

Evaluación clínica e histopatológica de la Pythiosis cutánea en terneros del departamento de Córdoba, Colombia

Clinical and histopathology evaluation of cutaneous Pythiosis in calves the department of Cordoba, Colombia

José Cardona Á,^{1*} M.Sc, Marlene Vargas V,² Ph.D, Marco González T,³ M.Sc.

¹Universidad de Córdoba, Facultad de Medicina Veterinaria, Profesor de Medicina y Clínica de Grandes Animales, Semillero de Investigaciones en Medicina de Grandes Animales (MEGA), Grupo MECIVET, Montería, Colombia. ²Universidad Federal de Viçosa, Departamento de Medicina Veterinaria, Profesora de Patología, Viçosa, Brasil. ³Universidad de Córdoba, Facultad de Medicina Veterinaria, Instituto de Investigaciones Biológicas del Trópico (IIBT), Montería, Colombia. *Correspondencia: cardonalvarez@hotmail.com

Recibido: Marzo de 2012; Aceptado: Abril de 2013.

RESUMEN

Objetivo. Evaluar y caracterizar los aspectos clínicos e histopatológicos de la Pythiosis cutánea en terneros del departamento de Córdoba, Colombia. **Materiales y métodos.** Se realizó un estudio de tipo descriptivo, no probabilístico en animales por conveniencia. Fueron analizados 14 terneros con Pythiosis cutánea, a los cuales se les realizó caracterización clínica e histopatológica mediante tinciones de Hematoxilina-Eosina y Grocott. **Resultados.** Clínicamente, los animales presentaron lesiones cutáneas ulcerativas y húmedas con abundante exudación fibrino sanguinolenta, algunas tenían superficie irregular con nodulaciones y hemorragias, así como salida en algunos casos de material caseificado blanco amarillento. Las lesiones se ubicaron en la mayoría de los casos a nivel de las partes distales de los miembros y región ventro-lateral del cuello. Histopatológicamente, en coloración de Hematoxilina-Eosina se observó múltiples piogranulomas constituidos por área central con aglomerados de eosinófilos y pocos neutrófilos rodeados por macrófagos y células gigantes (reacción de Splendore-Hoeppli). En la coloración de Grocott se evidenciaron múltiples hifas intralesionales septadas y parcialmente ramificadas en ángulo recto de color café. **Conclusiones.** El diagnóstico definitivo de la enfermedad se basó en la epidemiología, características macroscópicas de las lesiones y en los hallazgos histopatológicos, siendo concluyente como métodos de diagnóstico de la Pythiosis cutánea bovina.

Palabras clave: *Pythium insidiosum*, dermatitis granulomatosa, bovinos (Fuente: MeSH).

ABSTRACT

Objective. Evaluate and characterize the clinical and histopathological aspects of cutaneous Pythiosis in calves the department of Córdoba, Colombia. **Materials and methods.** A descriptive, non-probabilistic, convenience study was conducted in animals. 14 calves with skin Pythiosis were analyzed, which underwent clinical and histopathologic characterization using hematoxylin-eosin and Grocott staining. **Results.** Clinically, the animals developed humid skin ulcers with abundant fibrin bloody exudation, some had irregular surface nodules and bleeding and in some cases, yellowish white caseous material. Lesions were located in most cases, on the distal parts of the limbs and the ventro-lateral region of the neck. Histopathologically, in hematoxylin-eosin staining, pyogranulomas and a multiple central area constituted by agglomerates of eosinophils and neutrophils, some of them surrounded by macrophages and giant cells (Splendore-Hoepli reaction) were observed. The Grocott stain showed multiple septate and partially branched, intralésional, straight, brown hyphae. **Conclusions.** The definitive diagnosis of the disease was based on epidemiology, macroscopic characteristics of lesions and histopathologic findings, as being conclusive diagnostic methods for bovine cutaneous Pythiosis.

Key words: *Pythium insidiosum*, dermatitis pyogranulomatosa, bovina (Source: MeSH).

