e friável no palato duro (Figura 1A e B). A suspeita clínica inicial foi rinite micótica.



Figura 1A. Ovino recém-chegado, apresentando aumento de volume na porção rostral da cabeça. **B.** Observa-se material amarelado e friável no palato duro.

De um rebanho de 6 ovinos, incluindo jovens e adultos, apenas um animal foi afetado. Durante visita ao local, observou-se que esses ovinos eram criados em uma área urbana cercada e tinham acesso a um ambiente fechado (construção de alvenaria medindo aproximadamente 3 metros quadrados) sem ventilação contendo fezes e matéria orgânica em decomposição. Os animais eram confinados a noite nesse local e liberados somente na manhã do dia seguinte. (Figura 2 A e B). Alimentava-se de capim irrigado com águas do açude de São Gonçalo. Foi relatado pelo proprietário que em anos anteriores ovinos de locais próximos apresentaram quadro clínico semelhante.



Figura 2 A. Local onde os 6 animais eram criados. B. Local fechado contendo fezes e matéria orgânica em decomposição onde os ovinos pernoitavam.

O animal ficou internado durante 15 dias para acompanhamento da evolução clínica. Não foi utilizado tratamento com antifúngico. Durante o período de internação foi observado aumento de volume do linfonodos parotídeos, posição ortopneica (Figura 3 A e B) e dispneia com ruídos respiratórios. Diante do quadro clínico desfavorável o animal foi eutanasiado no dia 28/07/2016, o protocolo de eutanásia utilizado consistiu na administração de xilazina na dose de 0,3 mg /kg/IV, seguido de lidocaína pela via intratecal, e posteriormente encaminhado para o Laboratório de Patologia Animal do IFPB, para realização da necropsia.



Figura 3 A. Ovino apresentando aumento de volume da porção rostral da cabeça após quinze dias de internação. B. Ovino apresentando posição ortopneica devido à dificuldade respiratória.

Macroscopicamente, ao corte sagital da cabeça, observou-se massa amarelada friável ocupando a porção rostral da cavidade nasal, estendendo-se ao palato causando fissuras (Figura 4).



Figura 4. Corte sagital de cabeça. Observa-se massa amarelada, friável ocupando a porção rostral da cavidade nasal, estendendo-se ao palato causando fissuras.

Ao corte, os linfonodos submandibulares e retrofaríngeos exibiam perda da arquitetura anatômica, com conteúdo amarelado e friável associado a áreas avermelhadas. Nos pulmões, fígado, rins e coração foram observados nódulos amarelados medindo entre 1,0 a 3,0 cm de diâmetro, multifocais a coalescentes, firmes, circundados por halo avermelhado (Figura 5 A).



Figura 5. Linfonodos submandibulares e retrofaríngeos exibiam perda da arquitetura anatômica, com conteúdo amarelado e friável associado a áreas avermelhadas.

Microscopicamente, as lesões na cavidade nasal caracterizaram-se por áreas de necrose, circundadas por infiltrado inflamatório de neutrófilos, macrófagos e ocasionais células gigantes multinucleadas, associado a hifas intralesionais, às vezes, circundadas por Splendori-Hoepli. Lesões semelhantes foram observadas nos linfonodos, pulmões, fígado, coração e rins (Figura 6 A e B).

