

Zdzisław Gliński, Andrzej Żmuda

z Wydziału Medycyny Weterynaryjnej w Lublinie

Chociaż pierwsze przypadki pytiozy zdiagnozowano w 1884 r. u mieszkańców Tajlandii i lekarzy weterynarii w Indiach, a chorobę opisano rok później (1), to *Pythium insidiosum* wyizolowano po raz pierwszy w 1901 r. od koni w Indonezji i ponownie w 1924 r., zaś jego rolę jako przyczynę choroby ustalono dopiero 1987 r. W XXI w. pytioza ze względu na wzrost zachorowań jest uznawana za nowo zagrażającą chorobę głównie psów (1, 2) i ludzi (3). Sporadyczne zachorowania opisano u cieląt (4), kotów (5), owiec (6, 7), ptaków (8), jaguarów (9) i tygrysów (10) w ogrodzie zoologicznym.

Pytioza coraz częściej występuje w tropikach, subtropikach, a także w strefie klimatu umiarkowanego. Ostatnio stwierdzane przypadki choroby u koni i ludzi w Australii, u koni (11), psów (12) oraz ludzi w USA najprawdopodobniej mają związek ze zmianami klimatycznymi. Istnieje obawa, że choroba może zostać zawleczona nie tylko na tereny leżące w obszarze Morza Śródziemnego, ale nawet na tereny leżące dalej na północ.

## *Pythium insidiosum*

*Pythium insidiosum* (Oomycetes – łęgniowce, rząd Pythiales, rodzina Pythiaceae) zasiedla słodkie wody stojące, zwłaszcza bagna, stawy i jeziora oraz pola ryżowe, rzadko glebę (13). Występuje w dwóch formach: pseudomycelium i zoospor, które mają własności inwazyjne. Komórczakowate pseudomycelium kształtu rury nie ma przegród poprzecznych. Diploidalne i wielojądrowe strzępki pseudomycelium mogą się

## Pythiosis

Gliński Z., Żmuda A., Faculty of Veterinary Medicine, University of Life Sciences in Lublin

This review aims at the presentation of rare, sporadic infection in animals and humans, following contact with contaminated water. Pythiosis, caused by a water mould *Pythium insidiosum*, occurs primarily in dogs, horses and humans, but can also affect calves, sheep, cats, birds and even panthers and tigers. Susceptible hosts become infected after contact with motile zoospores, that invade the wounded skin when the animals wade in stagnant water containing this opportunistic organism. In dogs, pythiosis affects the gastrointestinal system and lymph nodes, and seldom the skin. The clinical symptoms include vomiting, weight loss, intermittent diarrhea and palpable masses in the abdomen. Expansion of the infection to the pancreas, mesenteric lymph nodes and bile ducts can occur. Extensive weight loss may be evident. Cutaneous pythiosis is the usual presentation in horses. Skin lesions are pyogranulomatous or fibrogranulomatous and tend to be progressive. In the horse the lesions are large (up to 45 cm), discharging swellings, usually on the extremities, ventral trunk or head. Yellow, necrotic masses termed “kunkers” or “leeches” can be removed intact from the granulomas. Nasal mucosa can be involved. The respiratory condition caused by inhalation of aerosolized *Pythium* spores is a *Pythium*-induced allergic syndrome. In humans, three forms of pythiosis are observed: granulomatous and ulcerative lesions involving the skin and subcutaneous tissues of the limbs and face, ophthalmic pythiosis causing keratitis, and systemic pythiosis with vascular involvement leading to vasculitis, thrombosis and aneurysms.

**Keywords:** *Pythium insidiosum*, pythiosis, dog, horse, humans.

rozgałęziać. Ściana grzybni jest zbudowana z celulozy i  $\beta$ -glukanów, błona cytoplazmatyczna nie zawiera ergosterolu. *P. insidiosum* rozmnaża się na drodze płciowej przez oogamię, tworząc w środowisku wilgotnym jednojądrzaste niezdołne do podziałów zoospory obdarzone wicią na przednim i tylnym końcu wydłużonego ciała (14). Wici tylna nadaje zoosporze ruch helikalny lub spiralny, a przednia wici pełni rolę steru (15). Istnieje też możliwość rozmnażania bezpłciowego. W badaniach *in vitro* izolatów *P. insidiosum* z kunkarów (nieregularne masy w zmianach w skórze i tkance podskórnej) koni z kliniczną postacią pytiozy skórnej po 24–48 godz. inkubacji w 37°C występuje rozmnażanie bezpłciowe, w wyniku którego tworzą się zoosporangia z około 30 inwazyjnymi zoosporami. Ta obserwacja jest o tyle ważna, ponieważ do zanieczyszczenia zbiorników wody słodkiej dochodzi najczęściej od koni z pytiozą skóry (16). Izolacja *P. insidiosum* z larw *Culex quinquefasciatus*, komara występującego w Indiach, świadczy o możliwości przeniesienia zakażenia przez komary, zwłaszcza w regionach tropików, gdzie one powszechnie występują (17).

