

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE RESIDÊNCIA EM ÁREA PROFISSIONAL DA SAÚDE
EM SAÚDE ANIMAL E COLETIVA**

ENTERITE SEGMENTAR POR *MUCOR* SPP. EM UM BOVINO

THAINÃ PICCOLO VARGAS

PORTO ALEGRE

2019

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE RESIDÊNCIA EM ÁREA PROFISSIONAL DA SAÚDE
EM SAÚDE ANIMAL E COLETIVA**

ENTERITE SEGMENTAR POR *MUCOR* SPP. EM UM BOVINO

THAINÃ PICCOLO VARGAS

Trabalho de Conclusão de Residência apresentado à Faculdade de Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul como requisito parcial para obtenção do grau de Especialista em Patologia Veterinária.

Orientador: Prof. Dr. Saulo Petinatti Pavarini

PORTO ALEGRE

2019

Vargas, Thainã Piccolo
Enterite Segmentar por Mucor spp. em bovinos /
Thainã Piccolo Vargas. -- 2019.
18 f.
Orientador: Saulo Petinatti Pavarini.

Trabalho de conclusão de curso (Especialização) --
Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade
de Veterinária, Residência em área profissional da
saúde em saúde animal e coletiva, sub área Patologia
Veterinária, Porto Alegre, BR-RS, 2019.

1. Doenças de bovinos. 2. Infecções fúngicas. 3.
Zigomicose. 4. Mucormicose. 5. Alimentar. I. Pavarini,
Saulo Petinatti, orient. II. Título.

THAINÃ PICCOLO VARGAS

ENTERITE SEGMENTAR POR *MUCOR* SPP. EM UM BOVINO

Aprovado em:

APROVADO POR:

Prof. Dr. Saulo Petinatti Pavarini
Orientador e Presidente da Comissão

Msc. Matheus Viezzer Bianchi
Membro da Comissão

Prof. Dr. André Gustavo Cabrera Dalto
Membro da Comissão

RESUMO

Mucormicose é uma infecção oportunista causada por fungos da ordem Mucorales, classe Zigomicetos, que na maioria das vezes é causada por *Rhizopus* e *Mucor* sp. Esses são amplamente distribuídos no ambiente, todavia, são necessários fatores predisponentes para estabelecimento da infecção. Em ruminantes, acidose ruminal, desnutrição e alimentação com conteúdo fibroso e seco podem favorecer a ocorrência de infecções fúngicas gastrointestinais. O presente estudo tem como objetivo descrever os aspectos patológicos, micológicos e moleculares de um caso de enterite segmentar por *Mucor* spp. em uma vaca holandesa. Essa apresentava histórico de cinco meses de diarreia recidivante, frequentemente com sangue, com perda de peso associada e melhora clínica após o emprego de antimicrobianos. Todavia, nos últimos sete dias o bovino apresentou anorexia, diarreia, decúbito, seguido por morte. À necropsia, o intestino delgado exibia área segmentar de espessamento da parede na transição de jejuno-íleo associada a enrijecimento de tecido adiposo mesentérico em área focalmente extensa. Obstruindo parcialmente o lúmen do segmento intestinal afetado, havia massa polipoide esverdeada com superfície irregular multinodular amarelada, medindo 3,0 cm de diâmetro, e que ao corte era esbranquiçada com ocasionais áreas friáveis. Microscopicamente, a formação polipoide intestinal correspondia a intensa proliferação de tecido fibrovascular (tecido de granulação) com superfície difusamente ulcerada e necrótica, caracterizada por intensa deposição de fibrina entremeadada a debris necróticos amorfos basofílicos, circundados por intenso infiltrado inflamatório de neutrófilos degenerados. Em meio às áreas de necrose, foram observados múltiplos cortes transversais e longitudinais de hifas anofílicas, as quais se estendiam à submucosa e também envolviam vasos sanguíneos, com trombose, degeneração fibrinoide e infiltrado neutrofílico associados. Na cultura fúngica, identificou-se *Mucor* sp. através de características morfológicas e confirmado através de PCR. A mucormicose intestinal é pouco descrita em bovinos, porém deve ser incluída como diagnóstico diferencial em casos de diarreia crônica em ruminantes associada a fatores predisponentes imunossupressores.

Palavras-chave: Alimentar, doenças de bovinos, identificação molecular, infecções fúngicas, mucormicose, zigomicose.

