

БИОТЕХНОЛОГИЯ

УДК 578:616-079

**КУЛЬТИВИРОВАНИЕ ИЗОЛЯТА ВОЗБУДИТЕЛЯ ЭПИЗООТИЧЕСКОГО
ЛИМФАНГОИТА ЛОШАДЕЙ****Каукарбаева Мадина Жумагалиевна,**

Аспирант, младший научный сотрудник

лаборатории диагностики инфекционных заболеваний

Адалбекова Алия Курмангазыевна,

Бакалавр, старший лаборант лаборатории диагностики инфекционных заболеваний

Жунушов Асанкадыр Темирбекович,

Доктор ветеринарных наук, профессор, академик НАН КР

**ЖЫЛКЫЛАРДЫН ЭПИЗООТИЯЛЫК ЛИМФАНГИТИНИН
КОЗГОГУЧУНУН ИЗОЛЯТЫН ӨСТҮРҮҮ****Каукарбаева Мадина Жумагалиевна,**Аспирант, жугуштуу ооруларды диагностикалоо лабораториясынын
кенже илимий кызматкери**Адалбекова Алия Курмангазыевна,**

Бакалавр, жугуштуу ооруларды диагностикалоо лабораториясынын улук лаборанты

Жунушов Асанкадыр Темирбекович,

Ветеринария илимдеринин доктору, профессор, КР УИАнын академиги

**CULTIVATION OF AN ISOLATE OF THE CAUSATIVE AGENT
OF EQUINE EPIZOOTIC LYMPHANGITIS****Kaukarbayeva Madina Zhumagalievna,**

Postgraduate student, Junior Researcher, Laboratory of Infectious Disease Diagnostics

Adalbekova Aliya Kurmangazyevna,Bachelor's degree, Senior Laboratory Technician of the Infectious Diseases Diagnostic Laborato-
ry**Zhunushov Asankadyr Temirbekovich,**

Doctor of veterinary sciences, professor, academician NAS KR

Аннотация. Эпизоотический лимфангит (лат. – *Lymphangoitis epizootika*; англ. – *Epizootic lymphangitis*; африканский сап, бластомикоз, эпизоотическое воспаление лимфатических сосудов) – хронический микоз однокопытных животных, характеризующийся воспалением лимфатических сосудов кожи и подкожной клетчатки с образованием гнойных фокусов и язв.

Первые сообщения об эпизоотическом лимфангите относятся к 1399 г. В XIX в. болезнь была широко распространена в Северной Африке, Индии и других средневосточных и восточных странах. В последние годы эпизоотический лимфангит регистрируется и в нашей стране. Экономический ущерб при массовых вспышках болезни значителен, так как лошадей в течение многих месяцев не используют в работе.

Болезнь вызывает почкующийся дрожжевидный гриб *Histoplasma farciminosum* (син. *Cryptococcus farciminosum*). Клетки гриба, выделенные из гноя язв и гранулематозных очагов, имеют вид округлых, овальных или яйцевидных почкующихся тел, телец-криптококков.

Целью исследований явилось выделения полевого изолята возбудителя эпизоотического лимфангита. В результате проведенных НИР выделен изолят «2023/Караганда» гриба *Histoplasma farciminosum* из очага эпизоотий на территории Карагандинской области. Сравнительно изучены культуральные свойства изолят «2023/Караганда» с музейными штаммами гриба *Histoplasma farciminosum*.

Изучены параметры и оптимальные условия культивирования изолята «2023/Караганда» гриба *Histoplasma farciminosum*.

Выделенный изолят «2023/Караганда» гриба *Histoplasma farciminosum* в дальнейшем будет использован для приготовления диагностических и профилактических препаратов эпизоотического лимфангоита лошадей.

Ключевые слова: эпизоотический лимфангит, полевой изолят, культивирование, динамика накопления.