INTRODUCCIÓN

La Pythiosis es una enfermedad piogranulomatosa y rápidamente progresiva causada por el *Pythium insidiosum*, un microorganismo clasificado en el Reino Stramenopila, Phylum Pseudofungi, Clase Oomycetes, Orden Pythiales, Familia Pythiaceae y Género *Pythium*, de modo que los miembros de la clase Oomycetes son filogenéticamente distantes del reino de los hongos y más cerca de las algas (1). Esta distancia taxonómica es reflejada en la composición de la pared y membrana celular; en este sentido, la quitina que es el componente esencial en la pared celular de los hongos no se encuentra en la pared celular de los Oomycetes, asimismo, en la membrana celular de los Oomycetes falta el esteroide ergosterol, de modo que no responde a la exposición a agentes antimicóticos que inhiben o se unen al compuesto (2). Igualmente, Biava et al (3), manifiestan que la Pythiosis pertenece a un complejo de enfermedades piogranulomatosas, que constituyen un grupo diverso de afecciones micóticas y pseudomicóticas de estrecha semejanza anatomopatológica que afecta a piel o tejido subcutáneo llamado zigomicosis.

La distribución geográfica de la Pythiosis es amplia y ha sido relatada en varios países con características agroecológicas de bosque húmedo tropical y subtropical (4), como Brasil, Venezuela, Colombia, Argentina, Costa Rica, Guatemala, Panamá, Nicaragua, Haití y los EUA, especialmente en estados próximos al Golfo de México (5), aunque los reportes en bovinos, sólo se han hecho en Estados Unidos, en el estado de Louisiana (6), en Venezuela, en el estado de

Apure (1) y en Brasil, en los estados de Campina Grande, Rio Grande do Sul, Matogrosso do Sul y Santa María (7-9).

La mayoría de reportes de la enfermedad se han realizado en la especie equina (10), sin embargo, se ha informado presentación de Pythiosis en otras especies como la canina (11), felina (12), ovina (13), aves migratorias (14), humanos (15) y en bovinos (7, 8), por lo que en Colombia sólo existen reportes en equinos, conociéndose como "ficomicosis o espúndia equina" (16), en Venezuela es llamada "granulomatosis enzoótica bovina" (1), en Brasil es conocida como "ferida brava, mal dos pântanos y ferida de moda" (17) y en otras partes del mundo como "dermatitis granular, sanguijuelas de la florida, hongo de la costa del golfo, bursatee e hifomicosis (18).

El diagnóstico es realizado por las condiciones epidemiológicas, las características macroscópicas de las lesiones y los hallazgos histopatológicos, así como el aislamiento del microorganismo en medios de cultivo; igualmente, en el examen directo del tejido, mediante la técnica con hidróxido de potasio al 10% y tinta Parker se pueden observar las hifas hialinas, espesas, ligeramente septadas y ramificadas (19).

Macroscópicamente, se caracteriza por la presencia de lesiones inflamatorias ulceradas y granulomatosas, con bordes irregulares y en forma de cráter, de diferentes tamaños, húmedas en la mayoría de los casos, puede presentar trayectos fistulosos con descarga

ocasional de material serosanguinolento o purulento blanco amarillento (20).

Histológicamente en la coloración de H-E, se observa marcada infiltración inflamatoria piogranulomatosa multifocal con infiltrado inflamatorio eosinofílico y neutrófilico, circundado por macrófagos y células gigantes y presencia de masas necróticas multifocales, así como intensa proliferación de tejido conjuntivo fibroso y áreas con elevado número de eosinófilos y mastocitos alrededor de las hifas formando el fenómeno Splendore-Hoeppli (SH). En la coloración de Grocott, se observa la presencia de estructuras ramificadas, ocasionalmente septadas que a veces forman ángulo recto, de color café oscuro, paredes lisas y paralelas, de 2,6 a 6,4 μM de tamaño (21).

El diagnóstico diferencial incluye dermatofitosis y granulomas bacterianos, igualmente las infecciones secundarias son frecuentemente observadas, y representan una dificultad adicional para el aislamiento del agente (22).

El presente estudio tuvo como objetivo evaluar y caracterizar los aspectos clínicos e histopatológicos de la Pythiosis cutánea en bovinos del departamento de Córdoba, Colombia.

