

Zakażenia grzybicze u koni. Część III. Grzybice głębokie i układowe

Sebastian Gnat, Dominik Łagowski

z Zakładu Mikrobiologii Instytutu Przedklinicznych Nauk Weterynaryjnych Wydziału Medycyny Weterynaryjnej w Lublinie

W ciągu ostatnich 20 lat obserwuje się stały wzrost częstości występowania układowych zakażeń grzybiczych, co jest paradoksalnie spowodowane postępowaniem w medycynie, przede wszystkim powszechnym stosowaniem antybiotyków, środków immunosupresyjnych i wykonywaniem inwazyjnych zabiegów diagnostycznych oraz chirurgicznych (1). Układowe zakażenia grzybicze mogą dotyczyć jednego lub więcej narządów bądź przybierać postać zakażenia uogólnionego przebiegającego z fungemią (obecność patogenu we krwi). Do wystąpienia układowych zakażeń grzybiczych predysponują przede wszystkim stany upośledzenia odporności. Należy zwrócić uwagę na fakt, że choroby te mogą mieć pochodzenie endogenne bądź egzogenne (1).

Głębokie grzybice mogą stanowić również poważne zagrożenie dla koni. Zwykle wrotami lub pierwotnym miejscem infekcji grzybiczej są w tych przypadkach górne lub dolne drogi oddechowe, skąd patogeny rozprzestrzeniają się poprzez krwiobieg i układ limfatyczny do narządów trzewnych (2). Chociaż niektóre z wymienionych w tym artykule jednostek chorobowych notowana jest jedynie sporadycznie u koni, zwłaszcza w naszych szerokościach geograficznych, mają one wysokie znaczenie zoonotyczne, a znajomość ich etiologii, patogenezы i metod diagnostycznych stanowi ważny element właściwego rozpoznania

i terapii. W wielu przypadkach diagnoza oparta jest w głównej mierze na cechach klinicznych, endoskopii, radiografii lub ultrasonografii i nie jest specyficzna. Właściwa diagnoza w każdym rozpoznaniu powinna opierać się na wykazaniu patogenu w zakażonych tkankach. W niniejszym artykule przedstawione są czynniki etiologiczne grzybiczych zakażeń układowych u koni, ich objawy kliniczne oraz metody diagnostyki i terapii.

Adiaspiromykoza

Adiaspiromykoza to choroba płuc występująca u małych ssaków najczęściej u drobnych gryzoni, wydr, wiewiórek, kóz, psów, jeży, szopów, bobrów, rzadziej u ludzi i koni (3, 4). Choroba ta wywoływana jest przez grzyby dimorficzne z rodzaju *Emmonsia*. W Europie szeroko rozpowszechniony jest przede wszystkim gatunek *Emmonsia crescens* (synonim *Chrysosporium parvum* var. *crescens*), natomiast *Emmonsia parva* (synonim *Chrysosporium parvum* var. *parva*) notowany jest w obu Amerykach, Azji Środkowej i Afryce (tab. 1; 2). Grzyby te są wszechobecne w środowisku, szczególnie pospolicie występują w glebie na terenach leśno-stepowych, gdzie rosną w postaci saprofitycznej. W takich warunkach obficie wytwarzają 2–4 µm konidia zgromadzone w grubościennych sferulach, które są

wskazywane jako główne elementy infekcyjne i często określane terminem adiakonidii (2, 5).

U koni adiaspiromykoza jest bardzo rzadko diagnozowana. Pusterela i wsp. (6) opisali rozsianą infekcję płuc u konia spowodowaną przez grzyby *Emmonsia* spp (tab. 2). W tym przypadku infekcja pojawiła się po inhalacji adiakonidiów, które dotarły do pęcherzyków płucnych i wywołały silną reakcję immunologiczną. Objawy chorobowe przypominały gruźlicę, a wśród nich wymieniono przewlekłą utratę masy ciała, przyspieszenie oddechu i szmery w płucach. Wyniki badań hematologicznych wskazywały na zapalny proces zakaźny, odnotowano leukocytozę, neutrofilie, hiperfibrinogenię i hiperglobulinemię (6).

Rozpoznanie adiaspiromykozy jest trudne, ponieważ hodowla grzyba nie jest łatwa, a dodatkowo nie zostały opracowane żadne wiarygodne testy serologiczne (3). Rozpoznanie adiaspiromykozy opiera się na analizie radiogramów klatki piersiowej i poszukiwaniu adiakonidii w badaniu histopatologicznym (2). Patolodzy zazwyczaj muszą rozpoznać w obrazie duże sferule z trójwarstwową ścianą, która może być otoczona ziarniniami z martwicą lub zwłóknieniem lub bez nich (ryc. 1). W późniejszych przewlekłych stadiach choroby grzyb może przybierać różne rozmiary, przypominając tym samym inne grzyby lub wdychane ziarna pyłku, a nawet pasożyty, według niektórych autorów (7). W radiogramach klatki piersiowej zauważalne są rozproszone, małe guzkowate zagęszczenia tkanek miękkich. Zmiany te są rozproszone w płucach i nie do odróżnienia od

Fungal infections in horses. Part III. Deep and systemic mycoses

Gnat S., Łagowski D., Sub-Department of Microbiology, Institute of Preclinical Veterinary Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Life Sciences in Lublin

Over the past 20 years, there has been a steady increase in the incidence of systemic fungal infections, which is paradoxically related to advances in medicine, primarily the widespread use of antibiotics, immunosuppressive agents and the performance of invasive diagnostic and surgical procedures. Systemic fungal infections can affect one or more organs or take the form of a generalized infection with fungemia, i.e. the presence of the pathogen in blood. Deep and systemic mycoses can also be a serious threat to horses. In the present review, equine fungal diseases are classified into adiaspiromycosis, aspergillosis, blastomycosis, candidiasis, coccidioidomycosis, cryptococcosis, and *Pneumocystis* spp. infection. This article aims at summarizing the clinical manifestations, diagnosis, and therapies of equine fungal infections. The main cause of interest is that besides superficial dermatophytosis, for which culture and direct microscopic examination of hair shafts and skin scrapings may lead to a definitive diagnosis, recognition of deep fungal infections relies on biopsies and organism detection in histological examinations. Similarly, only few articles provide information about the morphological, physiological, and molecular features of the etiological agents and their *in vitro* and *in vivo* susceptibility to antifungal compounds. This has a serious effect on the availability of epidemiological data and knowledge of their clinical features, which should be summarized and indicated to clinicians with possible diagnostic techniques and treatment measures.

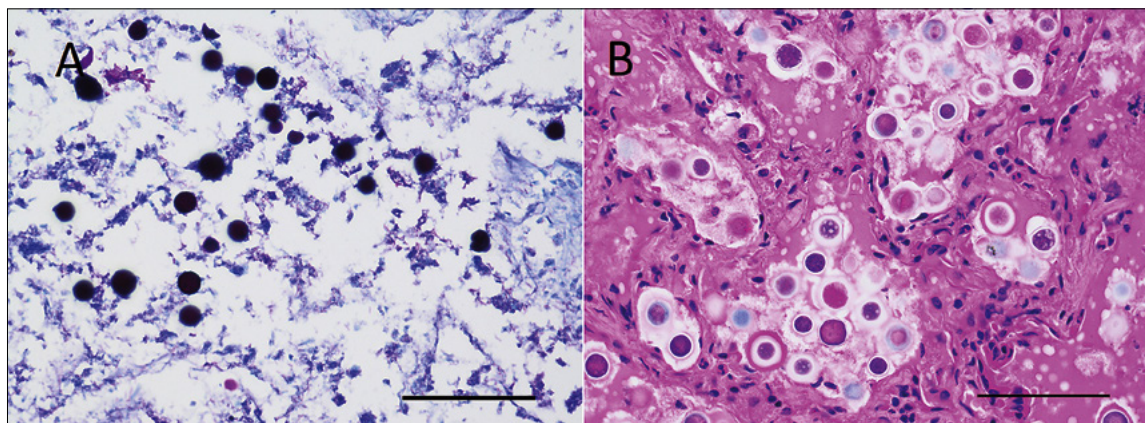
Keywords: fungi, deep infections, systemic infections, horses, diagnostic, treatment.

