

## ГЛАВА 3.5.4

### ЭПИЗООТИЧЕСКИЙ ЛИМФАНГИТ

---

#### РЕЗЮМЕ

Эпизоотический лимфангит – хроническое инфекционное заболевание лошадей и других представителей семейства *Equidae*, которое клинически характеризуется распространенным, гнойным, язвенным пиогранулематозным дерматитом и лимфангитом. Такие поражения наблюдаются, в частности, на шее, конечностях и грудной клетке. Другие проявления заболевания включают язвенный конъюнктивит или в редких случаях многоочаговую пневмонию. Передача инфекции осуществляется при контакте зараженного материала с травмированной кожей, с укусами мух, клещей и при попадании инфекции в дыхательные пути. Возбудитель заболевания *Histoplasma capsulatum* var. *farcinosum* представляет собой термически диморфный почвенный грибок-сапрофит. Требуется дифференциальная диагностика с кожным сапом, вызываемый *Burkholderia mallei*, язвенным лимфангитом, вызываемым *Corynebacterium pseudotuberculosis*, споротрихозом, вызываемым *H. capsulatum* var. *capsulatum*. Для лечения заболевания на ранних стадиях используют инъекцию амфотерицина В с местным дренированием раны и обработкой ее неорганическими иодидами.

**Идентификация возбудителя:** Возбудитель идентифицируют по внешнему виду в мазках экссудата или гистологических срезах материала с пораженных участков. В развившихся поражениях в больших количествах присутствует дрожжевая форма патогена, представляющая собой плеоморфные овальные или округлые структуры диаметром приблизительно 2-5 мкм и обнаруживаемая как во внеклеточных пространствах, так и внутри клеток макрофагов и гигантских клеток. Обычно при окрашивании по Граму, гематоксилином и эозином, реактивом Шиффа или метенамином серебра по Гомори вокруг этих патогенов наблюдается ореол. В аэробных условиях при температуре 25-30°C на разнообразных питательных средах, включая микобиотический агар, обогащенный декстрозный агар Сабуро, агаре с сердечно-мозговым экстрактом и питательном агаре для плевропневмониеподобных микроорганизмов, наблюдается медленный рост мицелиальной формы микроорганизма. Следует продемонстрировать конверсию в дрожжевую фазу.

**Серологические и другие реакции:** Антитела к разновидности *H. capsulatum* var. *farcinosum* образуются во время или до возникновения клинических признаков. Для обнаружения антител используются методы флуоресцирующих антител, твердофазного иммуноферментного анализа и пассивной гемагглютинации. Также описаны кожно-аллергические пробы.

**Требования к вакцинам и диагностическим биопрепаратам:** На эндемичных территориях в ограниченном объеме используют живые и убитые вакцины, которые, однако, не являются общедоступными.

#### А. ВВЕДЕНИЕ

Эпизоотический лимфангит – хроническое инфекционное заболевание, поражающее лошадей, ослов и мулов. Клинически это заболевание характеризуется распространенным гнойным, язвенным пиогранулематозным многоочаговым дерматитом и лимфангитом. Такие поражения наблюдаются чаще всего на конечностях, стенке грудной клетки и шее,