MATERIALES Y MÉTODOS

Tipo de estudio. Se realizó un estudio de tipo descriptivo, no probabilístico en animales de conveniencia con presencia de lesiones cutáneas piogranulomatosas compatibles con Pythiosis.

Localización. El estudio fue realizado en el municipio de Ciénaga de Oro, Córdoba, Colombia, ubicado entre las coordenadas 7°23' y 9°26' de latitud norte y los 74°52' y 76°32' de longitud al oeste del meridiano de Greenwich, a una altura de 30 m.s.n.m, con temperatura promedio anual de 28°C, humedad relativa del 82%, precipitación media anual de 1400 mm y pertenece a la formación climática de bosque tropical lluvioso. Se presentan dos estaciones bien definidas (época de lluvia y época seca). El estudio de campo se realizó entre los meses de mayo y agosto de 2011.

Animales. Fueron utilizados 14 terneros de levante, provenientes de zonas bajas e inundables del municipio de Ciénaga de Oro, Córdoba, con edades comprendidas entre 11 y 14 meses, los cuales presentaron lesiones cutáneas ulcerativas y húmedas con abundante

exudación fibrino sanguinolento, con salida en algunos casos de material caseificado blanco amarillento compatibles con Pythiosis.

Metodología. Los animales no se sometieron a dolor y/o estrés innecesario, por lo que fueron inmovilizados teniendo en cuenta las normas técnicas en el manejo y sujeción de animales, enmarcado en el cumplimiento de la Declaración Universal de los Derechos de los Animales, referente a los principios éticos internacionales para la investigación biomédica con animales del CIOMS (Council for International Organizations of Medical Sciences) establecida por la UNESCO (United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization) y la OMS (Organización Mundial de la Salud) en 1949 y de la Ley 84 de Octubre 27 de 1989 (Estatuto Colombiano de Protección Animal) (23).

A todos los animales se les realizó evaluación clínica y caracterización anatomopatológica de las lesiones cutáneas, para lo cual se tomaron fotografías de alta definición para su posterior análisis. De igual forma, previa sedación y aplicación de anestesia local se tomaron biopsias de tejido tumoral ubicado en la periferia de la lesión ulcerosa y fijadas en formol al 10% (1, 8), posteriormente llevadas al laboratorio de histopatología del departamento de Veterinaria de la Universidad Federal de Viçosa, Brasil, donde fueron procesadas para la rutina de evaluación histopatológica incluidas en parafina, cortadas a 5 μm de espesor y teñidas con la coloración de H-E y Grocott. Los datos fueron organizados en tablas y analizados en forma descriptiva utilizando el Software Statistic 8.0.

RESULTADOS

Los componentes epidemiológicos, las características macroscópicas de las lesiones y las observaciones histopatológicas confirmaron el diagnóstico de Pythiosis cutánea en 14 terneros del departamento de Córdoba, Colombia; de acuerdo con lo reportado como método diagnóstico de la Pythiosis cutánea (1, 8, 9).

Los componentes epidemiológicos considerados fueron la presencia de zonas bajas con acumulo de agua, como represas, charcas y potreros inundables donde pastoreaban los animales (Figura 1), así como los meses del año en los cuales fueron estudiados los animales (mayo a agosto de 2011) que corresponden a la época lluviosa en la costa atlántica Colombiana, debido a que son factores de riesgo importantes para la presentación de Pythiosis cutánea (24, 25).



Figura 1. Presencia de potreros inundables donde pastan los terneros, ambiente propicio para la reproducción y supervivencia del *P. insidiosum*.

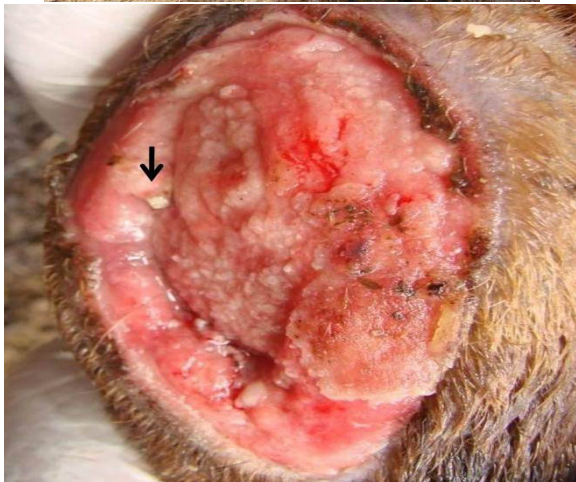


Figura 2. Ulceración granulomatosa, en forma de cráter de 7x5 cm, con presencia de material necrótico, superficie irregular con nodulaciones, exudación fibrino-sanguinolenta y salida de material caseificado a la compresión.