Tabela 1. Czynniki etiologiczne grzybiczych zakażeń głębokich u koni

| Choroba | Główne czynniki etiologiczne | Cytologia | Wygląd mikroskopowy |
|---|--|--|--|
| Adiaspiromykoza | <i>Emmonsia</i> spp. | ziarniniaki składające się z zewnętrznej warstwy makrofagów i komórek olbrzymich oraz wewnętrznego nacieku neutrofilowego otaczającego centralnie umieszczonego grzyba | sferule o średnicy 30–80 µm, złożone z drobnoziarnistego materiału eozynofilowego i otoczone grubą trójwarstwową otoczką (5–20 µm), barwienie PAS i GMS-dodatnie |
| Aspergiloza | <i>Aspergillus</i> spp. | przekrwienie błony śluzowej, naciek okołonaczyniowy i naciek neutrofilowy nabłonka; obecność struktur grzybiczych w wysięku i tkance martwiczej | ostro rozgałęziające się strzępki grzybów, sporadycznie konidia i ciała zarodnikujące |
| Blastomykoza | <i>Blastomyces dermatitidis</i> | przewlekłe zapalenie, z obfitą włóknistą tkanką łączną, ogniskami ziarniniakowymi i ropniakowatymi, charakteryzującymi się naciekami limfocytarno-plazmocytnymi i licznymi wielojądrowymi komórkami olbrzymimi | kuliste komórki drożdży o średnicy 15–17 µm i grubych ścianach, wyglądające jakby posiadały podwójne kontury |
| Kandydaza | <i>Candida</i> spp. | reakcja zapalna z neutrofilami, limfocytami i komórkami plazmatycznymi, a także drożdżami lub wydłużonymi strzępkami grzybów | pączkujące komórki drożdżopodobne i pseudostrzępki |
| Koccidioidomykoza | <i>Coccidioides immitis</i> | obecność ziarniniaków | sferule o średnicy 20–80 µm zawierające przetrwalniki o średnicy 2–5 µm |
| Kryptokokkoza | <i>Cryptococcus gattii</i> , <i>C. neoformans</i> | zapalenie ropne z obecnymi komórkami drożdży | okrągłe, pączkujące komórki drożdży o wielkości 2–20 µm, otoczone torebką |
| Zakażenia powodowane przez <i>Pneumocystis</i> spp. | <i>Pneumocystis</i> spp. | neutrofile i reaktywne makrofagi zawierające komórki grzybów | wiele skupisk mikroorganizmów o średnicy komórek około 6 µm z cienką przezroczystą otoczką i małymi wewnętrznymi ciałkami zasadofilnymi ułożonymi w pierścień |

Tabela 2. Grzybicze zakażenia głębokie u koni

| Choroba | Objawy kliniczne | Diagnostyka | Terapia |
|--|--|--|---|
| Adiaspyromykoza | przewlekła utrata masy ciała, gorączka, przyspieszone oddychanie i szmery płucne | histopatologia bioptatów tkanki płucnej, radiografia klatki piersiowej | brak danych |
| Aspergiloza | zapalenie zatok: wydzielina z nosa, powiększenie węzłów chłonnych zuchwowych, łzawienie i obrzęk w okolicach głowy oraz polipy zatok przynosowych | cytologia i badanie hodowlane z uszkodzonych tkanek lub popłuczyn oskrzelowych; histopatologia uszkodzonych tkanek; wyniki endoskopii, radiografii lub ultrasonografii | usunięcie chirurgiczne zmian grzybiczych w zatokach, płukanie 1% roztworem natamycyny przez 3–8 dni, a następnie nystatyna wdmuchiwana przez nozdrza |
| | nieżyt nosa: duszność, charczące oddychanie, wydzielina z nosa, krwawienie z nosa, powiększone zuchwowe węzły chłonne i potrząsanie głową | | roztwory enilkonazolu (0,2–2%) do płukania nosa, dwa razy na dobę przez kilka tygodni po mechanicznym usunięciu martwiczego materiału i implantacji cewnika |
| | infekcje worków powietrznych: krwawienie z nosa, dysfagia, nieprawidłowa postawa głowy, wydzielina z nosa, niedowład podniebienia miękkiego, porażenie gardła i porażenie połowicze krtani, depresja, kaszel | | itakonazol w dawce 3 mg/kg m.c. doustnie przez 30 dni |
| | postać płucna: przyspieszenie oddechu, szmery płucne lub opłucnowe, utrata masy ciała i gorączka | | megluminian fluniksyny (1,1 mg/kg m.c. przez trzy dni), trimetoprim-sulfametoksazol (30 mg/kg m.c. przez 7 dni) i worykonazol (10 mg/kg m.c. przez 24 dni); chirurgia w przypadkach odmy opłucnowej |
| Blastomykoza | letarg, kulawizny, jadłowstręt, utrata masy ciała związana z wydzieliną z nosa i/lub wysiękowymi zmianami skórnymi i infekcjami gruczołu sutkowego | cytologia i histopatologia uszkodzonych tkanek lub płynów; badanie hodowlane grzybów w wyspecjalizowanych laboratoriach | brak danych w literaturze |
| Kandydoza | postać ustna: zgrzytanie zębami, ślinotok i biały naciek pokrywający język i śluzówkę dziąseł | cytologia, histopatologia i hodowla grzybów z uszkodzonych tkanek i wysięków (np. wysięk jelitowy, nasienie, wydzielina z szyjki macicy, płyn żołądkowy, otrzewnowy i maziowy); endoskopia | wlew środka przeciwgrzybiczego (klotrimazol 500–700 mg lub nystatyna 0,5–2,5 mln jednostek lub amfoterycyna B 100–200 mg lub flukonazol 100 mg) przez 7–10 dni lub nawet dłużej w przypadkach opornych zakażeń |
| | postać żołądkowo-przelykowa i jelitowa: kolka, jadłowstręt, depresja i wodnista biegunka | | perfuzja solą fizjologiczną lub roztworem Ringera; suplementacja wodorowęglanem i potasem oraz transfuzja osocza |
| | infekcja dróg rodnych: wydzielina ze sromu | | jak w przypadku postaci ustnej z tym, że wlew domaciczny |
| Kokcidioidomykoza | gorączka, kaszel, kulawizna (postać płucna) | histopatologia, badanie mikroskopowe i hodowla grzybów z uszkodzonych tkanek, popłuczyn lub wysięków; serologia | itakonazol w dawce 2,6 mg/kg m.c. przez 6 miesięcy. |
| | ból mięśniowo-szkieletowy, poronienie, kolka z wysiękiem do otrzewnej lub zmianami skórnymi (zapalenie kości i szpiku) | | flukonazol (dawka nasycająca 15 mg/kg m.c., a następnie 5 mg/kg m.c. do czasu ustąpienia objawów i obniżenia poziomu IgG (miano <1:4) |
| Kryptokokoza | postać oddechowa: kaszel, szmery płucne, wydzielina z nosa, anoreksja, gorączka, ból brzucha | histopatologia, hodowla, immunohistochemia uszkodzonych tkanek; test aglutynacji lateksowej z użyciem płynu mózgowo-rdzeniowego i surowicy | wlewy amfoterycyny B (0,5 mg/kg m.c. przez 1 h) leczenie megluminą fluniksyny (50 mg przez 1 miesiąc, do skumulowanej dawki 3 g); do wyboru leczenie flukonazolem (5 mg/kg m.c. przez 4 tygodnie) i 10% roztwór enilkonazolu (50 ml wkraplane do zatok przynosowych, następnie 0,5 mg/kg przez 5 dni) |
| | zapalenie opon mózgowych: obustronna ślepotą, gorączka, rozszerzenie źrenic, anizokoria | | flukonazol (14 mg/kg raz, następnie 5 mg/kg przez 6 miesięcy) i megluminian fluniksyny (1,1 mg/kg m.c. przez 10 dni, a następnie 0,5 mg/kg m.c. przez 5 dni, a następnie 0,5 mg/kg przez 5 dni) |
| | infekcja dróg rodnych: zapalenie łożyska i zapalenie błony śluzowej macicy | | płukanie macicy płynem Ringera z mleczanami i roztworami powidonu-jodu do tygodnia po ożrebieciu i grzeofulwina przez 14 dni |
| Infekcje powodowane przez <i>Pneumocystis</i> spp. | kaszel, szmery płucne, przyspieszony oddech (36–64 oddechy/min), tachykardia (72 uderzenia/min) i gorączka (38–41°C) | cytologia, histopatologia płynu z popłuczyn oskrzelowo-pęcherzykowych | trimetoprim i sulfametoksazol (30 mg/kg m.c.) |



Ryc. 1. Sferule *Emmonsia* spp. w tkance płucnej po wybarwieniu PAS (A) i H&E (B); (powiększenie 400×, skala 50 μm)