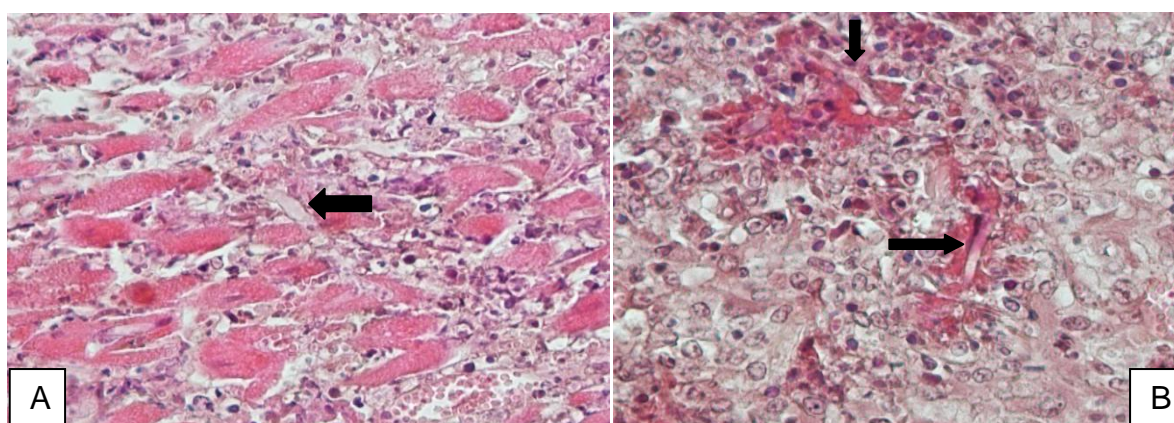


Figura 6. **A.** Coração, observam-se áreas de necrose associados a infiltrados inflamatórios granulomatosos e hifas intralesionais (seta). **B.** Pulmão presença de infiltrado inflamatório piogranulomatoso associados a hifas intralesionais (seta).

Pelo GMS e PAS as hifas foram fortemente impregnadas em preto e fracamente coradas em rosa, respectivamente. Caracterizaram-se morfológicamente por serem largas, raramente septadas e por vezes apresentavam dilatação balonosa na extremidade. Observou-se imunomarcagem das hifas em marrom para *C. lampreauges*.

5. DISCUSSÃO

O diagnóstico de conidiobolomicose sistêmica foi realizado com base nas características epidemiológicas, clínico-patológicos e confirmado através da imunohistoquímica.

Acredita-se que o ambiente fechado, úmido, submetido a altas temperaturas e rico em matéria orgânica em decomposição favoreceu a proliferação de esporos. O modo de transmissão do *Conidiobolus* spp. não está bem esclarecido, mas acredita-se que a infecção ocorra por inalação de esporos do solo durante o pastejo (Carrigan et al. 1992, Ketterer et al. 1992) ou no pernoite, visto que os conídios são ejetados a uma altura de mais de 2 cm do solo e assim poderiam atingir a mucosa nasal (Humber et al. 1989). Outra forma de contaminação ocorre por meio de conídios em insetos infectados (Humber et al. 1989) ou, ainda, através de plantas pontiagudas contendo estes conídios (Ketterer et al. 1992). Nesse caso, acredita-se que a presença de fezes (matéria orgânica em decomposição), associadas a umidade do ambiente fechado e a alta temperatura favoreceram a proliferação do fungo. Não foi relatado e observado abrasões na pele, sugerindo que contaminação pode ter ocorrido durante o pastejo ou no pernoite, através da inalação de esporos, presentes nesse local. Apesar da conidiobolomicose ser considerada endêmica em algumas regiões do Nordeste, poucos trabalhos descrevem essas características epidemiológicas, despertando-se a necessidade de mais estudos.

Na região Nordeste dentre os fatores que favorecem a ocorrência dessa enfermidade são pastejo nas áreas dos açudes onde há umidade, detritos de plantas e solo rico em matéria orgânica, que expõem os animais aos agentes e favorece a ocorrência da enfermidade (Aguilar et al., 2014). Nesse caso, foi informado que o animal não tinha acesso a açudes ou áreas alagadas e alimentação consistia de capim irrigado com águas do açude São Gonçalo e leite bovino, descartando a possibilidade de forma de contaminação.

A observação de lesões na porção rostral da cabeça estendendo-se para o palato duro, caracteriza a forma rinofacial da conidiobolomicose e foram semelhantes ao que tem sido descrito por outros autores (Riet Correa et al. 2003, Silva et al. 2007). Duas formas clínicas da enfermidade têm sido diagnosticadas: uma rinofacial, afetando o vestíbulo nasal, união mucocutânea do nariz, lábio superior, pele do focinho e região proximal da face e palato duro (Riet Correa et al. 2003, Silva et al. 2007); e outra, nasofaríngea, afetando a região etmoidal, conchas nasais, seios paranasais, palato mole, órbita, faringe, músculos e linfonodos regionais (Riet-Correa et al. 2007, Silva et al. 2007). No presente caso, chamou atenção a observação de

metástase associada à forma rinofacial, uma vez que, metástases nessa forma clínica são escassos, sendo observadas com mais frequência na apresentação nasofaríngea.

Microscopicamente as lesões na cavidade nasal caracterizam-se por áreas de necrose circundadas por infiltrado inflamatório de neutrófilos macrófagos e ocasionais células gigantes multinucleadas associadas a hifas intralesionais às vezes circundadas por material amorfo eosinofílico (fenômeno Splendore-Hoeppli), microscopia também observadas nos linfonodos, pulmão, fígado, coração e rins. Lesões semelhantes foram observadas por Pedroso et al., (2009).