Las manifestaciones clínicas de las lesiones cutáneas consistían en ulceración granulomatosa, en forma de cráter, con presencia de material necrótico, superficie irregular con nodulaciones, exudación fibrinosanguinolenta y salida de material caseificado a la compresión (Figura 2). Las lesiones se ubicaron a nivel de porción ventro-lateral del cuello en un caso (Figura 3) y a nivel de la porción distal de los miembros en 13 casos (Figura 4), todos los animales presentaron pérdida de la condición corporal.

Todas las biopsias de tejido tumoral fueron teñidas con H-E y Grocott. En la coloración de H-E, se observó a nivel de la dermis profunda, múltiples piogranulomas multifocales constituidos por área central con aglomerados de eosinófilos y pocos neutrófilos rodeados por macrófagos y células gigantes, en las áreas entre los granulomas había proliferación de tejido conjuntivo suelto y neovascularizado, de igual forma se evidenció la presencia de áreas centrales de necrosis con elevado infiltrado inflamatorio mixto constituido



Figura 3. Lesión irregular de 4 x 2 cm, con material necrótico a nivel de la región ventro-lateral del cuello.



Figura 4. Lesión circunscrita en forma de cráter de 5x3 cm, con presencia de material necrótico a nivel de la porción distal de los miembros.

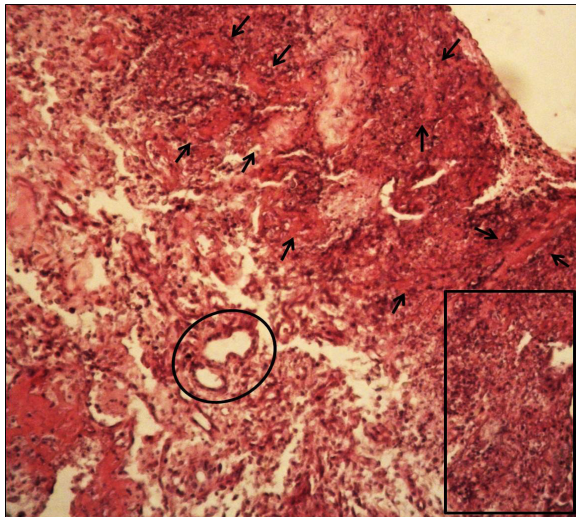


Figura 5. Dermatitis piogranulomatosa multifocal. Nótese la presencia de múltiples piogranulomas constituidos por área central con aglomerados de eosinófilos y neutrófilos (reacción de Splendore-Hoepli) "ver flechas", rodeados por macrófagos y células gigantes "ver círculo" y aglomerados multifocales de células mixtas "ver rectángulo". Tinción de H-E. 10x.

principalmente por eosinófilos y neutrófilos formando el fenómeno Splendore-Hoepli (Figura 5). De igual forma en la coloración de Grocott, se observaron hifas intralesionales de color café oscuro, ocasionalmente septadas y parcialmente ramificadas con paredes lisas y paralelas (Figura 6).