Zoospory encystują przy kontakcie z uszkodzonymi lub gnijącymi tkankami roślin i zwierząt. Włosy, skóra, uszkodzona tkanka zwierzęca i roślinna, śluzówka jelit są dla zoospor chemoatraktantami natomiast glikoproteiny obecne na powierzchni zoospor umożliwiają ich adhezję do uszkodzonych tkanek (3, 13). Encystowane zoospory kiełkują pod wpływem temperatury ciała, a mechaniczne działanie rosnącej przeudogrybni (18) i wydzielane przez grzyb proteazy ułatwiają penetrację nitki grzybni do tkanek (19) i naczyń krwionośnych, co ułatwia rozprzestrzenienie zakażenia po całym organizmie oraz powstawanie zatorów w naczyniach krwionośnych (20).

Optymalna temperatura wzrostu *P. insidiosum* w warunkach *in vitro* wynosi 34–36°C, maksymalna 40–45°C. Dobrze rośnie na agarze Sabourauda w 25°C i 37°C, tworząc wrastające w podłoże przezroczyste lub barwy białej kolonie o nieregularnym promienistym kształcie oraz na agarze z wyciągiem roślinnym, agarze z wyciągiem drożdżowym, glukozą i wodą peptonową (21), agarze krwistym i agarze czekoladowym (22). W obrębie *P. insidiosum* wyróżniono trzy grupy (klady) filogenetyczne w zależności od pochodzenia geograficznego izolatów. Kład I tworzą szczepy z Ameryki Środkowej i Ameryki Południowej, kład II – szczepy z Azji i Australii, kład III – szczepy z USA i Tajlandii.

## Zakażenie

Głównym źródłem zakażenia jest woda, w której występują zoospory lub grzybnia, wrotami zakażenia są nawet drobne zranienia powłok ciała i przewód pokarmowy (12), u koni też jama nosowa (23). W tropikach pewną rolę jako wrota zakażenia odgrywają ukąszenia komarów, które mogą być wektorami mechanicznymi zoospor *P. insidiosum* (13).

O charakterze odpowiedzi immunologicznej na zakażenie *P. insidiosum* decyduje głównie odporność komórkowa związana z aktywowanymi makrofagami, komórkami tucznyymi i eozynofilami oraz pozostałymi

typami komórek zapalnych bezpośrednio zaangażowanych w silne i rozległe uszkodzenie tkanek zakażonego organizmu. Typ odporności uruchomiony przez *P. insidiosum* wpływa na strategię likwidacji zakażenia, co w efekcie przyczynia się do uszkodzenia komórek i pogorszenia stanu zdrowia (24). W zakażonym organizmie egzoantygeny *P. insidiosum* inicjują produkcję prozapalnych interleukin IL-4, IL-5 i IL-10 (25). Wzrost poziomu IL-4 i IL-5 oraz przeciwciał w klasie IgE stanowi potwierdzenie poglądu o modulacji Th2 w naturalnym zakażeniu ludzi i koni (26). Są też indukowane przeciwciała klas IgG, IgM i IgE. Ale przeciwciała klas IgG i IgM nie działają ochronnie. Natomiast ich obecność jest wykorzystywana w diagnostyce choroby. Natomiast przy udziale przeciwciał z klasy IgE i IL-5 powstaje nacieki komórek tucznych i eozynofiliów w miejscu zakażenia, czego efektem jest rozwój zapalenia i destrukcja strzępek grzybni *P. insidiosum* (24). Degranulacja eozynofiliów i komórek tucznych w miejscu rozwoju zakażenia jest przyczyną intensywnego świądu.

Wyłącznie u koni *P. insidiosum* inicjuje przy udziale komórek Th2 zjawisko Splendore-Hoeppli, związane odkładaniem się kompleksów antygen-przeciwciało i ulegających degranulacji eozynofiliów i komórek tucznych wokół strzępek grzybni. Powstaje amorficzny twór o twardej konsystencji przypominający koralowce, określane jako „kunker” barwy żółtoszarej, wielkości od ziarna ryżu do kilku centymetrów. Jest on utworzony z znekrotyzowanej tkanki, eozynofiliów i strzępek grzybni *P. insidiosum* o średnicy 4–10  $\mu$ m. Gromadzenie się eozynofiliów wokół kunkera zwiększa stopniowo jego wymiary (27).