ABSTRACT

Mucormycosis is an opportunistic infection caused by fungi of the order Mucorales, class Zygomycetes, which is most often caused by Rhizopus and Mucor sp. These fungi are widely distributed in the environment; however, predisposing factors are essential for infection establishment. In ruminants, ruminal acidosis, malnutrition and poor fibrous diets may favor the occurrence of gastrointestinal fungal infections. The present study aims to describe the pathological, mycological and molecular aspects of a case of segmental enteritis caused by Mucor spp. in a Holstein cow. This cattle had a 5-month history of recurrent bloody diarrhea with weight loss, and clinical improvement after antimicrobial therapy. However, in the last 7 days, the cow developed anorexia, diarrhea, decubitus, followed by death. At necropsy, the small intestine had a segmental jejuno-ileal wall thickening associated to focally extensive hardened mesenteric adipose tissue. Partially obstructing the lumen of this segment, there was a greenish polypoid mass which had a yellowish multinodular and irregular surface, and measured 3.0 cm in diameter. On the cut surface, it was whitish with occasional friable areas. Microscopically, the small intestine polypoid mass corresponded to a severe fibrovascular tissue proliferation (granulation tissue) with a diffusely ulcerated and necrotic surface, characterized by an intense fibrin deposition intermixed by basophilic necrotic debris and surrounded by a marked inflammatory infiltrate of degenerate neutrophils. Within the necrotic areas, multiple transverse and longitudinal cut sections of amphophilic hyphae were observed, which extended to the submucosa and also involved blood vessels, with thrombosis, fibrinoid degeneration and neutrophilic infiltrate associated. Fungal culture yielded Mucor sp. through morphological characteristics, and confirmed by PCR. Intestinal mucormycosis is poorly described in cattle, but it should be included as a differential diagnosis in cases of chronic diarrhea in ruminants when associated to immunosuppressive predisposing factors.

Key words: *Alimentary, cattle diseases, molecular identification, fungal infections, mucormycosis, zygomycosis.*

LISTA DE ABREVIATURAS

GI	Gastrointestinal
GMS	Prata metenamina de Grocott
HE	Hematoxilina e eosina
OBJ	Objetiva
PAS	Ácido periódico de Schiff
PCR	Reação em cadeia da polimerase
SPV	Setor de Patologia Veterinária
UFRGS	Universidade Federal do Rio Grande do Sul

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	9
2 RELATO DE CASO.....	10
2.1 Materiais e Métodos	10
2.3 Resultados	11
2.4 Discussão	12
3 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	16
REFERÊNCIAS	17

1 INTRODUÇÃO

Zigomicoses são infecções fúngicas que acometem animais e seres humanos, causadas por fungos da classe Zigomicetos, os quais são subdivididos em duas famílias: Entomophthoraceae e Mucoraceae. Nessa última, *Rhizopus*, *Mucor* e *Absidia* sp. são os gêneros frequentemente envolvidos com doença (IKEDA *et al.*, 1987; JENSEN *et al.*, 1994; MORTON *et al.*, 2012; CHOI *et al.*, 2016; UZAL, PLATTNER & HOSTETTER, 2016). A infecção é denominada mucormicose, e os fungos podem ser encontrados de forma ubíqua em vegetação, no solo e em alimentos (ORTEGA *et al.*, 2010). Além disso, exibem crescimento rápido, com produção de esporos, os quais podem ser transportados pelo ar. Dessa forma, a exposição aos fungos pode ser ampla; todavia, a infecção tem maior relação com o estado imune do indivíduo (MORTON *et al.*, 2012; CHOI *et al.*, 2016).

Mucormicoses em bovinos acometem frequentemente os pré-estômagos, principalmente rúmen e o omaso, seguido por retículo e abomaso após episódios de acidose ruminal, mastite, período periparto, ou subsequente à imunodepressão e ao uso prolongado de antimicrobianos (IKEDA *et al.*, 1987; JENSEN *et al.*, 1994; UZAL, PLATTNER & HOSTETTER, 2016). Como esses fungos têm a propensão de invadir vasos, há frequentemente trombose e infarto associados, além de disseminação hematogena, com acometimento hepático (JENSEN *et al.*, 1994; UZAL, PLATTNER & HOSTETTER, 2016). Apesar de serem encontrados em qualquer nível do trato gastrointestinal, o envolvimento intestinal em bovinos é raro (JENSEN *et al.*, 1994; UZAL, PLATTNER & HOSTETTER, 2016).