ВВЕДЕНИЕ

Эпизоотический лимфангоит – хронически протекающая инфекционная болезнь однокопытных, характеризующаяся воспалением лимфатических сосудов кожи и подкожной клетчатки с образованием гнойных фокусов и язв. Возбудитель болезни – гриб *Histoplasma farciminosum*. Источниками возбудителя инфекции служат больные животные, выделяющие во внешнюю среду вместе с гноем язв множество криптококков. Возбудитель проникает в организм через поврежденную кожу (раны, ссадины) обычно в области холки, спины, головы, конечностей, развивается в лимфатических капиллярах и вызывает образование узлов, гнойных фокусов и поражений лимфатических сосудов. В последующем гнойные воспаления вскрываются, и на их месте образуются медленно заживающие язвы. Вокруг очагов воспаления образуются соединительнотканые капсулы. Процесс может приобретать генерализованный характер (при котором криптококки попадают в кровь), вследствие чего захватываются большие участки кожи и слизистых оболочек, что приводит к возникновению гнойных очагов во внутренних органах. По ходу лимфатических сосудов в области задних конечностей, подгрудка, холки, вымени, реже на других местах тела появляются плотные, твердые, безболезненные узлы величиной с орех, которые впоследствии вскрываются, образуя язвы, из которых вытекает сначала беловатый, а затем желтый гной. Лимфатические сосуды утолщаются и приобретают вид шнуров и чёток. По ходу лимфатических сосудов образуются новые узлы, которые в дальнейшем превращаются в язвы. Часто может поражаться и слизистая оболочка носовой перегородки и носовых раковин, вследствие чего болезнь становится сходна с сапом. У лошадей при локальной и распространённой формах заболевания температура тела обычно нормальная, при

генерализованной форме наблюдается повышение температуры на 1-2 °С. У животных, которые переболели эпизоотическим лимфангоитом создаётся стойкий пожизненный иммунитет. Болезнь протекает довольно долго (недели, месяцы) [1-4].

Диагноз на эпизоотический лимфангоит лошадей устанавливают на основании комплекса эпизоотологических, клинических данных, патологоанатомических изменений и результатов серологических исследований.

Коммерческие тест-системы для диагностики эпизоотического лимфангоита лошадей не существуют, хотя данные тест-системы дорогостоящие и в некоторых случаях не доступны. В связи с эпизоотическими/эпидемиологическими ситуациями на территории Республики Казахстан одним из важнейших требований сегодняшнего дня является разработка тест-системы на основе ИФА для диагностики эпизоотического лимфангоита лошадей.

Материалы и реактивы

В работе использовали: изолят «2023/Караганда» гриба *Histoplasma farciminosum* музейные штаммы гриба *H. Farciminosum*: «ЮЧ», «Т», «*H. Farciminosum* 0094/НИИПББ», «*H. Farciminosum* 0093/НИИПББ».

Для культивирования штаммов гриба *H. farciminosum* использовали агар Сабуро и бульон Сабуро, ГРМ-агар, ГРМ-бульон, мясопептонный агар (МПА), мясопептонный бульон (МПБ) и тиогликолевую среду.

При проведении научных экспериментов использованы следующие реактивы и материалы: бензилпенициллин сухой, спирт этиловый 70 %, микробиологическая петля, бактериологические пробирки и пипетки, спецодежда (халаты, защитные очки, маски, резиновые перчатки), дозаторы (от 0,1 до 0,5 мкл), наконечники для микропипеток (1,5 мкл до 1000 мкл), пробирки типа Eppendorf (1,5 и 0,5 мл), автоматические дозаторы фирмы «Ленпипет» и «Eppendorf», наконечники

для автоматических дозаторов, штативы для пробирок и микропробирок, метиленовый синий, сафранин.

В процессе культивирования были использованы следующие оборудования: бытовой холодильник (4 ± 2) °C, микроскоп световой, бокс биологической безопасности, II класс защиты, ESKO, Микроскоп, Primo Star (Carl Zeiss), CO₂-инкубатор CB150 BINDER, водяная WB-4 MS DBio, шейкер-инкубатор 420 HP, Thermo Block TDB-120;

Культивирование гриба *Histoplasma farciminosum* проводили на твердой и жидкой питательной среде Сабуро pH 7,2.