## Pytioza koni

U koni pytioza występuje z reguły w dwóch postaciach klinicznych: skórnej (11) i jelitowej (28). Postać skórna jest najczęściej spotykana. Choroba może też dotyczyć płuc i jamy nosowej (23, 29), a także występuje jej postać uogólniona (30). Mogą też występować przerzuty do kości (31, 32), płuc (34), stawów i pochewek ścięgnistych (30, 32). Lokalizacja i charakter zmian zależą od miejsc ciała, które kontaktowały się z zoosporami w wodzie lub osiadłymi na roślinach wodnych. Dlatego najczęściej w postaci skórnej zmiany są usytuowane na kończynach i dolnych partiach brzucha. Natomiast w przypadku, gdy wrotami zakażenia są ukąszenia komarów, mogą one występować w dowolnych partiach ciała. Zachorowanie nie zależy od rasy, wieku i płci koni (11).

W postaci skórnej tworzą się często duże (7–15 cm), okrągłe wrzodziejące ziarniniaki (kunkery) utworzone z obumarłych komórek, eozynofiliów i strzępek grzybni *P. insidiosum* oraz powstają przetoki (27). Często występuje świąd, o czym świadczą ocieranie chorobowo zmienionych partii skóry o przedmioty w stajni lub gryzienie rany, prowadzące nawet do samoocaleczeń (32). Na skutek wtórnych zakażeń wyciek z przetok i owrzodzenia cuchną. Obecność kunkarów jest patognomiczną zmianą w pytiozie u koni. Nie występują one bowiem u innych gatunków zwierząt z pytiozą (33, 34). Postaci skórnej choroby towarzyszy często

zajęcie regionalnych podskórnych naczyń chłonnych i węzłów chłonnych, a następstwem krwawień i wysięków z owrzodzeń i przetok jest niedokrwiistość i hipoproteinemia. Zaatakowaniu kości, stawów i pochewek ścięgniastych przez *P. insidiosum* towarzyszy kulawizna. W biopatach z owrzodzonej skóry tkanka łączna włóknista przenika ze skóry właściwej do tkanki podskórnej, zwyrodniałe drobne naczynia krwionośne zawierają liczne zakrzepy, niedojrzała ziarnina otacza ogniska nacieków eozynofilii z fragmentami grzybni (35).

Postać jelitowa choroby rokuje niepomyślnie. Ze względu na właściwości angiotropowe i dużą inwazyjność *P. insidiosum* następuje uszkodzenie naczyń krwionośnych żołądka i jelit, rozwijają się obstrukcyjne włóknikowe zmiany ogniskowe. Zmiany z odźwiernika żołądka i dwunastnicy mogą rozszerzać się na trzustkę, sieć, węzły chłonne i dalsze partie narządów wewnętrznych (36). Typową reakcją na zakażenie jest w zajętych procesem chorobowym odcinkach przewodu pokarmowego naciek komórkowy złożony z makrofagów, wielojądrowych komórek olbrzymich, limfocytów, komórek plazmatycznych i eozynofili. Centrum powstających ognisk martwicy zawiera najczęściej strzępki grzybni otoczone przez komórki zapalne. Czasami ogniska martwicy pokrywa substancja białkowa najprawdopodobniej pochodząca z ziarnistości eozynofili. Rozległe zwłóknienie często jest przyczyną zwężenia zajętego procesem chorobowym odcinka jelita. W przypadku odźwiernika pojawiają się serie wymiotów, zaś w zajęciu dwunastnicy zatwardzenia. U wałacha w wieku dwóch lat z postacią jelitową choroby opisano zapalenie jelit cienkich i krezki oraz obecność w krezce licznych twardych zserowaciałych guzków (37). U araba wałacha w wieku siedmiu lat występował w ścianie owrzodzonego jelita bezkształtny twór (3 × 4 × 5 cm) zawierający liczne guzki, których centrum tworzyły znekrotyzowane eozynofile z nitkami grzybni *Pythium* otoczone naciekiem zdegenerowanych eozynofili i neutrofilii, nielicznych makrofagów, komórek olbrzymich. Błazka właściwa ściany jelita była przekrwiona, obrzękła, nacieczona przez eozynofile, z niewielką liczbą komórek plazmatycznych i limfocytów. W drobnych naczyniach krwionośnych występowały zakrzepy włóknika (38). Czasem u koni stosuje się podział na postać choroby związaną z występowaniem zmian chorobowych (lesional type) i postać oddechową (respiratory type). W postaci pierwszej zmiany w postaci tworów przypominających nowotwory (kunkery) i owrzodzenia dotyczą skóry, tkanki podskórnej lub przewodu pokarmowego, rzadko w chorobie o przebiegu przewlekłym – kości i płuc. Natomiast postać oddechowa jest zespołem o łagodnym przebiegu ze sporadycznym suchym kaszlem i surowiczym wyciekami z nozdrzy. Rozwija się ona w następstwie inhalacji zoospor *P. insidiosum*.