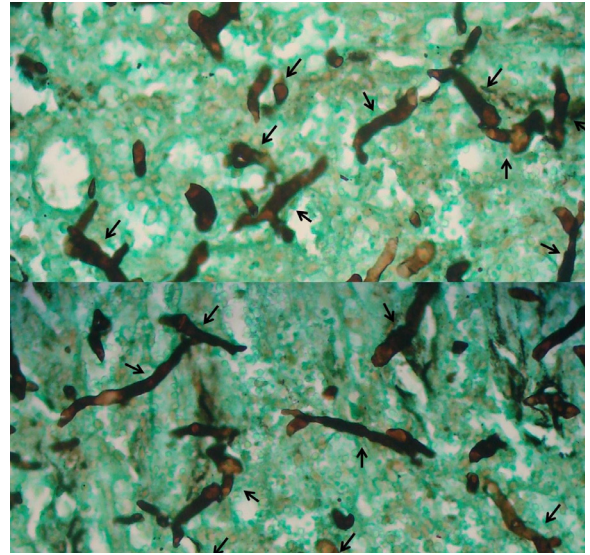


Figura 6. Hifas intralesionales de color café oscuro, ocasionalmente septadas y parcialmente ramificadas en ángulo recto, con paredes lisas y paralelas "ver flechas". Tinción de Grocott. 40x.

DISCUSIÓN

La Pythiosis bovina es considerada de baja incidencia y/o prevalencia, debido a que son pocos los reportes en la literatura científica, donde sólo existen informes de presentación confirmada en tres países que son Estados Unidos, Venezuela y Brasil (26). Sin embargo, es una de las causas más comunes de lesiones cutáneas en equinos principalmente en épocas lluviosas, donde se formen cuerpos de aguas e inundaciones; por lo que se prenden las alarmas en torno a la vigilancia de la enfermedad en equinos y bovinos en zonas inundables del departamento de Córdoba, Colombia, ya que las condiciones agroecológicas son determinantes para el desenvolvimiento del organismo en su ecosistema, debido a que para haber a producción de zoósporos son necesarias temperaturas entre 30 y 40°C y acúmulo de agua e inundaciones (16).

Las lesiones de los animales estudiados se ubicaron a nivel de la porción ventro-lateral del cuello y en la mayoría de los casos en las partes distales de los miembros, esto coincide

con Grecco et al (7), Santos et al (9, 17) y Silva et al (8), quienes afirman que las lesiones afectan particularmente las partes distales de los miembros, y en menor proporción abdomen, pecho y cola, indicando que probablemente se deba al mayor tiempo de contacto de heridas con aguas contaminadas con zoósporos de *P. insidiosum*, generando un tubo germinativo con secreción de enzimas proteolíticas que penetran activamente en los tejidos aumentando las presiones sobre ellos para su mayor penetración.

Las características de las lesiones de los animales del presente estudio fueron similares a las reportadas por Biava et al (3), Grecco et al (7), Silva et al (8), Santos et al (9,17), Gabriel et al (21), con formación de ulceraciones húmedas, irregulares y con nodulaciones granulomatosas, con bordes irregulares y algunas en forma de cráter y presencia de trayectos fistulosos formados por el pseudohongo en su proceso invasivo, por lo que después de una lesión las células muertas se comportan como cuerpo extraño, desencadenando una respuesta inflamatoria con la finalidad de promover la fagocitosis y permitir la reparación del tejido afectado.

Los hallazgos histopatológicos en la coloración de H-E y Grocott, se corresponden con los reportados en la literatura para el diagnóstico de la Pythiosis bovina (8), siendo la dermatitis piogranulomatosa, con eosinófilos y neutrófilos alrededor de áreas de necrosis (reacción de SH) los principales responsables por el daño tecidual extenso y rápido encontrado en la Pythiosis (27). En equinos, se sugiere que la producción de SH y la secreción de exo-Ags son las estrategias evolutivas desarrolladas por *P. insidiosum* para asegurar su proliferación en el tejido del hospedero, siendo la hipótesis soportada por el hecho de que hifas viables de *P. insidiosum* sean encontradas solamente dentro de la reacción eosinofílica en caballos, indicando que el agente pueda usarla para su sobrevivencia como mecanismo de defensa (28, 29).

Los datos epidemiológicos, anatomopatológicos y los hallazgos histopatológicos del presente estudio se correlacionaron en todos los terneros estudiados, indicando que esta correlación es un método diagnóstico confiable para la Pythiosis bovina, lo que concuerda con lo reportado por Gabriel et al (21), quienes realizaron

positivamente la correlación epidemiológica, clínica e histopatológica en 76 terneros con signología dermatológica compatible con Pythiosis.