Твердая питательная среда представляет собой среду Сабуро с добавлением агара Difco до конечной концентрации 1,5 %. Стерилизацию агаризованной среды проводили автоклавированием при 1 атм в течение 20 мин. Затем среду охлаждали до 50 °C, добавляли антибиотики – ампициллин до конечной концентрации – 25 мкг/мл, тетрациклин – 10 мкг/мл и хлорамфеникол – 15 мкг/мл и разливали в стерильные чашки

Посев (инокуляцию) гриба на агаризованную поверхность проводили двумя способами – истощающим штрихом или растиранием. Посевы инкубировали в термостате при температуре 28-30 °C.

Второй способ заключался в нанесении в центр чашки с агаровой средой капли (10-100 мкл) грибной суспензии. Затем стерильным шпателем растирали суспензию по всей поверхности среды, осторожно перемещая шпатель.

Культивирование гриба *Histoplasma farciminosum* в жидкой питательной среде Сабуро проводили в колбах объемом 150 мл с содержанием среды 50 мл. Колбы со средой стерилизовали в автоклаве при 1 атм в течение 20 мин. В среду вносили антибиотики: ампициллин – 25 мкг/мл, тетрациклин – 10 мкг/мл, хлорамфеникол – 15 мкг/мл. Инокуляцию питательной среды проводили растертой грибной массой в объеме 0,5 мл. Колбы с инокулятом закрывали стерильной ватно-марлевой пробкой и культивировали при температуре 28-30 °C на термостатируемых качалках с частотой вращения 120 об/мин без освещения. Культивирование гриба проводили в течение 6-8 сут.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

6 апреля 2023 году сотрудниками Научно-исследовательского института проблем биологической безопасности в селе Умиткер Карагандинской области от больных лошадей были получены патологические материалы (из не вскрывшихся гнойных узлов) с подозрением на эпизоотический лимфангоит лошадей.

В лабораторных условиях проведены опыты по получению чистой культуры возбудителя гриба *Histoplasma farciminosum* из биоматериала, в итоге изолят назван «2023/Караганда» гриба *Histoplasma farciminosum*.

Для получения из патологических материалов чистой культуры использовали среду Сабуро с добавлением ампициллина, стрептомицина, тетрациклина и хлорамфеникола. Патологический материал, взятый от больных лошадей, ресуспендировали физиологическим раствором 1:10 и в количестве 0,5 мл высевали на агаризованную среду в чашках Петри. По истечении 9 дней на поверхности агара наблюдался рост мелких колоний гриба. В дальнейшем отбирали отдельную колонию гриба и высевали в жидкую питательную среду. Через 3 сут инкубирования на качалках в колбах наблюдали образование отдельных склероций мицелия гриба.

При выделении чистой культуры гриба из патологического материала для контроля и доказательства наличия гриба *Histoplasma farciminosum* использовали контрольные музейные штаммы «ЮЧ», «Т», «*H. Farciminosum* 0094/НИИПББ», «*H. Farciminosum* 0093/НИИПББ» данного гриба, выделенные и депонированные ранее с целью в дальнейшем для подбора штаммов для приготовления антигена данного возбудителя болезни.

Предварительный анализ роста изолята показал, что при культивировании гриба на агаризованных средах развиваются плоские, восковидные колонии бело-серого или слегка розоватого цвета. Центр колонии слегка опушен мелким белым мицелием. При аналогичных же условиях культивирования контрольные штаммы «ЮЧ», «Т», «*H. Farciminosum* 0094/НИИПББ», «*H. Farciminosum* 0093/НИИПББ» гриба *Histoplasma farciminosum* развивается в виде колоний серо-белого цвета. Поверхность колоний опушенная, плотно прилегающая к среде, не бугристая.