### Pytioza bydła i owiec

Opisano tylko kilkanaście przypadków choroby u bydła, cieląt i owiec. Pierwsze przypadki u cieląt opasowych wystąpiły w USA w 1985 r. (39), w Brazylii w 1998 r.

(40). Choroba występowała z reguły sporadycznie w rejonach subtropikalnych, najczęściej w porze deszczowej. Znane są też przypadki epizootii wśród cieląt w Wenezueli (4). Najczęściej chorują cielęta w wieku 1–6 mies. (około 85%) oraz w wieku 1–2 lat (około 15%). Zmiany w postaci ziarniniaków podobnych z wyglądu do nowotworów, owrzodzeń z przetokami lub bez przetok, są usytuowane na dolnych partiach kończyn. Zmianom towarzyszy bolesność, silny świąd i kulawizna. Większość chorych zwierząt nie może poruszać się, traci apetyt, ulega odwodnieniu i pada. Obecność pseudogrzybni można stwierdzić w centrum ziarniniaków zbudowanych głównie z eozynofili. Często do zmian dołączają się wtórne zakażenia bakteryjne, zarówno tlenowcami jak i beztlenowcami (4). Pérez i wsp. uważają, że w tropikach zakaźne *podo-dermatitis* u cieląt może mieć za przyczynę pierwotną zakażenie przez *P. insidiosum*, zaś beztlenowce odgrywają rolę wtórną w chorobie (4). Przemawia z tym m.in. fakt, że odsetek reaktywnych surowic u chorych cieląt w teście aglutynacji był wysoki, a w teście ELISA wynosił 100%.

U owiec z pytiozą eozynofilowe ziarniniaki mogą dotyczyć skóry różnych miejsc ciała, a także płuc, kości i pochewek ścięgniastych. Najczęściej jednak występują na kończynach, w okolicy brzucha i okolicy przedłopatkowej. Opisano także zapalenie śluzówki nosa i gardła spowodowane zakażeniem *P. insidiosum* (41). Zapalenie śluzówki jamy nosowej i gardła cechuje surowiczo–krwisty wyciek z otworów nosowych, obrzęk nozdrzy i skóry głowy. Proces chorobowy może rozszerzyć się na płuca, w których występowały rozsiane guzki o średnicy 0,5–2,0 cm. W jednym przypadku były powiększone przedłopatkowe węzły chłonne (6).

### Pytioza psów i kotów

U psów najczęściej występuje postać żołądkowo-jelitowa, rzadziej postać skórna, a bardzo rzadko postać uogólniona choroby (1), w której mogą być także zajęte procesem chorobowym kości i płuca. W postaci żołądkowo-jelitowej proces chorobowy obejmuje jeden lub kilka odcinków przewodu pokarmowego: żołądek, jelita cienkie, okrężnicę, odbytnicę, rzadko przełyk. W preparatach histologicznych z owrzodzonej i przerosłej śluzówki występuje naciek komórek plazmatycznych i makrofagów, komórek olbrzymich i eozynofili oraz pseudogrzybni *P. insidiosum*. Chorobę cechuje gorączka, utrata łaknienia, podkaszanie brzucha, ślinotoki, wymioty, silny spadek masy ciała, nawracająca biegunka, czasami kał zawiera domieszkę krwi. Badaniem palpacyjnym stwierdza się obecność obcych tworów w jamie brzusznej (12). Choroba może dodatkowo objąć trzustkę, węzły chłonne i przewody żółciowe (2). Zwykle choroba kończy się śmiercią (42).

Postać skórna pytiozy u psów występuje rzadko, przy tym częściej dotyka młodych psów z niedoborami immunologicznymi (2). Na skórze kończyn, twarzy lub na ogonie występują duże, okrągłe, drażące, ropiejące, swędzące i trudno gojące się rany oraz guzki z przetokami. Zmiany nie goją się samoistnie.

W preparatach histopatologicznych ze zmian stwierdza się nacieki eozynofilowe z małą ilością neutrofilów i makrofagów, i rozsiane drobne ogniska martwicy z nitkami grzybni w części centralnej.