но могут также присутствовать на пальпебральной конъюнктиве; редким проявлением заболевания является многоочаговая пневмония. Данный патоген также может проникать в открытые поражения, включая разорвавшиеся абсцессы, вызванные мытом, и кастрационные раны. Другое название заболевания – ложный сап. Другой синоним – лошадиный гистоплазмоз, возможно, является более точным названием, поскольку явный лимфангит присутствует не у всех клинических случаев. Форма заболевания зависит, в основном от способа проникновения (Singh, 1965). Заражение травмированной кожи происходит либо непосредственно при попадании на нее инфицированного гноя, выделений из носа или глаз или опосредованно через почву или лошадиную амуницию, средства для ухода за животным, посуду для корма или воды, повязку на рану или мух. Считается также, что передача инфекции возможна через клещей (Ameni & Terefe, 2004). Полагают, что конъюнктивальную форму заболевания распространяют мухи, принадлежащие к роду *Musca* или *Stomoxys* (Singh, 1965). Легочная форма заболевания встречается нечасто, предположительно после попадания патогена в дыхательные пути. Инкубационный период продолжается от приблизительно 3 недель до 2 месяцев (Ameni, 2006). Во всех случаях образуются узелковые и гранулематозные поражения, и возбудитель после адаптации распространяется локально посредством инвазии и затем по лимфатической системе. Часто наблюдается утолщение или тяжистые структуры в стенках лимфатических сосудов и образование гранулематозных узелков. Регионарные лимфатические узлы могут увеличиваться и воспаляться. Обычно поражения заживают без лечения через 2-3 месяца, и на их месте образуются звездчатые рубцы. Однако на территориях с неудовлетворительной ветеринарной помощью и в случае плохого питания у животных образуются обширные поражения, сопровождающиеся высокой летальностью (Ameni, 2006).

Возбудителем эпизоотического лимфангита является *Histoplasma capsulatum* разновидность *r. farciminosum* – термически диморфный гриб-сапрофит. Мицелиальная форма обнаруживается в почве, из поражений обычно выделяют дрожжевую форму. Ранее возбудителя *Histoplasma farciminosum* описывали в качестве самостоятельного вида, но такая оценка претерпела изменения, и в настоящее время считается, что этот возбудитель является разновидностью *H. capsulatum* из-за близкого морфологического сходства мицелиальной и дрожжевых форм этих организмов (Ueda *et al*, 2003). Разновидности *H. capsulatum farciminosum* и *H. capsulatum capsulatum* неразличимы по составу антигенов, однако вторая разновидная вызывает диссеминированный гистоплазмоз, является эндемичной в Северной Америке и характеризуется широким спектром организмов-хозяев (Robinson & Maxie, 1993). Для того чтобы установить эволюционное родство разновидностей *H. capsulatum*, были проанализированы последовательности ДНК четырех кодирующих белки генов. Этот анализ показал, что разновидность *H. capsulatum farciminosum* имеет глубокие родственные связи с ветвью SAm Hcc группы А, (H60-64, -67, -71, -74 и -76), в результате чего создается впечатление, что эта разновидность является изолятом южно-американской разновидности *H. capsulatum capsulatum* (Kasuga *et al*, 1999).

Кожную форму заболевания можно спутать с кожным сапом, возбудителем которого является *Burkholderia mallei*, язвенным лимфангитом, возбудителем которого является *Corynebacterium pseudotuberculosis*, хроническими незаживающими язвами, вызываемыми *Rhodococcus equi*, споротрихозом, вызываемым *Sporothrix schenckii*, и гистоплазмозом, вызываемым *H. capsulatum var. capsulatum*, криптококкозом, мытом, саркоидом и кожными лимфосаркомами (Jungerman & Schwartzman, 1972; Lehmann *et al*, 1996).

Заболевание чаще встречается в тропиках и субтропиках и является эндемичным на севере, востоке и северо-востоке Африки, некоторых территориях Азии, включая ряд

стран, граничащих со Средиземным морем, Индию, Пакистан и Японию. Данное заболевание распространено в Эфиопии, особенно среди ломовых лошадей и поражает в среднем 18,8% лошадей в теплых, влажных районах, которые находятся на высоте от 1500 до 2300 метров над уровнем моря (Ameni, 2006; Ameni & Terefe, 2004). Сообщения из других частей мира появляются спорадически и во всех случаях должны быть подтверждены лабораторным тестированием. Распространенность заболевания повышается при скоплении животных; исторически заболеваемость эпизоотическим лимфангитом повышалась, когда большое количество лошадей находились на стойловом содержании в кавалерийских частях или в связи с другими потребностями в перевозках. В основном заболевание поражает лошадей, мулов и ослов, хотя возможно также инфицирование верблюдов, крупного рогатого скота и собак (Ueda *et al*, 2003). В условиях экспериментального заражения другие животные устойчивы к инфекции после прямого заражения, кроме определенных видов лабораторных животных, например, мышей, морских свинок и кроликов (Herve *et al*, 1994; Singh, 1965). Также описаны случаи заражения людей (Al-Ani *et al*, 1998; Chandler *et al*, 1980; Guerin *et al*, 1992).