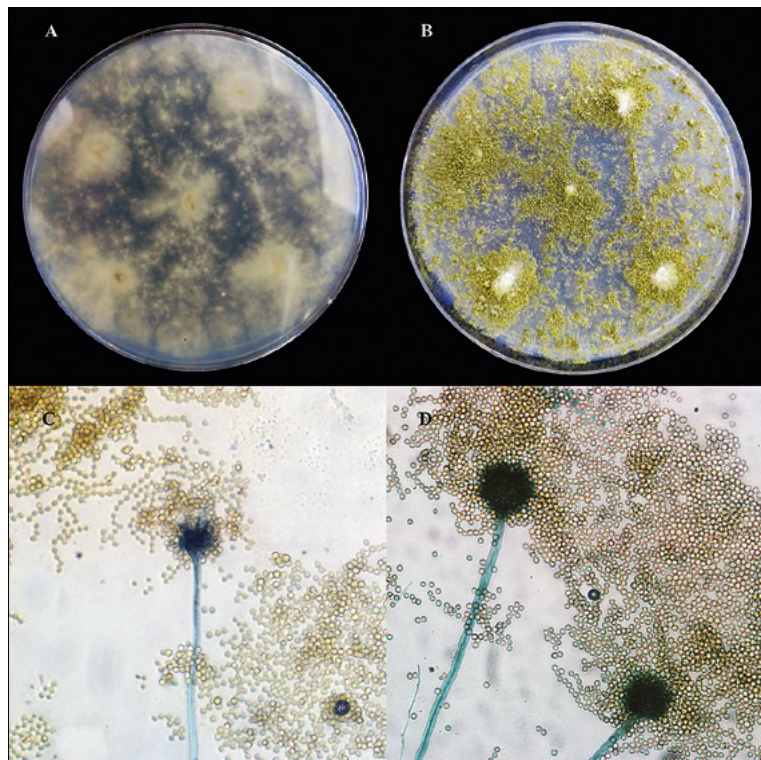
tych, występujących w infekcjach grzybiczych o innej etiologii, np. *Coccidioides immitis*. Ponadto, w literaturze opisano przypadki błędów diagnostycznych, w których adiaspyromykoza nie została rozpoznana różnicowo z rozszanymi nowotworami, zwłaszcza chłoniakami lub gruźlicą (2, 6). Próbkę pobrane z popłuczyn oskrzelowych i tchawicy nie ułatwiają rozpoznania. Z tego względu do diagnostyki adiaspyromykozy należy pobierać próbki za pomocą przezskórnej biopsji płuc (6). Materiał biopcytyczny należy wybarwić metodami PAS (periodic acid–Schiff) i GMS (Grocott Methenamine Silver). Jako specyficzną metodę diagnostyczną zaproponowano test PCR oparty na amplifikacji i analizie konserwatywnych regionów genu 28S rRNA z dotkniętej chorobą tkanki płucnej (6). Skuteczne w leczeniu adiaspyromykozy u ludzi okazały się kortykosteroidy i konwencjonalne środki przeciwgrzybicze o różnych pochodzeniu chemicznym (8). Niektóre doniesienia podają, że pacjenci z rozszaną adiaspyromykozą wracali do zdrowia bez stosowania leczenia farmaceutycznego (7). Poprawę stanu chorego obserwowano przeważnie dopiero po miesiącu od pojawienia się objawów (3). Strategie leczenia adiaspyromykozy u koni nie zostały jeszcze opisane.

Aspergiloza

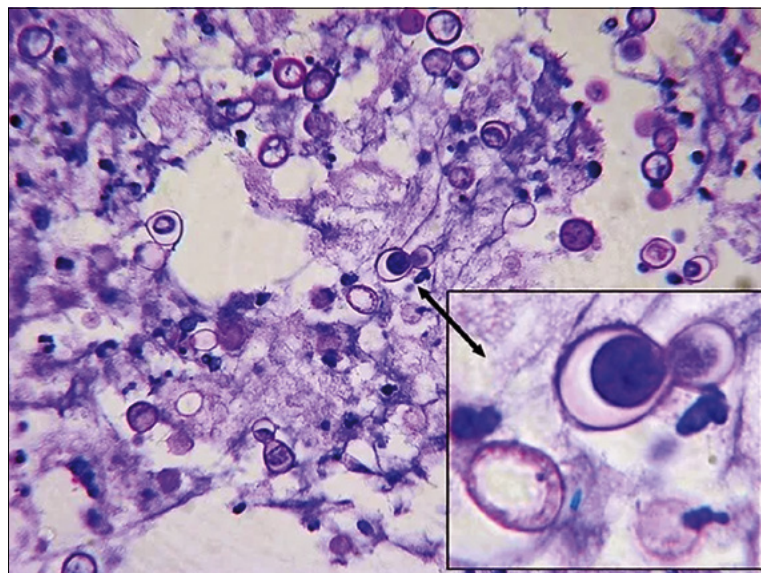
Aspergiloza koni to zakażenia oportunistyczne wywoływane przez grzyby pleśniowe z rodzaju *Aspergillus*. Aspergiloza koni jest uważana za rzadką, ale zagrażającą życiu infekcję, której częstość występowania waha się od 0,5 do 17% w niektórych badaniach europejskich (9). Gatunki o największej częstości izolacji to *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus nidulans* i *Aspergillus niger* (tab. 1; 9, 10, 11). Grzyby te naturalnie występują w środowisku, przede wszystkim na martwej materii organicznej, w paszy, kompoście, sianie i rozkładającej się roślinności (1). Ich zarodniki mogą powodować ciężkie infekcje, głównie u zwierząt z obniżoną odpornością bądź historią długotrwałego stosowania antybiotyków i kortykosteroidów bądź nowotworzeniem (1, 11, 12). Czynniki predysponującymi może być także uszkodzenie błony śluzowej z powodu urazu, zapalenia lub zakażenia, które potencjalnie mogą pozwolić na inwazję grzybów (1). Objawy kliniczne aspergilozy różnią się w zależności od lokalizacji zakażenia, ale zwykle

obejmują objawy płucne, oskrzelowo-płucne, obejmujące worki powietrzne, zapalenie zatok i/lub nieżyt nosa (tab. 2; 9, 11, 13, 14). U koni rolę grzybów w chorobach worka powietrznego podejrzewano po raz pierwszy pod koniec XIX wieku, jednak ostateczne dowody na to przedstawiono dopiero w 1968 r. Typowe zmiany charakteryzują się wyraźnie odgranieczoną, żółto-brązową, martwiczą tkanką, mocno przylegającą do powierzchni środkowego przedziału jednego worka powietrznego (15). Dopóki podstawowe struktury (naczynia i nerwy) nie są naruszone, zakażenie pozostaje bezobjawowe. Uszkodzenie tętnicy szyjnej wewnętrznej lub szczękowej prowadzi do nagłego obfitego krwawienia z nosa u konia w spoczynku. W ciągu kilku dni śmiertelny krwotok występuje w 34–60% przypadków. Zapalenie nerwów czaszkowych prowadzi do wystąpienia dysfagii (z wydzieliną z nosa), porażenia połowicznego krtani, niedowładu twarzy czy zespołu Hornera (16). Lane i wsp. (16) wskazali, że 10% koni z jednostronną lub obustronną wydzieliną z nosa było dotkniętych aspergilozą worka powietrznego. Aspergiloza nosa jest kolejną postacią choroby u koni, z szerokim zakresem występujących objawów klinicznych, charakteryzującą się przede wszystkim dusznością i wyciekami z nosa (17). Des Lions i wsp. (18) opisali przypadek, w którym wykazali obecność masy grzybiczej *A. fumigatus*. w zatoce czołowej 7-letniego wałacha.

Rozpoznanie w dużej mierze opiera się na anamnezie, badaniu klinicznym i wynikach badań dodatkowych, np. endoskopii, radiografii lub ultrasonografii, posiewie grzybów (ryc. 2), a także wynikach histopatologicznych (11, 13). Leczenie zakażenia zatok i nosa oraz grzybicy worka powietrznego zwykle daje pozytywne wyniki, gdy rozpoznanie jest szybkie (9, 11, 19). Aspergiloza dolnych dróg oddechowych charakteryzuje się zwykle złymi rokowaniami (13). W przypadku aspergilozy worka powietrznego u koni opisywane jest, że samo leczenie za pomocą antymykotyków ma zmienny wskaźnik powodzenia i obecnie nie jest zalecane bez jednoczesnego leczenia chirurgicznego (20). Preferowanym podejściem jest chirurgiczne zamknięcie zakażonej tętnicy lub tętnic, aby zapobiec dalszemu, prawdopodobnie śmiertelnemu krwotokowi (21). Inne metody obejmują embolizację przy użyciu odłączanego, samouszczelniającego się balonu lateksowego (22). Delfs i wsp. (23) opisują leczenie aspergilozy worka powietrznego poprzez umieszczenie



Ryc. 2. Makro- i mikromorfologia *Aspergillus fumigatus* wyizolowanego z worków powietrznych konia. Opis: A – wygląd rewersu na podłożu Sabourauda, B – wygląd awersu na podłożu Sabourauda, C – mikromorfologia w powiększeniu 400×, D – mikromorfologia w powiększeniu 1000×



Ryc. 3. *Blastomyces dermatitidis* w preparacie z aspiratu płucnego po wybarwieniu metodą PAS (25)

przetętniczych zatyczek naczyń z nitinolu w dotkniętych tętnicach.