Santos et al (9), estudiaron la enfermedad en animales de producción de cuatro propiedades rurales en el Pantanal Matogrosense, registrándose en bovinos de 0.15 a 3.64% de incidencia, con índices muy bajos de mortalidad, siendo mantenidos en sitios con acúmulos de agua, potreros inundados con poco drenaje y vegetación acuática abundante. Gabriel et al (21), reportaron un brote de Pythiosis bovina en terneros provenientes de la región pantanosa de Rio Grande do Sul, Brasil. Asimismo, Grecco et al (7) reportaron 23.8% de morbilidad en bovinos con presentación en forma de brotes agúdos. En Colombia solo existe un reporte de presentación de la enfermedad con una frecuencia de 38.5% en bovinos pertenecientes a 3 explotaciones ganaderas del departamento de Córdoba (30).

La edad de los animales del presente reporte se encontraba entre los 11 y 14 meses, coincidiendo con Grecco et al (7), Santos et al (9, 17) y Gabriel et al (21), quienes reportaron mayor presentación de Pythiosis en animales jóvenes. De igual forma para Frey et al (10) no existe predisposición, ni relación en cuanto a sexo, raza y edad de los animales con la presentación de la enfermedad.

Finalmente, a pesar de que la enfermedad sea más reportada en equinos, se debe prestar mucha atención a la presentación de la enfermedad en bovinos, y promover la realización de investigaciones sobre factores de riesgo, tasa de incidencia y prevalencia, debido a que esta enfermedad podría generar impacto económico negativo en la industria ganadera.

Agradecimientos.

Al laboratorio de patología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de Córdoba y Al laboratorio de histopatología y al laboratorio de biología control de hematozoarios y vectores/Bioágro del departamento de Veterinaria de la Universidad Federal de Viçosa, Brasil (DVT-UFV), por su apoyo incondicional en el procesamiento y análisis de las muestras.