На рисунке 13 (а, б) приведены фотографии роста колоний изолята «2023/Караганда» и в качестве контроля штамм

«*H.Farcimosum* 0094/НИИПББ» гриба *Histoplasma farcimosum* на твердой питательной среде Сабуро.



А



Б

Примечание: А – изолят 2023/Караганда, Б – штамм «*H.Farcimosum* 0094/НИИПББ» (контрольный штамм)

Рисунок 13 – Культура гриба *Histoplasma farcimosum* на агаризованной среде Сабуро

При культивировании изолята «2023/Караганда» и контрольного штамма «*H.Farcimosum* 0094/НИИПББ», а также штаммы «ЮЧ», «Т», «*H.Farcimosum* 0093/НИИПББ» гриба в жидких питательных средах на ферментерах образовывались круглые пустотелые склероции, размер которых зависел от концентрации спор в инокулюме и варьировал от 0,5 до 3,0 см в диаметре, при стационарном же методе выращивания в обоих случаях гриб прорастал в виде мицелиальной пленки на поверхности жидкой питательной среды.

Микроскопический анализ изолята гриба показал, что морфологические элементы гриба представлены в виде бесцветного, прозрачного, септированного мицелия толщиной от 3 до 5 мкм в диаметре. Концевые гифы ветвящегося мицелия образуют округлые, овальные микроконидии 2-3 мкм в диаметре. На 6-8 сутки культивирования образуются концевые хламидоспоры размером 6-9 мкм в диаметре. Контрольный штамм «*H.Farcimosum* 0094/НИИПББ» был также представлен септированным бесцветным мицелием толщиной 3-5 мкм. Микроконидии круглые, 2-3 мкм в диаметре.

Световая микроскопия мицелия гриба выделенного изолята показывает сходные признаки с контрольным штаммом

«*H.Farcimosum* 0094/НИИПББ» гриба *Histoplasma farcimosum*. Таким образом, в процессе культивирования была получена чистая культура изолята «2023/Караганда» гриба *Histoplasma farcimosum* с характерными для данного возбудителя морфологическими признаками.

В дальнейших экспериментах штамм «2023/Караганда» гриба *Histoplasma farcimosum* использовали для наработки антигенов гриба и изучения физических и химических свойств, а также разработки методов и средств серологических реакций.

При изучении культуральных и антигенных свойств гриба *Histoplasma farcimosum* первоочередной задачей был подбор и анализ различных прописей питательных сред с целью максимального накопления биомассы гриба в лабораторных условиях.

Для решения данного вопроса были использованы различные прописи питательных сред, указанные в таблице 1. Выращивание гриба проводили в колбах на 250 мл с 100 мл питательной среды с добавлением антибиотиков: стрептомицина, бензилпенициллина, тетрациклина. Инокуляцию жидких питательных сред проводили внесением 1,0 мл суспензии растертого мицелия гриба и инкубировали при температуре 28 °С при непрерывном перемешивании в течение 6 сут.

Таблица 1 – Зависимость накопления биомассы гриба *Histoplasma farciminosum* от среды культивирования