Blastomykoza

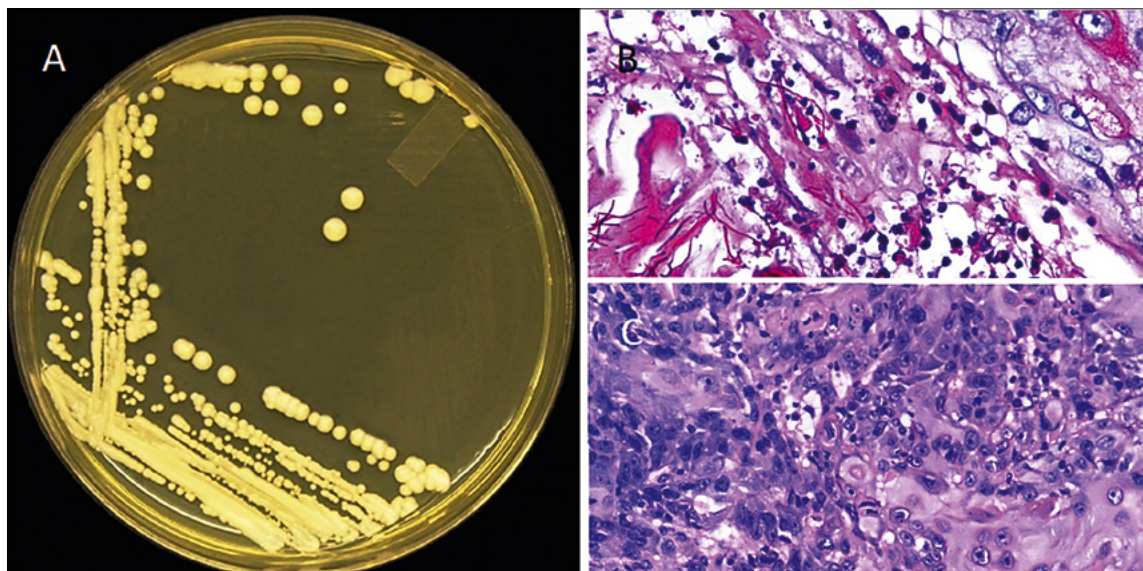
Blastomykoza, zwana inaczej chorobą Gilchrista, to grzybica ogólnoustrojowa wywołana przez dimorficzny gatunek grzyba *Blastomyces dermatitidis* (tab. 1; 1). Drobnoustrój ten w temperaturze pokojowej występuje w formie strzępkowej, a w temperaturze 37°C w postaci drożdżowej (1). W środowisku naturalnym rośnie

na glebach piaszczystych, kwaśnych i wzdłuż cieków wodnych (2). Blastomykoza została opisana głównie u psów i ludzi, a jedynie sporadycznie u koni (24, 25, 26, 27). Choroba ta występuje endemicznie w Ameryce Północnej oraz w niektórych regionach Afryki, rzadko w Europie (1). Główną drogę zakażenia u koni jest inhalacja elementów zakaźnych grzyba, jednakże nie można wykluczyć również zakażeń przezskórnych (26, 27). Po zakażeniu zarodniki konidialne przekształcają się w temperaturze 37°C w komórki fazy drożdżowej, które namnażają się w tkankach, głównie w płucach, i mogą rozprzestrzeniać się poprzez krwiobieg i układ limfatyczny do innych narządów wewnętrznych. Blastomykoza u koni może występować w dwóch postaciach, tj. skórnej lub ogólnoustrojowej (24, 25, 26). W drugiej wymienionej postaci zajęte są głównie płuca, a badanie radiologiczne klatki piersiowej może ujawniać wysięk opłucnowy i zmiany w pęcherzykach płucnych (24, 25). Opisano również blastomykotyczne zapalenie kości i szpiku bez jednoczesnego zajęcia płuc (27). W badaniu hematologicznym w przebiegu blastomykozy stwierdzana jest niedokrwistość, hiperproteinemia, hiperglobulinemia, hiperfibrinogenemia i hipoalbuminemia (24, 26).

Rozpoznanie blastomykozy można przeprowadzić kilkoma metodami. Przydatne okazało się badanie histopatologiczne i/lub cytologiczne zakażonych tkanek, tj. skóry, tkanki podskórnej, osierdzia, płuc, płynu z tchawicy i opłucnej (tab. 2; 1). W obrazie histopatologicznym stwierdzany jest przewlekły stan zapalny we wszystkich dotkniętych chorobą tkankach, komórki drożdżowe można wyraźnie uwidocznic za pomocą barwienia PAS i GMS (ryc. 3; 24, 25, 27). Podczas sekcji w płucach i innych dotkniętych tkankach można zaobserwować zwarte guzki o średnicy do 2,0 cm (26). W pośmiertnym badaniu histopatologicznym zajętych narządów uwidocznic można guzki, pojawiające się jako ogniskowe skupiska makrofagów i drożdżopodobnych okrągłych komórek o cienkich ścianach (25). Badanie hodowlane możliwe jest do wykonania wyłącznie w laboratoriach o 3. poziomie bezpieczeństwa biologicznego. Dodatni wynik posiewu najczęściej potwierdza rozpoznanie blastomykozy oparte o wynik histopatologii. Strategie leczenia nie zostały jeszcze zdefiniowane, ponieważ wszystkie przypadki kliniczne dostępne w literaturze zostały opisane a posteriori u śpiących koni. Jednak podawanie amfoterycyny B i ketokonazolu okazało się skuteczne u ludzi i psów (2, 25).

Kandydaza

Candida to bardzo liczny w gatunki rodzaj workowców, z których tylko nieliczne zostały opisane jako drobnoustroje oportunistyczne (1). Gatunek *Candida albicans* jest głównym patogenem w obrębie rodzaju i wraz z *Candida krusei*, *Candida famata* i *Candida parapsilosis* opisywane są jako czynniki etiologiczne kandydazy u koni (tab. 1; 2). Drożdże te wchodzi w skład mykrobioty skóry oraz górnych dróg oddechowych, przewodu pokarmowego i narządów płciowych ludzi i zwierząt stałocieplnych, a w środowisku naturalnym występują powszechnie w glebie, wodzie, na roślinach



Ryc. 4. *Candida albicans* w obrazie makromorfologicznym na podłożu Sabourauda (A) oraz w badaniu histopatologicznym po barwieniu PAS (B; powiększenie 400×) i po barwieniu H&E (C; powiększenie 200×)

i owocach (1). Czynniki predysponujące do zakażenia u koni obejmują stany niedoboru odporności, długotrwałe podawanie antybiotyków i/lub kortykosteroidów, stosowanie cewników dożylnych i moczowych lub rurki dotchawiczej oraz dysbiozę mikrobioty skóry lub układu moczowo-płciowego i żołądkowo-jelitowego (1, 28, 29). Kandydazy koni charakteryzują się różnymi objawami klinicznymi, które można sklasyfikować w zależności od lokalizacji zmian chorobowych, tj. ogniska chorobowe w przewodzie pokarmowym, drogach rodnych i zakażenia ogólnoustrojowe (28, 30, 31).