U kotów pytioza dotyczy skóry i tkanki podskórnej (2). Bardzo rzadko występuje postać żołądkowo-jelitowa (5). Opisano u pantery postać płucną pytiozy, a u tygrysa postać jelitową (10). Przyczynę choroby ustalono po śmierci zwierząt. U tygrysa rozpoznanie potwierdzono badaniem serologicznym.

### Pytioza u ludzi

Istnieją dwa główne podziały kliniczne pytiozy u człowieka. W jednym podziale wyróżnia się trzy postaci: podskórną występującą u 9% pacjentów, układową (naczyniową) dotyczącą 50% chorych i oczną u 41% pacjentów. Postać układowa często dotyczy pacjentów z białaczką lub talasemią. Wszystkie postaci choroby mogą mieć przebieg ciężki i być odporne na leczenie (43). Postać podskórną cechuje obecność bolesnych zlokalizowanych w tkance podskórnej ziarniników, naciekających guzków lub wrzodów na rękach i nogach, czasami rozwija się ostre martwicze zapalenie tkanki łącznej. W postaci naczyniowej choroba dotyczy dużych naczyń krwionośnych i prowadzi do powstawania zatorów i tętniaków tętnicy udowej i aorty (20). Dla postaci ocznej typowe jest zapalenie i owrzodzenie rogówki.

W drugim podziale pytiozy wyróżnia się: postać skórą, która dotyczy twarzy lub kończyn i cechuje się zmianami ziarniniakowymi i owrzodzeniami. Postać naczyniowa występuje u około 59% pacjentów i najważniejszą zmianą są zaczerwienienia i tętniaki naczyń krwionośnych. Często występuje zespół niewydolności naczyń kończyn dolnych, chromanie, martwicze owrzodzenia, obrzęki i gorączka. W postaci ocznej głównym objawem jest owrzodzenie rogówki, a w czwarty typ kliniczny choroby występujący u 3% chorych ma charakter rozsiany i dotyczy narządów wewnętrznych (44). W Australii i USA postać oczna występuje częściej u dzieci, zaś postać skórna u dorosłych (46).

### Rozpoznanie

Najlepiej opracowano metody diagnostyki u ludzi. Wiele z tych metod znajduje też zastosowanie w diagnostyce pytiozy u psów i koni, mimo że niektóre z nich są bardzo kosztowne. Złotym standardem jest izolacja, identyfikacja i indukcja tworzenia zoospor *P. insidiosum* z wydzieliny z przetok ziarniników i w biopsjach z chorobowo zmienionych tkanek lub zeszkrobienie głębszych warstw skóry (46). Często równocześnie wykonuje się test wetern blot lub PCR (22). Wykorzystuje się też w diagnostyce test ELISA na obecność przeciwciał w surowicy (47) oraz badania histopatologiczne i immunohistochemiczne (48). Badania histopatologiczne nie umożliwiają jednak odróżnienie *P. insidiosum* od *Connidiobolus* i *Basidiobolus*. W szybkiej diagnostyce typu skórno i naczyniowego pytiozy u ludzi wykorzystuje się z powodzeniem odczyn hemaglutynacji. Miano reaktywnych surowic

wynosi 1:160 lub więcej. Czułość testu wynosi 88%, swoistość 99% (49). U koni dobre efekty daje odczyn immunodysfuzji (50).

### Zapobieganie i leczenie

Pytioza nie jest chorobą zaraźliwą, stąd też nie ma konieczności izolacji chorych zwierząt i ludzi. Zaleceniem profilaktycznym, które w większości przypadków jest trudne do przeprowadzenia, jest unikanie kontaktu z wodami stojącymi na terenach endemicznego występowania choroby. W USA opatentowano szczepionki do profilaktyki pytiozy u ludzi. Najlepsze efekty lecznicze daje radykalne postępowanie chirurgiczne połączone ze stosowaniem leków przeciwgrzybiczych i immunoterapią. Samo stosowanie leków przeciwgrzybiczych jest mało skuteczne (51). Monitoring efektywności terapii u ludzi w pytiozie naczyniowej ocenia się spadek poziomu  $\beta$ -d-glukanu w surowicy. Istotny spadek w ciągu dwóch tygodni, po zabiegu chirurgicznym świadczy o eliminacji zakażenia. Z leków przeciwgrzybiczych powszechnie stosuje się w pytiozie ocznej kombinację itraconazolu z terbinafiną, a w leczeniu powikłań bakteryjnych azytromycyny i linezolidu. U ludzi w pytiozie naczyniowej stosuje się kombinację azytromycyny lub klarytromycyny z doksycyliną. U zwierząt jest stosowana z powodzeniem kombinacja itraconazolu z terbinafiną.