№ п/п	Наименование и состав питательной среды	Вес сырого мицелия через 6 сут, г
1	Сабуро обогащенная: 40 г глюкозы, 20 г пептона, 2 г аспарагина, 100 мг тиамина на 1000 мл воды	$6,66 \pm 0,53$
2	Сабуро минимальная: 40 г глюкозы, 10 г пептона, на 1000 мл воды	$4,53 \pm 1,15$
3	Среда Чапека	$3,21 \pm 0,54$
4	Лори-Бертрани: NaCl 10 г, дрожжевой экстракт 5 г, триптон 10 г на 1000 см ³ воды	$5,50 \pm 0,34$
5	NaCl 10 г, пептон 5 г, дрожжевой экстракт 5 г, глюкоза 20 г на 1000 мл воды	$9,63 \pm 0,68$
6	Аспарагина 2 г, тиамина 100 г на 1000 мл воды	$0,26 \pm 0,10$
7	GLA -10 г на 1000 мл воды	$6,46 \pm 0,89$
8	GLA -10 г, NaCl 5 г, глюкоза 10 г на 1000 мл воды	$7,80 \pm 1,15$
9	GLA -10 г, глюкоза 10 г на 1000 мл воды	$6,97 \pm 0,72$
10	Глюкоза 40 г на 1000 мл воды	$0,24 \pm 0,01$
11	Мясной бульон говяжьего мяса 1000 мл	$16,80 \pm 1,25$
12	Мясной бульон говяжьего мяса 1000 мл, сахароза 20 г	$12,44 \pm 1,60$
13	Мясной бульон говяжьего мяса 1000 мл, сахароза 20 г, глюкоза 10 г	$13,30 \pm 1,50$
14	Мясной бульон говяжьего мяса 1000 мл, глюкоза 20 г, пептона 10 г, NaCl 5 г	$11,81 \pm 0,79$
15	Мясной бульон бараньего мяса	$10,15 \pm 1,10$
16	Мясной бульон бараньего мяса 1000 мл, глюкоза 20 г	$16,20 \pm 0,30$
17	Мясной бульон бараньего мяса 1000 мл, глюкоза 20 г, NaCl 5 г	$14,76 \pm 0,64$
18	Мясной бульон бараньего мяса 1000 мл, глюкоза 20 г, пептона 10 г	$12,90 \pm 1,90$
19	Мясной бульон бараньего мяса 1000 мл, глюкоза 20 г, пептона 10 г, NaCl 5 г	$15,53 \pm 0,85$

Полученные результаты исследований показали, что максимальное накопление грибной биомассы гриба наблюдалось при использовании сред, приготовленных на основе мясопептонного бульона, выход биомассы на которых составлял от 10,15 до 16,8 г. На средах Сабуро и Чапека показатели роста гриба были значительно ниже ($4,53 \pm 1,15$ г и $3,21 \pm 0,54$ г соответственно).

В дальнейшем был проведен анализ активности антигенов культур гриба, выращенных в различных питательных средах. Для этой цели были отобраны мясопептонный бульон, среда Сабуро и среда Чапека, являющиеся наиболее дешевыми и отличающиеся простотой приготовления. Результаты исследований представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Зависимость накопления антигена от среды культивирования

№	Вариант питательной среды	Разведение антигена в РДП
1	Среда Сабуро	1:16-1:32
2	Среда Чапека	1:4-1:8
3	Мясопептонный бульон	1:2-1:8

Результаты анализа антигенной активности гриба, выращенных на различных средах показали иную картину, при которой наблюдается отсутствие зависимости между накоплением биомассы гриба и антигенов, анализируемых в РДП со специфической сывороткой против эпизоотического лимфангоита. Проведенные исследования показали, что максимальное накопление антигена (разведение до 1:32) отмечается в культуральной жидкости гриба при культивировании его на среде Сабуро, более низкие значения отмечены при выращивании на среде Чапека и мясо-пептонном бульоне (активность в разведениях 1:4-1:8 и 1:2-1:8 соответственно). Полученные результаты указывают на отсутствие корреляции между накоплением грибной массы и его серологической активностью у гриба *Histoplasma farciminosum*.

Таким образом, для дальнейших исследований гриба *Histoplasma farciminosum* в качестве питательной среды для культивирования использовали среду Сабуро. Использование данной среды обусловлено еще простотой ее приготовления и сравнительно невысокой стоимостью. Предпочтение среде Сабуро при культивировании гриба *Histoplasma farciminosum* отдается также и

другими авторами. Некоторыми авторами отмечено успешное использование среды Чапека и картофельно-декстрозной среды на мясо-пептонном бульоне с целью получения максимального выхода грибной массы [5, 6].

Следующим после отбора среды культивирования этапом при определении оптимальных условий культивирования гриба *Histoplasma farciminosum* являлось определение таких важных для роста параметров как температура инкубирования и pH питательной среды.