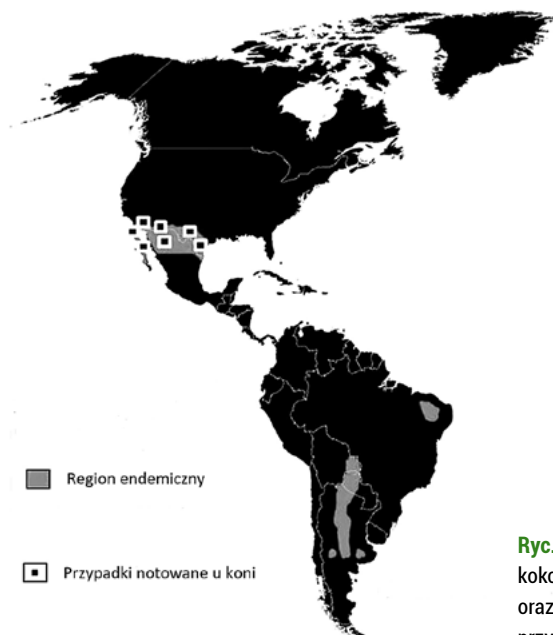
Rozpoznanie kandydozy opiera się na wyniku badania hodowlanego materiału pobranego ze zmian powierzchniowych lub wysięków jelitowych, nasienia, wydzieliny z szyjki macicy, płynu żołądkowego, otrzewnowego i maziowego oraz badania histopatologicznego po wybarwieniu metodą PAS lub GMS (ryc. 4; 30, 31). Przydatne może być również badanie cytologiczne śluzówki macicy i płynu żołądkowego (tab. 2; 30). Endoskopia może być wykorzystana w przypadkach kandydozy żołądkowo-przełykowej. W leczeniu stosuje się amfoterycynę B u zwierząt z rozsianą kandydozą. Doniesienia literaturowe wskazują ponadto, że flukonazol jest również skuteczny, bezpieczny, stosunkowo niedrogi i łatwiejszy do podawania (28). W przypadku zakażeń dróg rodnych zaleca się podanie wewnątrzmaciczne leków przeciwgrzybiczych. Infekcje mają jednak charakter nawracający (31).

Kokcydioidomykoza

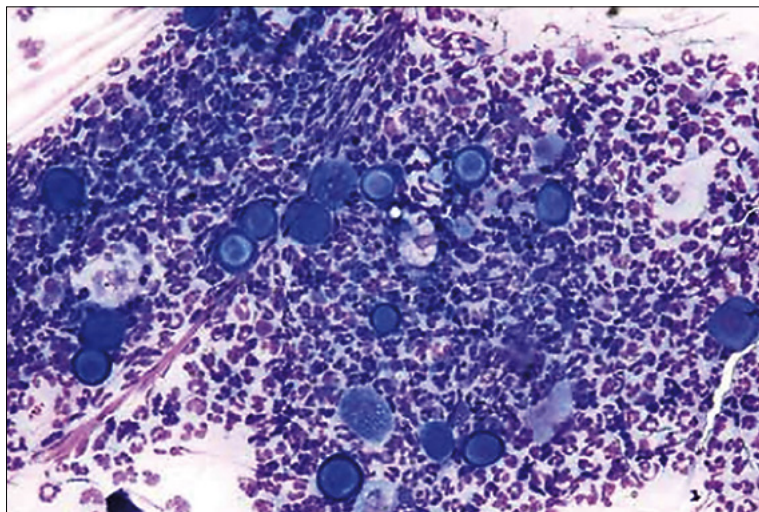
Kokcydioidomykoza, zwana inaczej gorączka San Joaquin Valley, to choroba grzybicza wywołwana przez grzyby z rodzaju *Coccidioides* (tab. 1). Te dimorficzne patogeny wywołują infekcje powierzchniowe oraz układu oddechowego, mięśniowo-szkieletowego, nerwowego i oczu. W ostatnich latach opisywane kokcydioidomykozy powodowane są przez dwa gatunki, mianowicie *Coccidioides immitis* i *Coccidioides posadasii* (1). Pierwszy z nich po raz pierwszy opisano w Kalifornii, a drugi w Ameryce Środkowej i Południowej (ryc. 5; 2). Ponadto, w literaturze występują opisy

przypadków kokcydioidomykozy u koni, a większość z nich dotyczy zakażenia w postaci ogólnoustrojowej powodowanych przez *C. immitis* (1, 2). Głównym siedliskiem grzybów w rejonach endemicznych są gleby o dużej zawartości niezbędnych składników odżywczych, takich jak żelazo, wapń i magnez (32). Wykazano ponadto, że *C. immitis* jest w stanie przetrwać w wodzie morskiej i przy 8% zawartości NaCl w wodzie do 6 tygodni (33).

Region geograficzny, rasa koni, przede wszystkim konie arabskie i najprawdopodobniej cięża u klaczy stanowią czynniki predysponujące do infekcji (34). Do zakażenia dochodzi podczas wdychania artrokonidiów przenoszonych przez pył i kurz (2). Po inhalacji w organizmie gospodarza grzyby tworzą sferule, które zawierają liczne (200–300) zarodniki. Po pęknięciu sferuli i uwolnieniu zarodników dochodzi do odnowienia pokolenia grzybów. Około 4,06% koni hodowanych w obszarach endemicznych, tj. w Arizonie, wykazuje zakażenia subkliniczne (35).



Ryc. 5. Region endemiczny kokcydioidomykozy oraz występowanie przypadków zakażenia u koni



Ryc. 6. Wynik badania cytologicznego materiału z tchawicy po wybarwieniu metodą Diff Quick (powiększenie 400x)

Kokcydiodomykoza u koni przechodzi od pierwotnego zakażenia płuc do choroby ogólnoustrojowej (34, 36). W literaturze naukowej dostępne są opisy przypadków związane z poronieniami i z zapaleniem łożyska, zakażeniem płodu i zapaleniem kości i szpiku powiązane z występującymi jednocześnie objawami oddechowymi lub bez nich (37, 38). Ponadto, zapalenie sutka może również wystąpić w przebiegu kokcydiodomykozy ogólnoustrojowej (39).

W diagnostyce zakażeń wykonuje się biopsje w połączeniu z badaniem hodowlanym i serologicznym (tab. 2; 2). Wynik badania histopatologicznego jest pozytywny, gdy uwidocznione są makrofagi zawierające kuliste lub owalne komórki drożdży, otoczone bardzo cienką i szklistą ścianą komórkową (40). Tkanka zapalna składa się z ziarniniaków z obecnością olbrzymich komórek Langhansa, plazmacytów i limfocytów (2). Badanie mikroskopowe tkanek lub płynów z płuczyn tchawicznych lub oskrzelowo-pęcherzykowych, węzłów chłonnych i wysięków z opłucnej może być wykonane przy użyciu 10% KOH i wybarwieniu błękitem laktofenolowym, barwienie H&E lub PAS (1). *Coccidioides* spp. rośnie w temperaturze 30°C w ciągu 2–5 dni na podłożu z wyciągiem mózgowo-sercowym (BHI), agarze ziemniaczano-dekstrozowym i agarze Sabourauda suplementowanym chloramfenikolem i cykloheksymidem. Hodowla grzybów powinna być ograniczona do laboratoriów o 3. poziomie bezpieczeństwa biologicznego. W rozpoznaniu kokcydiodomykozy pomocne są również testy serologiczne, m.in. testy immunodyfuzji w żelu agarowym (AGID) i testy ELISA do wykrywania przeciwciał IgM i IgG. Miano IgG niższe niż 1:8 może wskazywać na kontakt organizmu z drobnoustrojem, aczkolwiek bez rozwoju choroby (2, 36). Leczenie koni jest konieczne w przypadku utraty masy ciała przewyższającej 10%, obecności nacieków w płucach i miana IgG > 1:16 (36, 37). Według Komisji Chorób Zakaźnych Amerykańskiego Stowarzyszenia Weterynarzy Zoologicznych u zwierząt leczenie kokcydiodomykozy obejmuje stosowanie amfoterycyny B, itraconazolu i flukonazolu jako leków z wyboru, przy czym ten ostatni jest wskazany w leczeniu okulistycznym i zakażenia ośrodkowego

układu nerwowego (41). W standardowych procedurach leczenie tej grzybicy zalecane jest przez 1–6 miesięcy po ustąpieniu objawów klinicznych, pomimo tego notowane są liczne nawroty choroby (2, 36). W przypadku kokcydiodomykozy u koni itraconazol może być bardziej skuteczny w przypadku zmian kostnych, z zaznaczeniem, że zakażenia kości mogą być nieuleczalne (40). U koni odnotowano sukces terapeutyczny kokcydiodomykozy w przypadku postaci płucnych leczonych flukonazolem, u których objawy kliniczne ustąpiły w ciągu zaledwie 2 tygodni (42). Itraconazol był również skuteczny w leczeniu źrebięcia z kręgowym zapaleniem kości i szpiku przez 9 miesięcy, bez objawów toksyczności (43).