Для искоренения заболевания проводится гуманный убой инфицированных лошадей, дезинфекция зараженных помещений и ограничение перемещения представителей семейства лошадиных из инфицированных помещений. В эндемичных районах, где искоренить заболевание невозможно, на ранних стадиях могут применяться неорганические иодиды (Al-Ani, 1999). Можно также вскрывать локализованные узелки, осуществлять дренаж гноя и вводить в узелки тампоны, пропитанные 7% раствором иода. При наличии достаточных средств используют амфотерицин В.

Поскольку клинические признаки эпизоотического лимфангита можно спутать с признаками других заболеваний в данной области, заключительный диагноз базируется на лабораторном подтверждении возбудителя.

## **1. Идентификация возбудителя**

Материал следует получать непосредственно из неразорванных узелков. Для выделения возбудителя с целью последующего микробиологического исследования материал следует поместить в содержащую антибактериальные вещества жидкую питательную среду и хранить ее в холодильной камере до исследования, которое следует провести как можно раньше. Для прямого исследования могут быть приготовлены и сразу же зафиксированы препараты мазков из очагов поражения на предметных стеклах. Для гистопатологического исследования срезы пораженной материала, включающего жизнеспособную и нежизнеспособную ткань, следует поместить в 10% забуференный нейтральный формалин. Для подтверждения заболевания следует продемонстрировать присутствие *H. capsulatum* var. *farciminosum*.

### **1.1. Прямая микроскопия**

#### **1.1.1. Окрашивание мазков по Граму**

Для окрашивания мазков можно использовать набор красителей для окрашивания по Граму с последующим исследованием, направленным на выявление типичной дрожжевой формы патогена, который представляет собой грамположительные плеоморфные, овальные или округлые структуры диаметром приблизительно 2-5 мкм (Al-Ani *et al.*, 1998). Эти структуры могут быть одиночными или собранными в группы, и находиться вне клеток или внутри макрофагов. Часто вокруг этих микроорганизмов наблюдается ореол (неокрашенная капсула).

#### **1.1.2. Гистопатология**

В срезах, окрашенных гематоксилином и эозином (ГЭ), наблюдается типичная картина поражения, представляющая собой програнулематозное воспаление с фиброплазией. Часто присутствуют гигантские клетки Лангханса. В срезах ткани, окрашенных ГЭ, реактивом Шиффа или метенамином серебра по Гомори, наблюдаются многочисленные клетки возбудителя (Robinson & Maxie, 1993). Имеются данные, указывающие на то, что численность микроорганизмов увеличивается по мере хронического течения заболевания. Эти микроорганизмы являются плеоморфными, и после окрашивания ГЭ или по Граму их часто описывают как слабо базофильные, окруженные ореолом образования в форме лимона диаметром от 2 до 5 мкм (Al-Ani, 1999).

### 1.1.3. Электронная микроскопия

Образцы биоптатов кожи толщиной 1,5-2,0 мм, сразу же подвергнутые предварительной фиксации забуференным фосфатом 2% раствором глутаральдегида с последующей постфиксацией 1% тетроксидом осмия изучают методом электронной микроскопии. Нарезанные ультра-тонкие срезы окрашивают уранилацетатом и цитратом свинца. При исследовании обнаруживается тонкая внутренняя структура микроорганизма *H. capsulatum* var. *farcinosum*, включающая клеточную оболочку, плазматическую мембрану, клеточную стенку, капсулу и внутренние структуры клетки (Al-Ani, 1999).