Celem immunoterapii jest pobudzenie układu odpornościowego do produkcji INF- $\gamma$  i IL-2 oraz indukcja Th1 i efektorowych mechanizmów odporności komórkowej, co prowadzi do eliminacji *P. insidiosum* z zakażonych tkanek. Indukowana jest też produkcja przeciwciał w klasie IgG. Pierwsza szczepionka opracowana w 1981 r. zawierająca zabite ultradźwiękami mycelium *P. insidiosum* przeznaczona dla koni cechowała się 33% skutecznością leczniczą (52). Szczepionka zawierająca antygeny wydzielnicze przeznaczona dla koni i psów, jest mniej skuteczna u psów aniżeli u koni i kotów. U koni kombinacja zabiegów chirurgicznych polegających na usunięciu patologicznie zmienionych tkanek łącznie z immunoterapią w przewlekłej pytiozie skóry była skuteczna w około 90%, a także przynosiła dobre wyniki u bydła. U chłopcza z pytiozą tętnicy szyjnej skuteczna okazała się immunoterapia. U pacjentów przed immunoterapią śmiertelność w tej postaci choroby wynosiła 100%. Badania kliniczne prowadzone przez 10 lat jednoznacznie wykazały, że immunoterapia jest zabiegiem bezpiecznym zarówno dla ludzi, jak i dla zwierząt, jej efektywność wynosi około 60% (24).

### Piśmiennictwo

- Gaaster W., Lipman L.J.A., De Cock A.W.A.M., Excel T.K., Pegge R. B.G., Scheurwater J., Vilkela R., Mendoza L.: *Pythium insidiosum*: An overview. *Vet. Microbiol.* 2010, **146**, 1–16.
- Grooters A.M.: Pythiosis, lagenidiosis, and zygomycosis in small animals. *Vet. Clin. North Am.* 2003, **33**, 695–720.
- Mendoza L., Hernandez F., Ajello L.: Life cycle of the human and animal oomycete pathogen *Pythium insidiosum*. *J. Clin. Microbiol.* 1993, **31**, 2967–2973.
- Pérez R., Luis-León J.J., Vivas J.L., Mendoza L.: Epizootic cutaneous pythiosis in beef calves. *Vet. Microbiol.* 2005, **109**, 121–128.
- Rakich P.M., Grooters A.M., Tang K.N.: Gastrointestinal pythiosis in two cats. *J. Vet. Diagn. Invest.* 2005, **17**, 262–269.