Kryptokokoza

Grzyby z rodzaju *Cryptococcus* są drożdżakami należącymi do podstawczaków, które powodują infekcję zwaną europejską blastomykozą lub torulozą (2). Głównymi patogenami są gatunki *Cryptococcus gattii*, *Cryptococcus neoformans* var. *grubii* oraz *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans* (tab. 1; 1). *Cryptococcus neoformans* w środowisku naturalnym występują w glebie, ptasich odchodach i gnijącej materii roślinnej, podczas gdy *C. gattii* można wykryć na 50 gatunkach drzew, w tym przede wszystkim należących do *Eucalyptus* spp. (44). Do zakażenia dochodzi w wyniku przypadkowej inhalacji bazydiospor ze środowiska, spożycia wysuszonych komórek drożdży lub, rzadko, poprzez zaszczepienie skórne (45). Młode konie i/lub osobniki z obniżoną odpornością są bardziej predysponowane do rozwoju choroby (45). Znanych jest wiele klinicznych postaci kryptokokozy, które lokalizują się m.in. w górnych drogach oddechowych i powodują nieżyt nosa lub zapalenie zatok, i dolnych drogach oddechowych, powodując zapalenie płuc, a także w układzie rozrodczym (46, 47). Opiswane są również rozsiane zakażenia prowadzące do zapalenia opon mózgowych (45). We wszystkich przypadkach objawy kliniczne nie są patognomiczne, a rozpoznanie powinno polegać na wykryciu i identyfikacji patogenu w zakażonych tkankach.

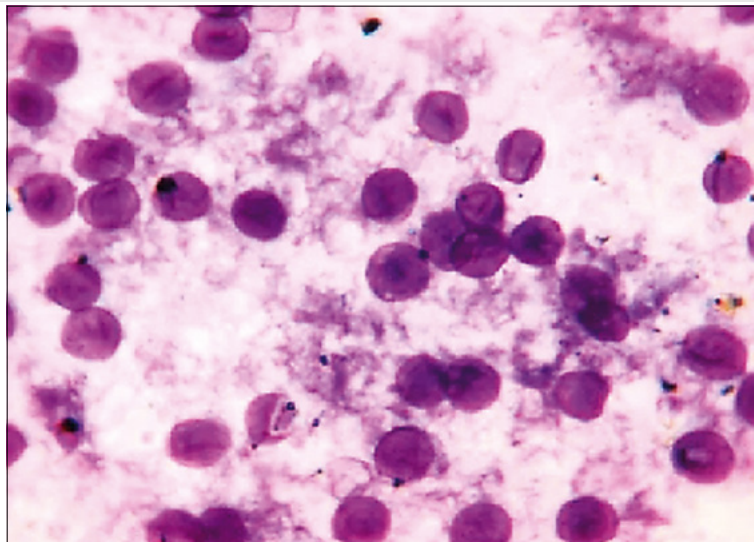
Rozpoznanie kryptokokozy płucnej u koni jest zwykle dokonywane na podstawie oceny cytologicznej wydzielin z dróg oddechowych pobranej z tchawicy lub oskrzeli (ryc. 6). *C. gattii*/*C. neoformans* mają charakterystyczny wygląd cytologiczny (44). Podobnie jak u ludzi, specyficzność badania cytologicznego u koni jest bardzo dobra, ale jest prawdopodobne, że czułość waha się między 30 a 80%, w zależności od immunokompetencji żywiciela (48). Natomiast wartość cytologii w leczeniu kryptokokozy jest ograniczona, ponieważ martwych komórek drożdży nie można odróżnić od żywych i mogą one utrzymywać się w trakcie i po odpowiednim leczeniu przeciwgrzybiczym (48). W badaniu histopatologicznym należy uwidocznnić blastosporę, najczęściej stosuje się barwienie materiału metodami PAS lub GMS. Inną techniką detekcji grzybów w materiale jest wykonanie preparatu negatywnego w tuszu chińskim, co pozwala na wizualizację otoczek (2). Wykrywanie antygenów *Cryptococcus* w próbkach biopsyjnych przeprowadzane jest

metodą immunohistochemiczną, natomiast z surowicy i/lub płynu mózgowo-rdzeniowego wykonuje się test aglutynacji antygenów lateksowych (LCAT) (45). LCAT jest komercyjnym, półilościowym testem aglutynacji szkiełkowej, wymagającym warunków laboratoryjnych i umiejętności technicznych w interpretacji. Czułość i swoistość wykrywania antygeny jest znacznie wyższa niż w cytologii i hodowli. Chociaż nie ma danych specyficznych dla konia, dane od ludzi wskazują, że LCAT ma czułość między 93 a 100%, a swoistość między 93 a 98%, w zależności od zastosowanego testu komercyjnego (48). Niemniej jednak LCAT nie posiada mocy dyskryminacyjnej rozróżnienia między *C. neoformans* a *C. gattii* i istnieje sugestia, że LCAT, który jest oparty na przeciwciałach pochodzących od *C. neoformans*, powoduje zwiększoną liczbę fałszywie ujemnych wyników ze względu na zmniejszone powinowactwo *C. gattii* (49). We wszystkich opisywanych przypadkach torulozy u koni leczeniem z wyboru była amfoterycyna B podawana dożylnie codziennie przez kilka tygodni (tab. 2; 46). Secombe i wsp. (44) opisali cztery przypadki kryptokokozy u koni, które były leczone flukonazolem w monoterapii i nie wykazano żadnych klinicznych skutków ubocznych. Drugim lekiem z wyboru jest amfoterycyna B, jednak podawanie tej substancji wymaga większych nakładów finansowych, podawania pozajelitowego i związane jest z większym ryzykiem działań niepożądanych w porównaniu z flukonazolem (50). W większości przypadków rokowanie jest zwykle złe (46, 47).

Zakażenia powodowane przez *Pneumocystis* spp.

Grzyby z rodzaju *Pneumocystis* to wysoce zróżnicowane patogeny, występujące zarówno w stanie komensalnym, jak i patogennym w płucach u ludzi i innych ssaków oraz gryzoni i królików, zwłaszcza u osobników z obniżoną odpornością (51, 52). Najczęściej notowanym gatunkiem u koni jest *Pneumocystis carinii*, a dane literaturowe wskazują, że źrebięta są predysponowane do zakażeń (2). Opisano trzy etapy cyklu życiowego *Pneumocystis* spp., tj. formy troficzne, sporocyty i dojrzałe cysty. Formy troficzne są najliczniejsze w płucach, stanowiąc 90–95% całej populacji (52, 53).

Zakażenia koni powodowane przez *Pneumocystis* spp. są rozpowszechnione na całym świecie, ale przeważają u źrebiąt koni arabskich do trzeciego miesiąca życia z towarzyszącymi niedoborami odporności, niedożywionymi oraz z infekcjami płuc o innej etiologii, m.in. na tle *Rhodococcus equi* (54). Literatura naukowa wskazuje, że choroba może wystąpić również u zwierząt immunokompetentnych (51, 55). Udokumentowano, że zmniejszony odsetek limfocytów T CD4⁺ i CD8⁺ we krwi obwodowej jest czynnikiem przyczyniającym się do rozwoju zapalenia płuc wywołanego przez *Pneumocystis* spp. u źrebiąt (56). Główne wrota zakażenia stanowi układ oddechowy. Po inhalacji zarodników *Pneumocystis* spp., grzyb nie kolonizuje górnych dróg oddechowych, ale zamiast tego przylega do komórek pęcherzyków płucnych typu I, upośledzając tym samym czynność płuc poprzez zablokowanie pęcherzyków i zmianę ich mikrośrodowiska, w konsekwencji wyzwalając odpowiedź zapalną i zwłóknienie



Ryc. 7. *Pneumocystis carinii* w badaniu histopatologicznym po wybarwieniu błękitem toluidyny O (powiększenie 400×)

śródmiażdżowe (51, 53, 55). Badanie przedmiotowe może nie ujawnić nieprawidłowości, podczas gdy na zdjęciu rentgenowskim najczęściej uwidocznione jest pęcherzykowo-śródmiażdżowe zapalenie płuc (2).