### 1.2. Посев и выращивание в культуре

Мицелиальная форма *H. capsulatum* var. *farcinosum* медленно растет на лабораторных питательных средах (2-8 weeks at 26°C). Можно использовать следующие среды: микобиотический агар (Al-Ani, 1999), декстрозный агар Сабуро, обогащенный 2,5% глицерином; агар с сердечно-мозговым экстрактом, обогащенный 10% лошадиной кровью; и питательный агар для плевропневмоподобных микроорганизмов (PPL0), обогащенный 2% декстрозой и 2,5% глицерином, pH 7.8 (Guerin *et al*, 1992; Robinson & Maxie, 1993). Рекомендуется добавлять антибиотики в питательную среду: циклогексимид (0.5 г/л) и хлорамфеникол (0.5 г/л). Для того чтобы обеспечить широкий спектр антибактериальной активности вместо хлорамфеникола используют гентамицин (50 мг/л) и пенициллин G ( $6 \times 10^6$  Е/л). Колонии, представляющие собой сухой, зернистый, складчатый мицелий серо-белого цвета, появляются через 2-8 недель. Со временем колонии приобретают коричневый цвет. Воздушные формы встречаются редко. Мицелиальная форма образует разнообразные конидии, включая хламидоспоры, артроконидии и в небольшом количестве бластоконидии. Однако крупные округлые, с двойной оболочкой макроконидии, часто наблюдающиеся у *H. capsulatum* var. *capsulatum*, отсутствуют.

В качестве подтверждающей пробы может быть индуцировано образование дрожжевой формы *H. capsulatum* var. *farcinosum* посредством субкультивирования части мицелия в агаре с сердечно-мозговым экстрактом, обогащенным 5% лошадиной кровью или использования среды Пайна (Pine's medium) при 35-37°C в атмосфере 5% CO<sub>2</sub>. Колонии дрожжей плоские, приподнятые, складчатые, тестовидной консистенции, от белого до серовато-коричневого цвета (Robinson & Maxie, 1993). Однако полная конверсия в дрожжевую фазу может быть достигнута только после 4-5 серийных переносов на свежие среды через каждые 8 дней.

### 1.3. Заражение животных

Были предприняты попытки экспериментальной передачи *H. capsulatum* var. *farcinosum* мышам, морским свинкам и кроликам. Мыши с супрессией иммунного ответа высоко чувствительны к экспериментальному заражению и могут быть использованы для диагностических целей (Al-Ani, 1999).

## **2. Серологические исследования**

Опубликованы сообщения о разнообразных методах обнаружения антител и кожно-аллергической пробе, предназначенной для обнаружения клеточно-опосредованного иммунитета. Антитела обычно образуются во время или сразу после возникновения клинических признаков.

### **2.1. Реакции иммунофлуоресценции**

#### **2.1.1. Непрямой метод флуоресцирующих антител**

Ниже описана неколичественная методика, разработанная Fawcett (1969).

i) Для получения предметных стекол, содержащих микроорганизм, содержащим очага поражения смазывают предметное стекло или готовят эмульсию выращенной в культуре дрожжевой фазы микроорганизма в физиологическом растворе и создают тонкую пленку на предметном стекле.

ii) Предметные стекла фиксируют нагреванием, проводя предметное стекло через пламя.

iii) Затем предметные стекла в течение 1 минуты промывают фосфатно-солевым буферным раствором (PBS).

iv) На предметные стекла наносят неразбавленную исследуемую сыворотку, и инкубируют стекла в течение 30 минут при 37°C.

v) Предметные стекла 3-кратно промывают PBS, продолжительность каждого промывания составляет 10 минут.

vi) Предметные стекла заливают антилошадными антителами, конъюгированными с флуоресцеин-изотиоцианатом (FITC), в надлежащем разведении с последующей инкубацией в течение 30 минут при 37°C.

vii) Предметные стекла 3-кратно промывают PBS, продолжительность каждого промывания составляет 10 минут.

viii) Предметные стекла изучают под флуоресцентным микроскопом.