Este trabalho tem como objetivo descrever os achados clínicos, patológicos, micológicos e moleculares de um caso de enterite segmentar causada por *Mucor* spp. em uma vaca holandesa adulta.

2 RELATO DE CASO

2.1 Materiais e Métodos

Informações clínicas e epidemiológicas do caso foram obtidas através de anamnese com o proprietário e veterinário clínico responsáveis. O bovino morreu, e a necropsia foi realizada a campo, na propriedade rural situada na cidade de Rolante (29°39'03" S; 50°34'33" O) no estado do Rio Grande do Sul. O rebanho total era composto por 48 bovinos leiteiros (24 vacas lactantes e 24 novilhas), os quais recebiam alimentação composta por silagem de milho e campo nativo. O bovino era vacinado anualmente para raiva, clostridioses e leptospirose.

Após a análise macroscópica das lesões, fragmentos de diversos órgãos foram coletados e fixados em formalina tamponada neutra a 10%. As amostras foram fixadas por 24h, clivadas, processadas rotineiramente para histologia e coradas por hematoxilina e eosina (HE). Adicionalmente, cortes de intestino delgado e mesentério foram coradas pela técnica histoquímica de prata metenamina de Grocott (GMS) e ácido periódico de Schiff (PAS).

Amostras refrigeradas do intestino delgado (jejuno-íleo) e mesentério foram submetidas a cultivo fúngico. O inóculo inicial foi realizado em ágar Sabouraud enriquecido com dextrose e seletivo com cloranfenicol, seguido por incubação a 25 °C por sete dias. Amostras dos isolados obtidos foram submetidas a reação em cadeia da polimerase (PCR). O DNA foi extraído através do PureLink™ genomic DNA mini kit (Invitrogen), seguindo recomendações do fabricante. A identificação molecular foi realizada por meio de primers específicos para identificação de *Aspergillus seção fumigati* (SERRANO *et al.*, 2011) e primers panfúngicos ITS3-F (5'-GCATCGATGAAGAACGCAGC-3') e ITS4-R (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'), que amplificam as regiões ITS1 e/ou ITS2 de genes fúngicos rDNA (WHITE *et al.*, 1990). A amplificação do PCR foi realizada em um volume total de 25 µL contendo 1 µL de extrato de DNA, 12,5 µL de Qiagen Taq PCR Master Mix (Qiagen, Hilden, Germany) e 0,5 µL de cada Primer (para uma concentração final de 0,2 µM de cada primer). A amplificação foi realizada para um total de 35 ciclos da seguinte forma: desnaturação a 94 °C por 30 s, anelamento a 57 °C para 90 s, extensão a 72 °C por 1 min, e extensão final de 10 min a 72 °C. O amplicon foi separado em gel de agarose a 2%, purificado usando a extração rápida do gel de PureLink® e o jogo combinado da purificação do PCR (Invitrogen) de acordo com as instruções do fabricante. O sequenciamento foi realizado em um sequenciador automatizado de DNA ABI-3500 (Applied Biosystems, Foster City, USA). As análises foram realizadas utilizando-se o software BIOEDIT. O alinhamento da sequência foi

realizado para comparar a sequência obtida com outras de *Mucor* spp. obtidas na base de dados GenBank.

2.3 Resultados

Um bovino, Holanês, fêmea, 10 anos de idade, pós parto (2 meses), apresentava histórico de cinco meses de diarreia crônica sanguinolenta e perda de peso. O bovino foi submetido a diversos tratamentos com antimicrobianos e transferência de conteúdo ruminal por sonda, com aparente melhora clínica. No entanto, em um curso de sete dias, o bovino teve novos episódios de diarreia com sangue, evoluindo para anorexia, decúbito e morte.