Pneumocystis spp. to grzyby niehodowalne *in vitro* (tab. 2; 53). Rozpoznanie zakażenia opiera się na badaniu cytologicznym i/lub histopatologicznym tkanek płucnych pobranych za pomocą płukania oskrzelowo-pęcherzykowego (BAL, bronchoalveolar lavage) lub pośmiertnej homogenizacji płuc. *Pneumocystis* spp. są wykrywane w materiale po wybarwieniu błękitem toluidyny O i/lub metodą GMS, które zabarwiają ścianę komórkową cyst na kolor czerwono-fioletowy lub ciemnobrązowy (ryc. 7; 53). Formy troficzne grzybów można zabarwić jedynie w barwieniu metodą Giemsy, wówczas jądro jest zabarwione na kolor różowo-fioletowy, a cytoplazma na niebieski (57). Do badania serologicznego wykorzystuje się przeciwciała znakowane fluoresceiną oraz rozmazy wyciskowe lub wymazy z homogenatu płucnego suszone na powietrzu (51). W badaniu pośmiertnym można zaobserwować proliferacyjne śródmiażdżowe zapalenie płuc charakteryzujące się dużą liczbą makrofagów w świetle pęcherzyków płucnych (51, 53, 55, 56).

Leczenie zapalenia płuc wywołanego przez *Pneumocystis carinii* u źrebiąt prowadzone jest najczęściej z wykorzystaniem trimetoprimu z sulfametoksazolem (58). Wyniki leczenia są jednak bardzo zmienne, zwłaszcza u źrebiąt. Niektóre doniesienia wskazują że stosowanie terapii trimetoprimem z sulfametoksazolem jedynie kontroluje infekcję ale nie eliminuje patogenu (59). Wspomagająco stosowana jest 4,4'-sulfonyldianilina (3 mg/kg m.c.), sulfonowy środek przeciwdrobnoustrojowy (60).

Podsumowanie

Grzybice układowe i głębokie u koni są jednostkami chorobowymi o znacznie mniejszej prewalencji występowania niż dermatofitozy i zakażenia podskórne. Niemniej jednak choroby te przebiegają w istotnie większym natężeniu, a ich diagnostyka i leczenie przysparzają trudności. W odróżnieniu od diagnostyki

dermatofitoz, w przypadku których bezpośrednie badanie mikroskopowe włosów i zeszkobin skóry oraz hodowla są stosunkowo łatwe i mogą prowadzić do ostatecznej diagnozy, diagnostyka zakażeń głębokich i układowych opiera się na biopsjach i wykrywaniu mikroorganizmów w badaniu histologicznym. Ich izolacja jest trudna, a niejednokrotnie niemożliwa, jak w przypadku *Pneumocystis carinii*. Dodatkowo, w literaturze niewiele jest informacji na temat morfologicznych, fizjologicznych i molekularnych cech czynników etiologicznych tych zakażeń, a także ich wrażliwości na związki przeciwrzybicze zarówno określonej *in vitro*, jak i *in vivo*. Przyszłe badania naukowe powinny zostać skupione na określeniu geograficznego zasięgu występowania grzybów powodujących infekcje głębokie oraz ocenie nowych, szybkich i specyficznych testów diagnostycznych. Należy również rozważyć badania dotyczące zjadliwości tych patogenów, aby ulepszyć obecne strategie terapeutyczne oraz monitorować rozprzestrzenienie zakażeń.

Piśmiennictwo

- Gnat S., Łagowski D., Nowakiewicz A., Dyląg M.: A global view on fungal infections in humans and animals: Opportunistic infections and microsporidiosis. *J. Appl. Microbiol.* 2021, n/a.
- Cafarchia C., Figueredo L.A., Otranto D.: Fungal diseases of horses. *Vet. Microbiol.* 2013, **167**, 215–234.
- Dot J.-M., Debourgogne A., Champigneulle J., Salles Y., Brizion M., Puyhardy J.M., Collomb J., Plenat F., Machouart M.: Molecular Diagnosis of Disseminated Adiaspiromycosis Due to *Emmonsia crescens*. *J. Clin. Microbiol.* 2009, **47**, 1269–1273.
- Simpson V.R., Tomlinson A.J., Stevenson K., McLuckie J.A., Benavides J., Dagleish M.P.: A post-mortem study of respiratory disease in small mustelids in south-west England. *BMC Vet. Res.* 2016, **12**, 72.
- Cafarchia C., Eatwell K., Jansson D.S., Meteyer C.U., Wibbelt G.: Other Fungal Infections. *Infect. Dis. Wild Mamm. Birds Eur.* Published online July 30, 2012, 466–475.
- Pusterla N., Pesavento P.A., Leutenegger C.M., Hay J., Lowenstine L.J., Durando M.M., Magdesian K.G.: Disseminated pulmonary adiaspiromycosis caused by *Emmonsia crescens* in a horse. *Equine Vet. J.* 2002, **34**, 749–752.
- England D.M., Hochholzer L.: Adiaspiromycosis: an unusual fungal infection of the lung. Report of 11 cases. *Am. J. Surg. Pathol.* 1993, **17**, 876–886.
- Turner D., Burke M., Bashe E., Blinder S., Yust I.: Pulmonary adiaspiromycosis in a patient with acquired immunodeficiency syndrome. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. Off Publ. Eur. Soc. Clin. Microbiol.* 1999, **18**, 893–895.
- Guillot J., Collobert C., Gueho E., Mialot M., Lagarde E.: *Emericella nidulans* as an agent of guttural pouch mycosis in a horse. *J. Med. Vet. Mycol.* 1997, **35**, 433–435.
- Ludwig A., Gatineau S., Reynaud M.-C., Cadoré J.-L., Bourdoiseau G.: Fungal isolation and identification in 21 cases of guttural pouch mycosis in horses (1998–2002). *Vet. J.* 2005, **169**, 457–461.
- Cafarchia C., Paradies R., Figueredo L.A., Padalino B., Greco M.F., Greco G., Otranto D.: A Case of Equine Aspergillosis: A Novel Sampling Procedure for Diagnosis. *J. Equine. Vet. Sci.* 2012, **32**, 634–637.
- Carrasco L., Tarradas M.C., Gómez-Villamandos J.C., Luque I., Arenas A., Méndez A.: Equine pulmonary mycosis due to *Aspergillus niger* and *Rhizopus stolonifer*. *J. Comp. Pathol.* 1997, **117**, 191–199.
- Tremaine W.H., Dixon P.M.: A long-term study of 277 cases of equine sinonasal disease. Part 2: Treatments and results of treatments. *Equine Vet. J.* 2001, **33**, 283–289.
- Sweeney C.R., Habecker P.L.: Pulmonary aspergillosis in horses: 29 cases (1974–1997). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1999, **214**, 808–811.
- Markus R., Deegen E., Drommer W., Ohnesorge B.: Guttural pouch mycosis. *J. Equine Vet. Sci.* 2005, **25**, 150–156.
- Lane J.G.: The management of guttural pouch mycosis. *Equine Vet. J.* 1989, **21**, 321–324.
- Kendall A., Bröjer J., Karlstam E., Pringle J.: Enilconazole Treatment of Horses with Superficial *Aspergillus* spp. Rhinitis. *J. Vet. Intern. Med.* 2008, **22**, 1239–1242.
- des Lions J.A., Guillot J., Legrand E., Bisseaud O., Jensen H.E.: Aspergillosis involving the frontal sinus in a horse. *Equine Vet. Educ.* 2000, **12**, 248–250.
- Carrasco L., Mendez A., Jensen H.E.: Chronic bronchopulmonary aspergillosis in a horse with Cushing's syndrome. *Mycoses.* 1996, **39**, 443–447.
- Lepage O.M., Piccot-Crézollet C.: Transarterial coil embolisation in 31 horses (1999–2002) with guttural pouch mycosis: a 2-year follow-up. *Equine Vet. J.* 2005, **37**, 430–434.
- Church S., Wyn-Jones G., Parks A.H., Ritchie H.E.: Treatment of guttural pouch mycosis. *Equine Vet. J.* 1986, **18**, 362–365.
- Léveillé R., Hardy J., Robertson J.T., Willis A.M., Beard W.L., Weisbrode S.E., Lepage O.M.: Transarterial Coil Embolization of the Internal and External Carotid and Maxillary Arteries for Prevention of Hemorrhage From Guttural Pouch Mycosis in Horses. *Vet. Surg.* 2000, **29**, 389–397.
- Delfs K.C., Hawkins J.F., Hogan D.F.: Treatment of acute epistaxis secondary to guttural pouch mycosis with transarterial nitinol vascular occlusion plugs in three equids. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 2009, **235**, 189–193.
- Toribio R.E., Kohn C.W., Lawrence A.E., Hardy J., Hutt J.A.: Thoracic and abdominal blastomycosis in a horse. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1999, **214**, 1335, 1357–1360.
- Dolente B.A., Habecker P., Chope K., MacGillivray K., Schaer T.: Disseminated blastomycosis in a miniature horse. *Equine Vet Educ.* 2003, **15**, 139–142.
- Wilson J.H., Olson E.J., Haugen E.W., Hunt L.M., Johnson J.L., Hayden D.W.: Systemic Blastomycosis in a Horse. *J. Vet. Diagnostic Investigation.* 2006, **18**, 615–619.
- Méndez-Angulo J.L., Swaab M.E., Malone E., Olson E.J., Chalkley M.D., Aird B., Ward C.: Blastomycotic osteomyelitis associated with severe lameness in a horse. *Can. Vet. J = La Rev. Vet. Can.* 2011, **52**, 1303–1307.
- Reilly L.K., Palmer J.E.: Systemic candidiasis in four foals. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1994, **205**, 464–466.
- Gnat S., Łagowski D., Dyląg M., Nowakiewicz A.: Human mycobiome in normobiosis and dysbiosis states characteristics and analysis methods. *Postępy Mikrobiol. – Adv. Microbiol.* 2021, **60**, 31–46.
- Gross T.L., Mayhew I.G.: Gastroesophageal ulceration and candidiasis in foals. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1983, **182**, 1370–1373.
- Stout T.A.E.: Fungal endometritis in the mare. *Pferdeheilkunde.* 2008, **24**, 83–87.
- Fisher F.S., Bultman M.W., Johnson S.M., Pappagianis D., Zaborsky E.: *Coccidioides* niches and habitat parameters in the southwestern United States: a matter of scale. *Ann. N Y Acad. Sci.* 2007, **1111**, 47–72.
- Dzawachiszwilli N., Landau J.W., Newcomer V.D., Plunkett O.A.: The Effect of Sea Water and Sodium Chloride on the Growth of Fungi Pathogenic To Man. *J. Invest. Dermatol.* 1964, **43**, 103–109.
- Ziemer E.L., Pappagianis D., Madigan J.E., Mansmann R.A., Hoffman K.D.: *Coccidioidomycosis* in horses: 15 cases (1975–1984). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1992, **201**, 910–916. <http://europemc.org/abstract/MED/1399805>
- Higgins J.C., Leith G.S., Voss E.D., Pappagianis D.: Seroprevalence of antibodies against *Coccidioides immitis* in healthy horses. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 2005, **226**, 1888–1892.
- Higgins J.C., Leith G.S., Pappagianis D., Pusterla N.: Treatment of *Coccidioides immitis* pneumonia in two horses with fluconazole. *Vet. Rec.* 2006, **159**, 349–351.
- Foley J.P., Legendre A.M.: Treatment of coccidioidomycosis osteomyelitis with itraconazole in a horse. A brief report. *J. Vet. Intern. Med.* 1992, **6**, 333–334.
- Stoltz J.H., Johnson B.J., Walker R.L., Pappagianis D.: *Coccidioides immitis* Abortion in an Arabian Mare. *Vet. Pathol.* 1994, **31**, 258–259.
- Walker R.L., Johnson B.J., Jones K.L., Pappagianis D., Carlson G.P.: *Coccidioides immitis* mastitis in a mare. *J. Vet. diagnostic Investig Off Publ. Am. Assoc. Vet. Lab. Diagnosticians, Inc.* 1993, **5**, 446–448.
- Brilhante R.S.N., Bittencourt P.V., Lima R.A.C., Castelo-Branco D., Oliveira J.S., Pinheiro A., Cordeiro R., Camargo Z.P., Sidrim J.J.C., Rocha M.F.G.: *Coccidioidomycosis* and *Histoplasmosis* in Equines: An Overview to Support the Accurate Diagnosis. *J. Equine Vet. Sci.* 2016, **40**, 62–73.
- Gamble K., Clancy M.: Infectious diseases of concern to captive and free ranging animals in North America. In: *Infectious Disease Committee, American Association of Zoo Veterinarians.* 2nd ed.; 2013.
- de Deus Filho A.: *Coccidioidomycosis*. *J. Bras. Pneumol.* 2009, **35**, 920–930.
- Higgins J.C., Pusterla N., Pappagianis D.: Comparison of *Coccidioides immitis* serological antibody titres between forms of clinical coccidioidomycosis in horses. *Vet. J.* 2007, **173**, 118–123.
- Secombe C.J., Lester G.D., Krockenberger M.B.: Equine Pulmonary Cryptococcosis: A Comparative Literature Review and Evaluation of Fluconazole Monotherapy. *Mycopathologia.* 2017, **182**, 413–423.