#### **2.1.2. Прямой метод флуоресцирующих антител**

Методику описали Gabal *et al* (1983).

i) Глобулиновую фракцию исследуемой сыворотки осаждают и затем ресуспендируют в физиологическом растворе до первоначального объема сыворотки. После этого получают конъюгат сыворотки с флуоресцентным красителем FITC.

ii) Небольшие комочки колоний выращенной в культуре мицелиальной формы микроорганизма суспендируют в 1-2 каплях физиологического раствора, помещенных на предметное стекло. Вторым предметным стеклом раздавливают комочки колоний и раствор размазывают по стеклу для создания тонкой пленки.

iii) Выполняют термофиксацию мазков.

iv) Предметные стекла в течение 1 минуты промывают PBS.

v) Предметные стекла инкубируют с разведениями конъюгированной сыворотки в течение 60 минут при 37°C.

vi) Предметные стекла 3-кратно промывают PBS, продолжительность каждого промывания составляет 5 минут.

vii) Предметные стекла изучают под флуоресцентным микроскопом.

## **2.2. Непрямой твердофазный иммуноферментный анализ**

Следующую методику описали Gabal & Mohammed (1985).

### **2.2.1. Методика**

i) В помещенном в пробирки декстрозном агаре Сабуро получают мицелиальную форму микроорганизма и инкубируют в течение 4 недель при 26°C. В 50 мл стерильного PBS растирают три колонии. Суспензию разбавляют в соотношении 1/100 и затем вносят в по 100 мкл в каждую из 96 лунок микротитрационных планшетов.

ii) Планшеты инкубируют при 4°C в течение ночи.

iii) Затем планшеты 3-кратно промывают PBS, содержащим Твин 20 (0,5 мл/л), продолжительность каждого промывания составляет 3 минуты.

iv) Планшеты, помещенные на качалку, инкубируют в течение 30 минут с 5% бычьим сывороточным альбумином, добавленным в каждую лунку в количестве 100 мкл, при 23-25°C.

v) Планшеты 3-кратно промывают PBS-T, продолжительность каждого промывания составляет 3 минуты.

vi) Получают в двух повторностях серийные разведения сыворотки, выполняя двукратные разведения в PBS-T, начиная с 1/50, и инкубируют планшет при 23-25°C в течение 30 минут.

vii) Планшеты 3-кратно промывают PBS-T, продолжительность каждого промывания составляет 3 минуты.

ix) Меченый пероксидазой антилошадиный иммуноглобулин IgG козы разбавляют в соотношении 1/800 и вносят в каждую лунку планшета по 100 мкл с последующей инкубацией планшетов на качалке в течение 30 минут при 23-25°C.

x) После инкубации в каждую лунку добавляют по 100 мкл пероксида водорода и ABTS (2,2'-азино-ди-[3-ethyl-бензтиазолин]-6-сульфоновой кислоты) в цитратном буферном растворе, pH 4.

xi) Через 60 минут планшеты прочитывают на спектрофотомере при длине волны 405 нм.

xii) Для каждого разведения сыворотки дважды получают значения оптической плотности, и при интерпретации результатов рассматривают среднее квадратичное отклонение и выраженное в процентах среднее значение оптической плотности разных образцов сыворотки.

## **2.2. Реакция пассивной гемагглютинации**

Gabal & Khalifa (1983) описали следующую методику.

### 2.3.1. Методика

i) Микроорганизм размножают в декстрозном агаре Сабуро в течение 8 недель. Счищают 5 колоний, измельчают, суспендируют в 200 мл физиологического раствора и обрабатывают ультразвуком в течение 20 минут. Отфильтровывают оставшиеся элементы мицелия, и фильтрат разбавляют в соотношении 1/160.

ii) Эритроциты здоровой овцы промывают, обрабатывают таннином, промывают и ресуспендируют, чтобы получить 1% суспензию клеток.

iii) Различные разведения антигена смешивают с таннизированными эритроцитами и инкубируют на водяной бане при 37°C в течение 1 часа. Эритроциты осаждают центрифугированием, 3-кратно промывают забуференным физиологическим раствором и ресуспендируют, получая 1% суспензию клеток.

iv) Исследуемую сыворотку инактивируют нагреванием при 56°C в течение 30 минут и затем абсорбируют равным объемом промытых эритроцитов.

v) В пробирки, содержащие по 0,05 мл нагруженных антигеном таннизированных эритроцитов, вносят разведения сыворотки (0,5 мл).

vi) Агглютинацию регистрируют через 2 и 12 часов.

vii) Заключение об агглютинации делают в случае образования эритроцитами однородного слоя на дне пробирки. На отрицательный результат указывает образование эритроцитами «грибка» на дне пробирки.