Inicialmente as lesões observadas foram semelhantes à rinite por *Pythium insidiosum*, que causa doença com achados clínico-patológicos semelhantes, provoca uma reação de Splendore-Hoeppli mais discreta e as hifas são mais finas e com paredes mais espessas, (Pedroso et al., 2009), que deve ser considerado o principal diagnóstico diferencial. Nesse caso, a realização de imuno-histoquímica utilizando anticorpo *anti- C. lamprauges* permitiram essa diferenciação. Outras doenças que afetam a cavidade nasal como criptococose e neoplasias, também devem ser incluídas como diferencial.

6. CONCLUSÃO

Conclui-se que é de suma importância atentar-se para os aspectos epidemiológicos da conidiobolomicose a fim de assegurar medidas preventivas eficazes no controle da doença, assegurando assim que não haja perda produtivas. Ainda não há relatos da conidiobolomicose com as características epidemiológicas citadas anteriormente, nem tão pouco da evidência de metástase na forma rinofacial o que nos leva a crer que são necessários mais estudos com a finalidade de determinar a influência dessas características epidemiológicas na ocorrência da doença na região semiárida da Paraíba.

7. REFERÊNCIAS

- AGUIAR G.M.N., SIMÕES S.V.D., SANTOS S.A., MARQUES A.L.A., SILVA T.R., DANTAS A.F.M. & RIET-CORREA F. 2014. Aspectos epidemiológicos da conidiobolomicose em ovinos na região semiárida do Nordeste do Brasil. *Ciência Rural* 44:2210-2216.
- ALMEID O.P. & SCULLY C. 2002. Fungal infections of the mouth. *Braz. Oral Sci.* 1(1):19-26.
- AYDOGDU, I.; SARI, R.; MIZRAK, B. Case report. Rhinocerebral zygomycosis. *Mycosis*,44: 59-60, 2001.
- BAUER R.W., LEMARIÉ S.L. & ROY A.F. 1997. Oral conidiobolomycosis in a dog. *Vet. Dermat.* 8:115-120.
- BOABAID, F.M.; FERREIRA, E.V.; ARRUDA, L.P. et al. **Conidiobolomicose em ovinos no estado de Mato Grosso.** *Pesq. Vet. Bras.*, v.28, p.77-81, 2008. CARRIGAN, M.J.; SMALL, A.C.; PERRY, G.H. **Ovine nasal zygomycosis caused by Conidiobolus incongruus.** *Aust. Vet. J.*, v.69, p.237-240, 1992.
- CARMO R., ARENAS R., FERNANDEZ R.F. & ISA M. 2012. Rhinofacial conidiobolomycosis (entomophthoromycosis). *Clin. Dermat.* 30:409-412.
- CARRIGAN M.J., SMALL A.C. & PERRY G.H. 1992. **Ovine nasal zygomycosis caused by Conidiobolus incongruus.** *Aust. Vet. J.* 69(10):237-240
- FONSECA A.P.M., FONSECA W.S.M., LEAL M.J.S. & ARAÚJO R.C. 1989. Rinoentomofthoromicose: Relato de quatro casos. *Anim. Dermatol.* 64(5):261-265.
- FURLAN, F.H. et al. Conidiobolomicose causada por *Conidiobolus lamprauges* em ovinos no Estado de Santa Catarina. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v.30, n.7, p.529-532, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-736X2010000700003>>. Acesso em: 29 mset. 2018.
- FRENCH R.A. & ASHWORTH C.D. 1994. Zygomycosis caused by *Conidiobolus coronatus* in a llama (*Llama glama*). *Vet. Pathol.* 31:120-122.
- GUGNANI, H. **Entomophthoromycosis due to Conidiobolus.** *Eur J Epidemiol*, 8: 391-396,1992.
- HUMBER R.A., Brown C.C. & Kornegay R.W. 1989. Equine zygomycosis caused by *Conidiobolus lamprauges*. *J. Clin. Microbiol.* 27(3):573-576.
- HOOGENDIJK C.F., VAN HEERDEN W.F.P., PRETORIUS E., VISMER H.F. & JACOBS J.F. 2006. Rhino-orbitocerebral entomophthoromycosis. *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.* 35:277-280.
- KAUFMAN,L.;MENDOZA,L.;STANDARD,P.Immunodiffusion test for serodiagnosing subcutaneous zygomycosis.*J Clin Microbiol*,28: 1887-1890, 1990.

KETTERER P.J., KELLY M.A., CONNOLE M.D. & AJELLO L. 1992. Rhinocerebral and nasal zygomycosis in sheep caused by *Conidiobolus incongruus*. *Aust. Vet. J.* 69(4):85-87.