45. McGill S., Malik R., Saul N., Beetson S., Secombe C., Robertson I., Irwin P.: Cryptococcosis in domestic animals in Western Australia: a retrospective study from 1995–2006. *Med. Mycol.* 2009, **47**, 625–639.
46. Begg L.M., Hughes K.J., Kessel A., Krockenberger M.B., Wigney D.I., Malik R.: Successful treatment of cryptococcal pneumonia in a pony mare. *Aust. Vet. J.* 2004, **82**, 686–692.
47. Cruz V.C., Sommar Dahl C.S., Chapman E.A., Fry M.M., Schumacher J.: Successful treatment of a sinonasal cryptococcal granuloma in a horse. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 2009, **234**, 509–513.
48. Chayakulkeeree M., Perfect J.R.: Cryptococcosis. *Infect. Dis. Clin. North Am.* 2006, **20**, 507–544.
49. McMullan B.J., Sorrell T.C., Chen S.C.-A.: *Cryptococcus gattii* infections: contemporary aspects of epidemiology, clinical manifestations and management of infection. *Future Microbiol.* 2013, **8**, 1613–1631.
50. Chong H.S., Dagg R., Malik R., Chen S., Carter D.: In vitro susceptibility of the yeast pathogen *Cryptococcus* to fluconazole and other azoles varies with molecular genotype. *J. Clin. Microbiol.* 2010, **48**, 4115–4120.
51. Franklin R.P., Long M.T., MacNeill A., Alleman R., Giguère S., Uhl E., López-Martinez A., Wilkerson M.: Proliferative Interstitial Pneumonia, *Pneumocystis carinii* Infection, and Immunodeficiency in an Adult Paso Fino Horse. *J. Vet. Intern. Med.* 2002, **16**, 607–611.
52. Dei-Cas E., Chabé M., Moukhlis R., Durand-Joly I., Aliouat E.M., Stringer J.R., Cushion M., Noël C., Sybren de Hoog G., Guillot J., Viscogliosi E.: *Pneumocystis oryctolagi* sp. nov., an uncultured fungus causing pneumonia in rabbits at weaning: review of current knowledge, and description of a new taxon on genotypic, phylogenetic and phenotypic bases. *FEMS Microbiol. Rev.* 2006, **30**, 853–871.
53. Peters S.E., Wakefield A.E., Whitwell K.E., Hopkin J.M.: *Pneumocystis carinii* pneumonia in thoroughbred foals: identification of a genetically distinct organism by DNA amplification. *J. Clin. Microbiol.* 1994, **32**, 213 LP - 216. <http://jcm.asm.org/content/32/1/213.abstract>
54. Ainsworth D.M., Weldon A.D., Beck K.A., Rowland P.H.: Recognition of *Pneumocystis carinii* in foals with respiratory distress. *Equine Vet. J.* 1993, **25**, 103–108.
55. Lepage M.-F.P., Gerber V., Suter M.M.: A Case of Interstitial Pneumonia Associated with *Pneumocystis carinii* in a Foal. *Vet. Pathol.* 1999, **36**, 621–624.
56. Flaminio M.J., Rush B.R., Cox J.H., Moore W.E.: CD4+ and CD8+ T-lymphocytopenia in a filly with *Pneumocystis carinii* pneumonia. *Aust. Vet. J.* 1998, **76**, 399–402.
57. Ewing P.J., Cowell R.L., Tyler R.D., MacAllister C.G., Meinkoth J.H.: *Pneumocystis carinii* pneumonia in foals. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1994, **204**, 929–933.
58. Mair T.S., Rush B.R.: Chapter 6 - Lower respiratory tract. In: Mair TS, Love S, Schumacher J, Smith RKW, Frazer Surgery and Reproduction (Second Edition) GBT-EM, eds. W.B. Saunders; 2012:111–132.
59. Mayer J., Marini R.P., Fox J.G.: Chapter 14 - Biology and Diseases of Ferrets. In: Fox JG, Anderson LC, Otto GM, Pritchett-Corning KR, Whary MTBT-LAM (Third E, eds. *American College of Laboratory Animal Medicine*. Academic Press; 2015:577–622.
60. Rush B.R., Davis E.G.: Pharmacology and Therapeutics of Pulmonary Medications. In: *Equine Respiratory Medicine and Surgery*. Elsevier; 1999:83–99.