## 2.4. Кожно-аллергические пробы

Описаны две кожно-аллергические пробы, применяемые для диагностики эпизоотического лимфангита. Первую пробу разработали Gabal & Khalifa (1983) и адаптировали Armeni *et al.* (2006).

### 2.4.1. Методика

i) Чистую культуру *H. farcimonsum* размножают в течение 8 недель в декстрозном агаре Сабуро, содержащем 2,5% глицерина. Счищают 5 колоний, измельчают, суспендируют в 200 мл физиологического раствора, выполняют 5 циклов замораживания-оттаивания и обрабатывают ультразвуком в течение 20 минут при амплитуде 40°. Оставшиеся элементы мицелия удаляют центрифугированием при 1006 g 4°C в течение 11 минут. Для проверки стерильности препарата аликвоту инкубируют на декстрозном агаре Сабуро при 26°C в течение 4 недель.

ii) Животных инокулируют внутрикожно в шею, внося по 0,1 мл препарата, в каждом миллилитре которого содержится по 0,2 мг белка.

iii) Через 24-48 часов после инъекции изучают место инокуляции на предмет присутствия местного уплотнения и возвышения. В случае увеличения толщины кожи на > 4 мм результат считается положительным.

В качестве альтернативы может быть выполнена «гистофарциновая проба», описанная Soliman *et al* (1985).

- i) Мицелиальную форму микроорганизма выращивают в течение 4 месяцев на полистироловых дисках, расположенных на поверхности 250 мл среды PPLO, содержащей 2% глюкозы и 2,5% глицерина, при температуре 23-25°C.
- ii) Не содержащий грибов фильтрат культуры смешивают с ацетоном (2/1) и выдерживают при 4°C в течение 48 часов.
- iii) Сливают надосадочную жидкость и ожидают до испарения ацетона.
- iv) Осадок суспендируют в дистиллированной воде таким образом, чтобы конечный объем составил 1/10 от первоначального объема.
- v) Животных инокулируют внутрикожно в шею, внося по 0,1 мл антигена.
- vi) Через 24, 48 и 72 часа после инъекции изучают место инокуляции на предмет присутствия местного уплотнения и возвышения.

### **С. ТРЕБОВАНИЯ К ВАКЦИНАМ И ДИАГНОСТИЧЕСКИМ БИОПРЕПАРАТАМ**

Методом борьбы с заболеванием обычно является искоренение инфекции. Для достижения этой цели обычно выбраковывают инфицированных лошадей и создают строгие санитарно-гигиенические условия, исключая распространение возбудителя. Опубликованы сообщения об использовании убитых (Al-Ani *et al*, 1998) и живых ослабленных вакцин (Zhang *et al*, 1986) в районах, где эпизоотический лимфангит является эндемическим заболеванием, по видимому с относительно хорошими результатами.

Антигены, используемые для кожно-аллергических проб, описаны в предыдущем разделе.

### **ЛИТЕРАТУРА**

- AL-ANI F.K. (1999). Epizootic lymphangitis in horses: a review of the literature. Rev. sci. tech. Off. int. Epiz., 18, 691–699.
- AL-ANI F.K., ALI A.H. & BANNA H.B. (1998). Histoplasma farciminosum infection of horses in Iraq. Veterinarski Arhiv., 68, 101–107.
- AMENI G. (2006). Preliminary trial on the reproducibility of epizootic lymphangitis through experimental infection of two horses. Short Communication. Veterinary J., 172 (3), 553–555.
- AMENI G. & TEREFE W. (2004). A cross-sectional study of epizootic lymphangitis in cart-mules in western Ethiopia. Preventive Vet. Med., 66, 93–99.
- AMENI G. TEREFE W. & HAILU A. (2006). Histofarcin test for the diagnosis of epizootic lymphangitis in Ethiopia: development, optimisation and validation in the field. Veterinary J., 171, 358–362.
- CHANDLER F.W., KAPLAN W. & AJELLO L. (1980). Histopathology of Mycotic Diseases. Year Book Medical Publishers, Chicago, USA, 70–72 and 216–217.