KWON-CHUNG K.J. & BENNETT J.E. 1992. *Medical Mycology*. Lea and Febiger, Philadelphia. 866p.

LEVINSON, W., & JAWETZ, E. (2002). *Microbiologia médica e imunologia* (7. ed.). Porto Alegre: Artmed. 309 p.

MILLER R.L. & CAMPBELL R.S.F. 1984. The comparative pathology of equine cutaneous phycomycosis. *Vet. Pathol.* 21:325-332.

MOLL H.D., SCHUMACHER J. & HOOVER T.R. 1992. Entomophthoromycosis conidiobolae in a llama. *J. Am. Vet. Assoc.* 200:969-970.

MORRIS M., NGELEKA M., ADOGWA A.O., LALLA G., ST-GERMAIN G & HIGGINS R. 2001. Rhinocerebral zygomycosis in a sheep. *Can. Vet. J.* 42:227-228.

PEDROSO, P.M.O.; RAYMUNDO, D.L.; BEZERRA JÚNIOR, P.S. et al. **Rinite micótica rinofaríngea em um ovino** Texel no Rio Grande do Sul. *Acta Sci. Vet.*, v.32, p.181-185, 2009.

PEIXOTO, T. C., FARIAS, S. S., MADUREIRA, K. M., MACÊDO, A. G. C., FILHO, C. H. C. V., LIMA, E. B., NAKAZATO, L., PESCADOR, C.A. 2014. Conidiobolomycose nasofaríngea e rinocerebral em ovinos no Estado da Bahia.

PORTELA, R.A. et al. Diseases of the nasal cavity of ruminants in Brazil. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 30, n. 10, p. 844-854, 2010. Available from: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-736X2010001000007>. Accessed: Out 01, 2018. doi:10.1590/S0100-736X2010001000007

PRABHU,R.;PATEL,R.Mucormycosis and entomophthoromycosis: a review of theclinical manifestations, diagnosis and treatment.*Clin Microbiol Infect*,1: 31-47, 2004.

RAMOS-VARA J. A. Technical aspects of immunohistochemistry. *Vet Pathol.* v.42, p. 405-426, 2005.

RIBES, J.; VANOVER-SAMS, C.; BAKER, D. Zygomycetes in human disease. ***Clin Microbiol Rev***, 13: 236-301, 2000.

RIET-CORREA, F.; DANTAS, A.F.M.; AZEVEDO, E.O. et al. **Outbreaks of rhinofacial and rhinopharyngeal zygomycosis in sheep** in Paraíba, northeastern Brazil. *Pesq. Vet. Bras.*, v.28, p.29-35, 2008. SILVA, S.M.M.S.; CASTRO, R. S.; COSTA, F.A.L. et al. Conidiobolomycosis in sheep in Brazil. *Vet. Pathol.*, v.44, p.314-319, 2007a.

SÁNCHEZ, S.; FREITAS, A.; ROBERTS, D. **Detección de hongos Entomophthorales patógenos a insectos fitófagos**, al sur de Bahia, Brasil. *Entomotropica*, 16: 203-206, 2001.

SILVA, S.M.M.S.; CASTRO S.C.; COSTA, F.A.L. et al. **Epidemiologia e sinais clínicos da conidiobolomycose em ovinos no estado do Piauí**. *Pesq. Vet. Bras.*, v.27, p.184-190, 2007b.

STEPHENS C.P. & GIBSON J.A. 1997. Disseminated zygomycosis caused by *Conidiobolus incongruus* in a deer. Aust. Vet. J. 75:358-360.

TADANO T., PAIM N.P., HUEB M. & FONTES C.J.F. 2005. Entomofotoromicose (zigomicose) causada por *Conidiobolus coronatus* em Mato Grosso (Brasil): relato de caso. Revta Soc. Bras. Med. Trop. 38(2):188-190.

THOMAS, M.; BAI, S.; JAYAPRAKASH, C.; JOSE, P.; EBENEZER, R. Rhinoentomophthoromycosis. Indian J Dermatol Venereol Leprol, 72: 296-299, 2006.

VILELA, R.; SILVA, S.M.; RIET-CORREA, F. et al. **Morphologic and phylogenetic characterization of *Conidiobolus lamprauges* recovered from infected sheep.** J. Clin. Microbiol., v.48, p.427-432, 2010.

ZAMOS D.T., SCHUMACHER J. & LOY J.K. 1996. Nasopharyngeal conidiobolomycosis in a horse. J. Am. Vet. Assoc. 208:100-101.