À necropsia, o bovino apresentava magreza e mucosas pálidas. O intestino delgado exibia área segmentar focalmente extensa de espessamento da parede envolvendo o jejuno distal e íleo proximal com múltiplas petéquias e equimoses na camada serosa, além de intenso enrijecimento do tecido adiposo mesentérico adjacente (15,0 x 10,0 x 5,0 cm) (Figura 1A), por vezes circundando o intestino grosso. Obstruindo parcialmente o lúmen neste segmento de intestino delgado, havia uma formação polipoide esverdeada macia a firme com superfície multinodular irregular e amarelada, medindo 3,0 cm de diâmetro (Figura 1B). Na superfície de corte, a massa era predominantemente esbranquiçada com ocasionais áreas friáveis. Não foram observadas alterações macroscópicas nos pré estômagos e nos linfonodos mesentéricos, assim como nos demais seguimentos intestinais.

Microscopicamente, a estrutura polipoide do intestino delgado correspondia a intensa proliferação de tecido fibrovascular (tecido de granulação) recoberta por superfície difusamente ulcerada, com intensa deposição de fibrina entremeada a debris necróticos amorfos basofílicos, os quais eram circundados por intenso infiltrado inflamatório de neutrófilos degenerados. Estendendo-se da superfície ulcerada à submucosa, havia múltiplos cortes transversais e longitudinais de hifas anfófilas (Figura 1C). Essas eram também observadas no interior de vasos sanguíneos (Figura 1D), associadas à trombose e degeneração fibrinoide da parede de vasos, além de infiltrado marcado de neutrófilos, linfócitos, macrófagos e eosinófilos. O tecido adiposo mesentérico adjacente exibia áreas multifocais a coalescentes de necrose associada a intenso infiltrado de neutrófilos, além de degeneração fibrinoide de vasos sanguíneos e trombose. Os pré estômagos e linfonodos mesentéricos não exibiam alterações microscópicas.

Através das colorações de GMS e PAS do intestino delgado, obteve-se evidenciação das hifas fúngicas, as quais eram espessas (6,0 - 8,0 µm de largura), ramificadas de forma irregular, não dicomatosas, não septadas, mediam de 10 – 70 µm de comprimento e exibiam dilatações bulbosas nas extremidades (Figuras 1E e 1F). As secções de mesentério não

demonstraram estruturas fúngicas. No PAS observou-se marcada degeneração fibrinoide de parede de vasos em secções de intestino delgado e mesentério (Figuras 1E e 1F).

Após cultivo em ágar Sabouraud dextrose com cloranfenicol, obteve-se crescimento de *Mucor* sp. após sete dias a partir de amostras de intestino delgado e tecido adiposo mesentérico.

Após análise filogenética da sequência obtida, obteve-se 99% de identidade do gene ITS com uma sequência de *Mucor* sp. (número de acesso KP903507).

2.4 Discussão

O diagnóstico de enterite segmentar fúngica por *Mucor* spp., no presente estudo, foi obtido através da associação dos achados epidemiológicos, clínicos, patológicos, micológicos e moleculares. Fatores predisponentes podem estar relacionados à ocorrência da condição, como tratamentos por longos períodos com antimicrobianos, corticosteroides, estresse no período periparto e acidose ruminal (IKEDA *et al.*, 1987; JENSEN *et al.*, 1994; CHIHAYA *et al.*, 1992). No presente caso, sugere-se que o estresse pós-parto, o emprego de antimicrobianos por longos períodos, devido à diarreia crônica, favoreceram a patogênese da condição, de forma similar ao previamente descrito (ORTEGA *et al.*, 2010).

A zigomicose gastrointestinal tem como principal porta de entrada a mucosa, e a invasão fúngica geralmente ocorre de forma secundária a outras condições que causam danos às mucosas (UZAI, PLATTNER & HOSTETTER, 2016). Todavia, de forma distinta ao presente trabalho, em bovinos, fungos zigomicetos, como *Mucor* spp., são observados predominantemente após episódios de acidose ruminal causada por sobrecarga de grãos em lesões ulceradas ruminais (NJAA *et al.*, 2012; UZAI, PLATTNER & HOSTETTER, 2016). A invasão vascular que resulta em trombose, infarto, necrose e hemorragia é uma lesão característica de zigomicetos, os quais podem se disseminar para múltiplos órgãos (CHOI *et al.*, 2016). De forma similar, no presente estudo inúmeras estruturas fúngicas foram observadas no interior de vasos da submucosa do intestino delgado e, apesar de não terem sido observados em meio ao tecido adiposo mesentérico, provavelmente resultaram na necrose de gordura.