6. Tabosa I.M., Riet-Correa A.F., Nobre V.M.T., Azevedo E.O., Reis-Júnior J.L., Medeiros R.M.T.: Outbreaks of pythiosis in two flocks of sheep in northeastern Brazil. *Vet. Pathol.* 2004, **41**, 412–415.
7. Santurio J.M., Argenta J.A., Schwendler S.E., Cavalheiro A.S., Pereira D.I.B., Zanette R.A., Alves S.H., Dutra V., Silva M.C., Arruda L.P., Nakazata L., Colodel E.M.: Granulomatous rhinitis associated with *Pythium insidiosum* infection in sheep. *Vet. Rec.* 2008, **163**, 276–277.
8. Pesavento P.A., Barr B., Riggs S.M., Eigenheer A.L., Pamra R., Walker R.L.: Cutaneous pythiosis in a nestling white faced ibis. *Vet. Pathol.* 2008, **45**, 538–541.
9. Camus A.C., Grooters A.M., Aquilar R.F.: Granulomatous pneumonia caused by *Pythium insidiosum* in a central American jaguar, *Panthera onca*. *J. Vet. Diagn. Invest.* 2004, **16**, 567–571.
10. Buergelt C., Powe J., White T.: Abdominal pythiosis in a Bengal tiger (*Panthera tigris tigris*). *J. Zoo Wildl. Med.*, 2006, **37**, 186–189.
11. White S.D., Ghodussi M., Grooters A.M., Jones K.: Cutaneous pythiosis in a California nontravelled horse. *Vet. Dermatol.* 2008, **19**, 391–394.
12. Berryessa N.A., Marks S.L., Pesavento P.A., Krasnansky T., Yoshimoto S.K., Johnston E.G., Grooters A.M.: Gastrointestinal pythiosis in 10 dogs from California. *J. Vet. Intern. Med.* 2008, **22**, 1065–1069.
13. Mendoza L., Ajello L., McGinnis M.R.: Infections caused by the oomycetous pathogen *Pythium insidiosum*. *J. Mycol. Med.* 1996, **6**, 151–164.
14. Supabandhu J., Mathew C.F., Mendoza L., Vanittanakom N.: Isolation and identification of the human pathogen *Pythium insidiosum* from environmental samples collected in Thai agricultural areas. *Med. Mycol.* 2008, **46**, 41–52.
15. Walker C.A., van West P.: Zoospore development in the oomycetes. *Fungal Biol. Rev.* 2007, **21**, 10–18.
16. Fonseca A.O., Botton S.de A., Nogueira C.E., Corrêa B.F., Silveira J.de S., de Azevedo M.L., Maroneze B.P., Santurio J.M., Pereira D.I.: In vitro reproduction of the life cycle of *Pythium insidiosum* from kuners' equine and their role in the epidemiology of pythiosis. *Mycopathol.* 2014, **177**, 123–127.
17. Schurko A.M., Mendoza L., de Cock A.W., Klassen G.R.: Evidence for geographic clusters: molecular genetic differences among strains of *Pythium insidiosum* from Asia, Australia and the Americas are explored. *Mycologia* 2003, **95**, 200–208.
18. Ravishankar J.P., Davis C.M., Dacis D.J., MacDonald E., Makselan S.D., Millward L., Money N.P.: Mechanics of solid tissue invasion by the mammalian pathogen *Pythium insidiosum*. *Fung. Genet. Biol.* 2001, **34**, 167–175.
19. Davis D.J., Lanter K., Makselan S., Bonati C., Asbrock P., Ravishankar J.P., Money N.P.: Relationship between temperature optima and secreted protease activities of three *Pythium* species and pathogenicity toward plant and animal hosts. *Mycol. Res.* 2006, **110**, 96–103.
20. Laohapensang K., Rutherford R.B., Supabandhu J., Vanittanakom N.: Vascular pythiosis in a thalassemic patient. *Vascular* 2009, **17**, 234–238.
21. Grooters A.M., Whittington A., Lopez M.K., Borroughs M.N., Roy A.F.: Evaluation of microbial culture techniques for the isolation of *Pythium insidiosum* from equine tissues. *J. Vet. Diagn. Invest.* 2002, **14**, 288–294.
22. Vamittanakom N., Supabandhu J., Khamwan C., Preparattanapan J., Thirach S., Prasertwitayakij N., Louthrenoo W., Chewchanvit S., Tananuvu N.: Identification of emerging human-pathogenic *Pythium insidiosum* by serological and molecular assay-based methods. *J. Clin. Microbiol.* 2004, **42**, 3970–3974.
23. Souto E.P.F., Maia L.A., Olinda R.G., Galiza G.J.N., Kommers G.D., Miranda-Neto E.G., Dantas A.F.M., Riet-Correa F.: Pythiosis in the nasal cavity of horses. *J. Comp. Pathol.* 2016, **155**, 126–129.
24. Mendoza L., Newton J.C.: Immunology and immunotherapy of the infections caused by *Pythium insidiosum*. *Med. Mycol.* 2005, **43**, 477–486.
25. Mendoza L., Vilela R.: The mammalian pathogenic oomycetes. *Curr. Fungal. Infect. Rep.* 2013, **7**, 198–208.
26. Wanachawanawin W., Mendoza L., Visuthisakchai S., Mutsikapan P., Sathapatayavongs B., Chairprasert A.: Efficacy of immunotherapy using antigens of *Pythium insidiosum* in the treatment of vascular pythiosis in humans. *Vaccine* 2004, **22**, 3613–3621.