- FAWI M.T. (1969). Fluorescent antibody test for the serodiagnosis of *Histoplasma farciminosum* infections in Equidae. *Br. Vet. J.*, 125, 231–234.
- GABAL M.A., BANA A.A. & GENDI M.E. (1983). The fluorescent antibody technique for diagnosis of equine histoplasmosis (epizootic lymphangitis). *Zentralbl. Veterinarmed. [B]*, 30, 283–287.
- GABAL M.A. & KHALIFA K. (1983). Study on the immune response and serological diagnosis of equine histoplasmosis (epizootic lymphangitis). *Zentralbl. Veterinarmed. [B]*, 30, 317–321.
- GABAL M.A. & MOHAMMED K.A. (1985). Use of enzyme-linked immunosorbent assay for the diagnosis of equine *Histoplasma farciminosi* (epizootic lymphangitis). *Mycopathologia*, 91, 35–37.
- GUERIN C., ABEBE S. & TOUATI F. (1992). Epizootic lymphangitis in horses in Ethiopia. *J. Mycol. Med.*, 2, 1–5.
- HERVE V., LE GALL-CAMPODONICO P., BLANC F., IMPROVISI, L., DUPONT, B, MATHIOT C. & LE GALL F. (1994). Histoplasmosis a *Histoplasma farciminosum* chez un cheval africain. *J. Mycologie Med.*, 4, 54.
- JUNGERMAN P.F. & SCHWARTZMAN R.M. (1972). *Veterinary Medical Mycology*. Lea & Febiger. Philadelphia, USA.
- KASUGA T., TAYLOR T.W. & WHITE T.J. (1999). Phylogenetic relationships of varieties and geographical groups of the human pathogenic fungus *Histoplasma capsulatum* darling. *J. Clin. Microbiol.*, 37, 653–663.
- LEHMANN P.F. HOWARD D.H. & MILLER J.D. (1996). *Veterinary Mycology*. Springer-Verlag, Berlin, Germany, 96, 251–263.
- ROBINSON W.F. & MAXIE M.G. (1993). The cardiovascular system. In: *Pathology of Domestic Animals*, Vol. 3. Academic Press, New York, USA, 82–84.
- SINGH T. (1965). Studies on epizootic lymphangitis. I. Modes of infection and transmission of equine histoplasmosis (epizootic lymphangitis). *Indian J. Vet. Sci.*, 35, 102–110.
- SOLIMAN R., SAAD M.A. & REFAI M. (1985). Studies on histoplasmosis farciminosii (epizootic lymphangitis) in Egypt. III. Application of a skin test ('histofarcin') in the diagnosis of epizootic lymphangitis in horses. *Mykosen*, 28, 457–461.
- UEDA Y., SANO A. TAMURA M., INOMATA T., KAMEI K., YOKOYAMA K., KISHI F., ITO J., Y., MIYAJI M. & NISHIMURA K. (2003). Diagnosis of histoplasmosis by detection of the internal transcribed spacer region of fungal rRNA gene from a paraffin-embedded skin sample from a dog in Japan. *Vet. Microbiol.*, 94, 219–224.
- ZHANG W.T., WANG Z.R., LIU Y.P., ZHANG D.L., LIANG P.Q., FANG Y.Z., HUANG Y.J. & GAO S.D. (1986). Attenuated vaccine against epizootic lymphangitis in horses. *Chinese J. Vet. Sci. Tech.*, 7, 3–5.