Em estudo realizado em bovinos de abate sem doença clínica prévia, observou-se linfadenite por zigomicetos em 194 casos, nos quais predominavam lesões granulomatosas e fibrose (ORTEGA *et al.*, 2010), assim como observado em um bovino com envolvimento de linfonodo mediastinal (NISHIMURA *et al.*, 2014). No presente caso, todavia, não foram observadas lesões nodais, o que possivelmente se deve ao curso agudo da condição, com lesões

microscópicas predominantemente necro-hemorrágicas, distintas às descritas previamente em linfonodos (ORTEGA *et al.*, 2010; NISHIMURA *et al.*, 2014).

Apesar de rara em bovinos, a mucormicose em humanos é comum e principalmente associada a doenças imunossupressoras como doença de Crohn, infecção por HIV e desnutrição (SPELLBERG *et al.*, 2005; MORTON *et al.*, 2012). De forma similar ao presente estudo, nesses casos a infecção é geralmente aguda e rapidamente fatal, envolvendo predominantemente o estômago, seguido por cólon, íleo, duodeno e jejuno (SPELLBERG *et al.*, 2005; MORTON *et al.*, 2012). Em bovinos as porções anteriores do trato digestório (rúmen e omaso) são frequentemente envolvidas com lesões ulcerativas e hemorrágicas causadas por mucormicoses (IKEDA *et al.*, 1987; JENSEN *et al.*, 1994). No presente caso, as lesões foram observadas predominantemente em jejuno-íleo e tecido adiposo mesentérico, com espessamento da parede intestinal, formações polipoides na luz do órgão, além de avermelhamento na camada serosa do intestino. A utilização prolongada de antimicrobianos e o estresse pós-parto são fatores importantes que contribuem e facilitam a infecção micótica em bovinos (JENSEN *et al.*, 1994), e, dessa forma, provavelmente favoreceram a dispersão do fungo ao trato digestório inferior e a posterior invasão fúngica sobre a mucosa intestinal, a qual é descrita como uma importante porta de entrada para infecções fúngicas sistêmicas (ANGUS, GILMORE & DAWSON, 1973).

Clinicamente, micoses gastrointestinais em bovinos podem cursar com febre, condição corporal ruim, diarreia e/ou melena, além de diminuição de movimentos ruminais (JENSEN *et al.*, 1994). Similarmente, o bovino do presente estudo apresentou perda de peso e diarreia crônica. Além dos aspectos clínicos, vacas em período pós-parto recebendo antimicrobianos por ao menos três dias são também mais suscetíveis a micoses gastrointestinais (JENSEN *et al.*, 1994), como observado no presente relato.

Microscopicamente, as lesões do presente estudo foram predominantemente agudas a subagudas, de forma similar às lesões previamente descritas envolvendo os pró-ventrículos de bovinos (JENSEN *et al.*, 1994) e em um equino com colite necrohemorrágica e disseminação fúngica para outros órgãos (THIRION-DELALANDE *et al.*, 2005). Além disso, as lesões microscópicas consistiram em extensas áreas de necrose intestinal com invasão fúngica tecidual e intravascular, causando trombose e degeneração fibrinoide, de forma similar ao descrito em outros órgãos afetados por zigomicoses ou outras afecções fúngicas (JENSEN *et al.*, 1994; FOSTER, 2017).

O termo zigomicose é amplo e utilizado apenas quando se obtém o diagnóstico histológico da infecção fúngica, sem que se obtenha isolado (KWON-CHUNG, 2012), visto que pode se obter esse diagnóstico através dos aspectos morfológicos das hifas, as quais são

largas, não septadas, com ramificação irregular e com dilatações bulbosas nas extremidades (CHANDLER, KAPLAN & AJELLO, 1980), como observado no presente caso. Ademais, como se obteve a identificação de *Mucor* spp., tanto através do cultivo como de métodos moleculares, a condição foi diagnosticada como mucormicose, visto que este é o termo empregado para a infecção causada por fungos da família Mucoraceae (NISHIMURA *et al.*, 2014). A reação em torno desses fungos é geralmente intensa e caracterizada por necrose, acúmulo de neutrófilos nas adjacências (CHIHAYA *et al.*, 1992), de forma similar ao observado.

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Enterite segmentar necrótica por *Mucor* spp. pode ocorrer em bovinos. O diagnóstico pode ser obtido a partir do exame histopatológico, técnicas de colorações especiais (GMS e PAS), cultivo fúngico e PCR. A técnica de PCR permitiu caracterizar a espécie fúngica envolvida, e determinar o quadro como mucormicose.