REFERENCIAS

1. Luis-León J, Pérez R. Pythiosis: Una patología emergente en Venezuela. *Salus online* 2011; 15(1):79-94.
2. Vicarivento N, Puzzi M, Alves M, Zappa V. Pitiose: uma micose emergente nos humanos. *Rev Cient Elet Med Vet [En línea]* 2008 enero [Fecha de acceso 23 de abril de 2012]; 6(10). URL disponible en: <http://www.revista.inf.br/veterinaria10/revisao/edic-vi-n10-RL71.pdf>.
3. Biava J, Ollhoff D, Gonçalves R, Biondo A. Zigomicose em equinos-revisão. *Rev Acad Curitiba* 2007; 5:225-30.
4. Sallis E, Pereira D, Raffi M. Pitiose cutânea em eqüinos: 14 casos. *Cienc Rural* 2003; 33:899-903.
5. Rivierre C, Laprie C, Guiard-Marigny O, Bergeaud P, Berthelemy M, Guillot J. Pythiosis in Africa. *Emerg Infect Dis* 2005; 11(3):479-81.
6. Miller R., Olcott B.; Archer M. Cutaneous pythiosis in beef calves. *J Am Vet Med Assoc* 1985; 186:984-986.
7. Grecco F, Schild A, Quevedo P, Assis-Brasil N, Kommers G, Marcolongo-Pereira C, Soares M. Pitiose cutânea em bovinos na região Sul do Rio Grande do Sul. *Pesq Vet Bras* 2009; 29(11):938-942.
8. Silva T, Neto E, Medeiros J, Melo D, Dantas A. Pitiose cutânea em ruminantes. *Vet Zootec* 2011; 18(4, Supl. 3):871-874.
9. Santos C, Santurio J, Marques C. Pitiose em animais de produção no Pantanal Matogrossense. *Pesq Vet Bras* 2011b; 31(12): 1083-89.
10. Frey F, Velho J, Lins L, Nogueira C, Santurio J. Pitiose equina na região sul do Brasil. *Rev Port Cienc Vet* 2007; 102:107-111.
11. Pereira D, Schild A, Motta M, Figuera R, Sallis E, Marcolongo-Pereira C. Cutaneous and gastrointestinal pythiosis in a dog in Brazil. *Vet Res Commun* 2010; 34:301-306.
12. Rakich P, Grooters A, Tang K. Gastrointestinal pythiosis in two cats. *J Vet Diagn Invest* 2005; 17: 262-269.
13. Pedroso P, Raymundo D, Bezerra P, Oliveira E, Sonne L, Dalto A, Driemeier D. Rinite micótica rinofaríngea em um ovino Texel no Rio Grande do Sul. *Acta Scientiae Veterinariae* 2009; 37(2): 181-85.
14. Pesavento P, Barr B, Riggs S, Eigenheer A, Pamma R, Walker R. Cutaneous pythiosis in a nestling white-faced ibis. *Vet Pathol* 2008; 45:538-541.
15. Marques S, Bagagli E, Bosco S, Camargo R, Marques M. *Pythium insidiosum*: relato do primeiro caso de infecção humana no Brasil. *An Bras Dermatol* 2006; 81(5):483-485.
16. Cardona J, Reza L, Vergara O. Pythiosis cutânea equina en Córdoba, Colombia. Reporte de cinco casos. *Rev Cient, FCV-LUZ* 2010; 20(6): 590-594.
17. Santos C, Santuario J, Colodel E, Juliano R, Silva J, Marques L. Contribucao ao estudo da pitiose cutânea equina em equideos do pantanal norte, Brasil. *Ars Veterinaria* 2011a; 27(3): 134-140.
18. White S. Equine Bacterial and Fungal Diseases: A Diagnostic and Therapeutic Update. *Clin Tech Equine Pract* 2005; 4: 302-310.
19. Santurio J, Monteiro A, Leal A, Kommers G, Sousa R, Catto. Cutaneous Pythiosis insidiosus in calves from the Pantanal region of Brazil. *Mycopathologia* 1998; 141:123-125.
20. Pérez R, Luis-León J, Vivas J, Mendoza L. Epizootic cutaneous pythiosis in beef calves. *Vet Microbiol* 2005; 109: 121-128.
21. Gabriel A, Kommers G, Trost M, Barros C, Pereira D, Schwendler S, Santurio J. Surto de pitiose cutânea em bovinos. *Pesq Vet Bras* 2008; 28(12):583-587.
22. Leal A, Montero A, Flores E, Santurio J. Pitiose. *Ciência Rural, Santa Maria* 2001; 31(4): 735-743.
23. Mrad A. Ética en la investigación con modelos animales experimentales. Alternativas y las 3 RS de Russel. Una responsabilidad y un compromiso ético que nos compete a todos. *Revista Colombiana de Bioética* 2006; 1(1): 163-184.

24. Pereira D, Meirelles M. Pitiose. En: Riet-Correa F, Schild A, Lemos R, Borges J dir. Doenças de Ruminantes e Eqüídeos. Vol 1. 3ª ed. Brasil: Palloti; 2007.
25. Gaastra W, Lipman L, Cock A, Exel T, Pegge R, Scheurwater J, Vilela R, Mendoza L. *Pythium insidiosum*: An overview. *Vet Microbiol* 2010; 146:1-16.
26. Santurio J, Alves S, Pereira D, Argenta J. Pitiose: uma micose emergente. *Acta Scientiae Veterinariae* 2006; 34(1):1-14.
27. Mendoza L, Newton J. Immunology and immunotherapy of the infections caused by *Pythium insidiosum*. *J Med Mycol* 2005; 43: 477-486.
28. Martins T. Morfologia comparada da pitiose em cavalos, cães e bovinos. [Tese Mestrado em Medicina Veterinária]. Santa María (Brasil): Serviço de Publicações, Universidade Federal de Santa Maria; 2010.
29. Mosbah E, Karrouf G, Younis E, Saad H, Ahdy A, Zaghoul A. Diagnosis and Surgical Management of Pythiosis in Draft Horses: Report of 33 Cases in Egypt. *J Equine Vet Sci* 2012; 32(3):164-169.
30. Cardona J, Vargas M, Perdomo S. Frequency of presentation of bovine cutaneous pythiosis (*Pythium insidiosum*) in three cattle farms in Córdoba, Colombia". *Rev Ces Med Vet Zootec* 2012; 7(2):47-54.