27. Headley S.A., Arruda H.N., Leggi T.C.S.S., Bett V.: Cutaneous pythiosis in a slaughtered horse: a case report. *Arq. Inst. Biol.* 2002, **69**, 109–112.
28. 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.* 1994, **205**, 337–339.
29. Tonpitak W., Pathomsakulwong W., Sornklien C., Krajaejun T., Wuthiwithayaphong S.: First confirmed case of nasal pythiosis in a horse in Thailand. *JMM Case Rep.* 2018, **5** (1):e005136.
30. Alfaro A.A., Mendoza L.: Four cases of equine bone lesions caused by *Pythium insidiosum*. *Equine Vet. J.* 1990, **22**, 295–297.
31. Eaton S.: Osseous involvement by *Pythium insidiosum*. *Comp. Cont. Educ. Pract. Veter.* 1993, **15**, 485–488.
32. Mendoza L., Alfaro A.A.: Equine pythiosis in Costa Rica: report of 39 cases. *Mycopathologia* 1986, **94**, 123–129.
33. Chafinn M.K., Schumacher J., Hooper N.: Multicentric cutaneous pythiosis in a foal. *J Am Vet Med Assoc* 1992, **201**, 310–312.
34. Leal A.B., Leal A.T., Santurio J.M., Kommers G.D., Catto J.B.: Pitiosis equina no Pantanal brasileiro: aspectos clínico-patológicos de casos típicos e atípicos. *Pesq. Vet. Bras.* 2001, **21**, 151–156.
35. Ocampos P., Soares P., Argenta C., Cabrera A., Da Costa G., Brayer D., Santurio M., Driemeier D.: Diagnostico imuno-histoquímico de pitiosis cutânea em equinos. *Acta Sci. Vet.* 2009, **37**, 49–52.
36. Brown C., Roberts E.D.: Intestinal pythiosis in a horse. *Aust. Vet. J.* 1988, **65**, 88–89.
37. Allison N., Gillis J.P.: Enteric pythiosis in a horse. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1990, **196**, 462–464.
38. Morton L.D., Morton D.G., Baker G.J., Gelberg H.B.: Chronic osteoarthritis attributed to *Pythium* sp., in a horse. *Vet. Pathol.* 1991, **28**, 542–544.
39. Miller R.I., Olcott B.M., Archer M.: Cutaneous pythiosis in beef calves. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1985, **186**, 984–986.
40. Sasnturio J.M., Monteiro A.B., Leal A.Y., Kommers G.D., de Sousa R.S., Catto J.B.: Cutaneous pythiosis in calves from Pantanal region of Brasil. *Mycopathol.* 1998, **141**, 123–125.
41. Riet-Correa F., Dantas A.F.M., Azevedo E.O., Simoes S.D.V., Silva S.M.S., Vilela R., Mendoza L.: Outbreak of rhinopharyngeal zygomycosis in sheep in Paraiba, Northeastern Brazil. *Pesq. Vet. Bras.* 2008, **28**, 229–235.
42. Fujimori M., Lopes E. R., Lima S.R., de Paula D.A.J. de Almeida do Bom Parto Ferreira A., Colodel E.M., Pescador C.A., IV Néspoli P.E.B., Nakazato L., Dutra V., de Souza R.L., Sousa V.R.F.: *Pythium insidiosum* colitis in a dog: treatment and clinical outcome. *Ciência Rural, Santa Maria.* 2016, **46**, 526–529.
43. Imwidthaya P.: Human pythiosis in Thailand. *Postgrad. Med. J.* 1994, **70**, 558–560.
44. De Moraes S., Gimenes Bosco D. Bagagli E., Araújo J.P. Jr., Candeias J.M., de Franco M.F., Alencar Marques M.E., Mendoza L., de Camargo R.P., Marques A.S.: Human pythiosis, Brazil. *Emerg. Infect. Dis.* 2005, **11**, 715–718.
45. Thianprasit M., Chairprasert A., Imwidthaya P.: Human pythiosis. *Curr. Trop. Med. Mycol.* 1996, **7**, 43–54.
46. Mendoza L., Prendas J.: A method to obtain rapid zoosporogenesis of *Pythium insidiosum*. *Mycopathologia* 1988, **104**, 59–62.
47. Mendoza L., Kaufamn L., Mandy W., Glass R.: Serodiagnosis of human and animal pythiosis using an enzyme-linked immunosorbent assay. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 1997, **4**, 715–718.
48. Permpalung N., Worasilchai N., Chindamporn A.: Human pythiosis: Emergence of fungal-like organism. *Mycopathologia* 2019. <https://doi.org/10.1007/s11046-019-00412-0>.
49. Jindayok T., Primorsontikorn K., Krajaejun T.: Hemagglutination test for rapid serodiagnosis of human pythiosis. *Clin. Vacc. Immunol.* 2009, **16**, 1047–1051.
50. Mendoza L., Kaufman L., Standard P.G.: Immunodiffusion test for diagnosis and monitoring pythiosis in horses. *J. Clin. Microbiol.* 1986, **23**, 813–816.
51. Schmiedt C.W., Stratton-Phelps M., Torres B.T., Bell D., Uhl E.W., Zimmerman S., Epstein J., Cornell K.K.: Treatment of intestinal pythiosis in a dog with a combination of marginal excision, chemotherapy, and immunotherapy. *J. Am. Vet. Med. Ass.* 2012, **241**, 538–563.
52. Mendoza L., Mandy W., Glass R.: An improved *Pythium insidiosum*-vaccine formulation with enhanced immunotherapeutic properties in horses and dogs with pythiosis. *Vaccine* 2003, **21**, 2797–2804.