Os fatores predisponentes podem incluir fêmeas em período pós-parto em tratamento com uso prolongado de antimicrobianos.

As lesões ocorreram apenas no intestino delgado e mesentério, ao passo que os pré-estômagos e linfonodos não foram afetados.

A infecção fúngica intestinal pode ser considerada como um diagnóstico diferencial em casos de diarreia em bovinos.

REFERÊNCIAS

- ANGUS, K.W.; GILMOUR, N. J. L.; DAWSON, C. O. Alimentary mycotic lesions in cattle: A histological and cultural study. **Journal of medical microbiology**, v.6, p.207-213, 1973.
- CHANDLER, F. W.; KAPLAN, W.; AJELLO, L. **A colour atlas and textbook of the histopathology of mycotic diseases**. London, Wolfe Medical Publ. 1980, p.333.
- CHIHAYA, Y. *et al.* Disseminated mycosis in cattle. A study on nine autopsy cases. **Journal of veterinary medical science**. V.53(3), p.485-491, 1992.
- CHOI, W.; CHANG, T.T.; GILL, R.M. Gastrointestinal zygomycosis masquerading as acute appendicitis. **Case reports in gastroenterology**, v. 10, p.81-87, 2016.
- FOSTER, R.A. Female reproductive system and mammae. *In*: ZACHARY, J.F. **Pathology basis of veterinary disease**. 6th ed. St. Louis, Elsevier. 2017, Cap.18, p.1181-1182.
- IKEDA, T. *et al.* Mucormycosis in a cow. **Japanese journal of veterinary science**. V.49(3), p.527-530, 1987.
- JENSEN, H. E.; OLSEN, N.; AALBAEK, B. Gastrointestinal aspergillosis and zygomycosis of cattle. **Veterinary Pathology**, v. 31, p. 28-36, 1994.
- KWON-CHUNG, K. J. Taxonomy of fungi causing Mucormycosis and ntomophthoramycosis (zygomycosis) and nomenclature of the disease: molecular mycologic perspectives. **Clinical Infection Disease**, v. 54, n. Suppl. 1, p. S8–S15, 2012.
- MORTON, J.; NGUYEN, V. TAUSEEF A. Mucormycosis of the intestine: A rare complication in Crohn's disease. **Gastroenterology & Hepathology**, v.8, Issue 2, p. 137, Feb.2012.
- NISHIMURA, M. *et al.* Zygomycotic mediastinal lymphadenitis in beef cattle with ruminal tympany. **The Journal of Veterinary Medical Science**, v. 76, n. 1, p. 123-127, 2014.
- NJAA, B.J. *et al.* Gross lesions of alimentary disease in adult cattle. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 28, p. 483-513, 2012.
- ORTEGA, J. *et al.* Zygomycotic lymphadenitis in slaughtered feedlot cattle. **Veterinary Pathology**, v. 47 (1), p. 108-115, 2010.
- RADOSTITS, O. M. *et al.* **Veterinary Medicine: A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats**. 10. ed. St. Louis: Elsevier, p. 2156, 2007.
- SERRANO, R. *et al.* Rapid identification of *Aspergillus fumigatus* within the section Fumigati. **BMC Microbiology**, 11:82, 2011.
- SPELLBERG, B.; EDWARDS, J.Jr.; IBRAHIM, A. Novel perspectives on Mucormycosis: Pathophysiology, presentation and management. **Clinical microbiology reviews**, v.18, p.556-569, 2005.

THIRION-DELALANDE, C. *et al.* Disseminated acute concomitant Aspergillosis and Mucormycosis in a pony. **Journal of veterinary medicine.** v.52, p.121-124, 2005.

UZAL, F. A.; PLATTNER, B. L.; HOSTETTER, J. M. Alimentary system. *In*: MAXIE, M. G. **Jubb, Kennedy, and Palmer's Pathology of Domestic Animals.** V. 2, 6th ed. St. Louis, Elsevier, 2016. Cap. 1, p.1-257.

WHITE, T.J. *et al.* Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. *In*: INNIS, M.A.; GELFAND, D.H.; SNINSKY, J.J. & WHITE, T.J. (Eds.). **PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications.** New York: Academic Press Inc., 1990. p.315-322.