С этой целью инокулят суспензии гриба вносили в жидкую питательную среду с различными значениями pH (5,5, 7,2 и 8,5), затем зараженную питательную среду инкубировали при различных температурных значениях: 20 °C, 28 °C и 37,0 °C.

Визуальный осмотр колб с инокулированными средами показал, что начало роста колоний гриба наблюдалось на 3-4-е сут. на среде Сабуро с pH среды 7,2 при температуре 28 °C. При температуре 20 °C и pH 5,5 и 8,5 начало роста колоний гриба отмечалось на 10-12 -е сут, а при температуре 37 °C – рост гриба наблюдался еще позднее на 15-17-е сут.

Результаты исследований по влиянию температуры и pH среды на рост гриба представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Показатели роста гриба *H. farciminosum* в жидкой среде Сабуро при различных температурах и pH

Температура культивирования, °C	pH среды	Диаметр склероций, см	Общий объем склероций к объему среды, %
20	5,5	1,20±0,15	30
	7,2	1,50±0,20	50
	8,5	1,10±0,09	30
28	5,5	3,50±0,80	50
	7,2	4,50±1,00	65
	8,5	2,30±0,90	50
37	5,5	0,20±0,05	0,5
	7,2	0,25±0,06	0,8
	8,5	0,15±0,02	0,5

Из данных таблицы 3 видно, что наиболее интенсивный рост гриба отмечается при температуре культивирования 28 °C и pH 7,2. Размер склероций при этих условиях культивирования достигал 4-5 см, их объем в среде доходил до 65 % с образованием 6,1 млн спор/мл. При той же температуре, но с

pH 5,5 и 8,5 размер и объем склероций заметно уменьшались и составляли 2-4 и 50 %, соответственно. При выращивании гриба при температуре 20 °C с различными значениями pH, показание объема склероций к общему объему среды составляло 30-50 %, а при температуре 37 °C это значение составляло всего

лишь 0,5-1,0 % и сильной зависимости от pH среды не наблюдалось.

Таким образом, в дальнейших исследованиях с целью наработки биомассы гриба культивирование его проводили при температуре 28 °C со значением pH среды 7,2. Полученные экспериментальные данные полностью коррелируют с опубликованными данными других авторов [7-9, 10].

Следующим этапом исследований было определение срока максимального накопления антигенов в культуральной среде.

Таблица 5 – Динамика накопления антигенов гриба *Histoplasma farciminosum*

Материал	Сроки культивирования, сут.									
	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Разведение антигена в РДП	без разведения	1:2-1:4	1:8-1:16	1:16-1:32	1:32	1:32	1:16-1:8	1:8	1:4	1:2

Из полученных данных видно, что наибольшее накопление антигенов наблюдается при культивировании гриба в течение 6-7 сут, разведение которых составляла 1:16-1:32.

Данные согласуются с данными ряда авторов, указывающих на то, что максимальное накопление антигенов наблюдается в первые 10 дней культивирования гриба. Дальнейшее увеличение срока инкубирования не приводило к увеличению накопления антигена [11].

В работе Султанкуловой К.Т. с соавторами [11, 12] установлено, что уже к 15-16 сут. культивирования гриба *Histoplasma farciminosum* в среде Сабуро образует комплекс токсичных метаболитов. Удлинение сапрофитного роста приводит к старению мицелиальной массы, накоплению продуктов метаболизма в питательной среде. Полагается, что токсичные метаболиты синтезируются грибом и накапливаются в мицелиальной массе, а также экскретируются в культуральную жидкость. Скорее всего, это связано с тем, что токсины вместе с гормонами, пигментами и рядом других соединений относятся ко вторичным метаболитам. Наибольшее количество вторичных метаболитов накапливаются в культурах на более поздних фазах роста.

Необходимо также отметить, что содержание метаболитов в мицелии ниже, чем в культуральной среде. По-видимому, это свя-

зано с тем, что синтез токсичных метаболитов сопровождается активной секрецией их в среду, что может иметь большое значение в процессе патогенеза заболевания [12, 13].

Проведенные исследования по отработке оптимальных условий культивирования гриба *Histoplasma farciminosum* показали, что с целью максимального накопления антигенов гриба в лабораторных условиях необходимо проведение культивирования возбудителя в жидкой питательной среде Сабуро со значением pH 7,2 в течение 6-7 сут при температуре инкубирования 28,02 °C и с частотой вращения ферментера 150 об/мин.

Заключение

В результате опыта выделен изолят «2023/Караганда» гриба *Histoplasma farciminosum* из очага эпизоотий на территории Карагандинской области.

Сравнительно изучены культуральные свойства изолят «2023/Караганда» с музейными штаммами гриба *Histoplasma farciminosum*.

Изучены параметры и оптимальный условия культивирования изолята «2023/Караганда» гриба *Histoplasma farciminosum*.

Выделенный изолят «2023/Караганда» гриба *Histoplasma farciminosum* в дальнейшем будет использован для приготовления диагностических и профилактических препаратов эпизоотического лимфангоита лошадей.

Финансирование. Исследование выполнено при финансовой поддержке Комитета науки Министерства науки и высшего об-

разования Республики Казахстан (грант № BR218004/0223).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Литература:

1. Орлов, Ф. М. Инфекционные и инвазионные болезни лошадей сборник / Ф.М Орлов. - Москва : изд-во Сельхозиздат, 2015. - 560с.
2. Эпизоотология с основами микробиологии : учебник / А.С. Алиев, Ю.Ю. Данко, И.Д. Ещенко [и др.].- Санкт-Петербург : Лань, 2021. - 432 с.
3. Сосов Р. Ф., Эпизоотический лимфангит, в кн.: Инфекционные, инвазионные болезни лошадей, под ред. Ф. М. Орлова, М., 1976, с. 209-19.
4. Hadush B., Ameni G. Bacterial contaminants isolated from lesions of equine histoplasmosis in carthorses of Mekelle town, northern Ethiopia/ Hadush B., Biratu D., Taddele H., Tesfaye D. // *Revue Méd Vet.* – 2014; 165: 25-30.
5. Отчет НИР «Разработка метода диагностики, меры борьбы и профилактики эпизоотического лимфангоита лошадей» / НИСХИ. -1993. -С.7-19.
6. Борзионов В.Д., Красоткина А.С. и др. Иммуноферментный метод для серологической диагностики эпизоотического лимфангоита лошадей. // Тезисы докл. конф. посвященной столетию открытия вируса ящура, Проблемы инфекционной патологии с/х животных. Владимир, 1997. - С.196.
7. Саркисов А.Х. и др. Атлас грибов, патогенных для сельскохозяйственных животных и птиц, - М.: 1953. - 160 с.
8. Гуславский И.И. Эпизоотический лимфангоит и меры борьбы с ним. Алма-Ата: Кайнар, 1990. 15 с.
9. Демченко А.Г. и др. Эпизоотический лимфангоит в Казахстане. // Тезисы докладов научной конференции «Актуальные проблемы вирусологии». Гвардейский, 1994. Ч.II, - С.140.
10. Отчет НИР «Разработка метода диагностики, меры борьбы и профилактики эпизоотического лимфангоита лошадей» / НИСХИ. -1993. -С.7-19.
11. Бабенко Г.А., Мимозов В.Н., Караев З.О. Антигенные препараты для иммунодиагностики аспергиллеза // Микология и фитопатология. -1991. - Т.5, №1. - С. 43-47.
12. Султанкулова К.Т. и др. Токсико-биологическая оценка гриба *Histoplasma farciminosum* возбудителя эпизоотического лимфангоита лошадей. // Первая научно-практическая конференция «Ветеринария и зоотехнические вопросы коневодства». Алматы, 2003. -С.42.
13. Султанкулова К.Т. Биологическая характеристика гриба *Histoplasma farciminosum* и его токсичных метаболитов: автореф. диссертации канд. биол. наук: 03.00.07. Алматы. 2004. - С. 46-48.