

УДК619:616.5-07:582.28

МЕТОД ВИЗНАЧЕННЯ ВІРУЛЕНТНОСТІ ЗБУДНИКІВ ДЕРМАТОМІКОЗІВ ТВАРИН

А. М. Волков
volkov142@gmail.com

Національний університет біоресурсів і природокористування України,
вул. Героїв Оборони, 15, м. Київ–41, 03041, Україна

*У статті представлено метод визначення вірулентності патогенних дерматомицетів, виділених від хворих тварин. Метод оснований на використанні мацерованої шкіри молодих статевонезрілих тварин (мишей, щурів, морських свинок, цуценят, кошенят, кроленят, телят тощо), що дає можливість діагностувати дерматомікози, які викликані дерматомицетами родів *Microsporum* і *Trichophyton*. Метод визначення вірулентності збудників дерматомікозів тварин є простим у виконанні, доступним для практики, ефективним і перспективним для визначення характеристик штамів мікроорганізмів, які можуть бути використані як вакцинні та контрольні штами при виготовленні імунобіологічних препаратів для специфічної профілактики дерматомікозів тварин. Розроблений метод визначення вірулентності збудників дерматомікозів тварин з використанням шкіри молодих статевонезрілих тварин надає можливість оцінювати ступінь вірулентності дерматомицетів після повторного рецидиву патологічного вогнища. Метод дозволяє за характером розвитку патологічного процесу в шкірних покривах і терміном перебігу шкірної реакції розділяти дерматомицети за ступенем вірулентності на чотири групи: високовірулентні, середньовірулентні, слабовірулентні, авірулентні. Метод визначення вірулентності дерматомицетів можна використовувати в процесі відбору виробничих і контрольних штамів — продуцентів ефективних протективних антигенів дерматомицетів при створенні засобів специфічної профілактики. Порівняльні результати застосування методу оцінки ступеня вірулентності патогенних дерматомицетів на різних видах статевонезрілих тварин показали, що ступінь прояву реакції відрізняється в залежності від виду збудника. Це необхідно враховувати при підборі відповідного виду тварини як тест-об'єкта в кожному конкретному випадку, зокрема при контролі ефективності імунобіологічних препаратів.*

Ключові слова: ВІРУЛЕНТНІСТЬ, МОЛОДІ ТВАРИНИ, ДЕРМАТОМІКОЗИ, ШТАМИ, МИШІ, ЩУРИ, МОРСЬКІ СВИНКИ, КОШЕНЯТА, ЩЕНЯТА, КРОЛЕНЯТА, ТЕЛЯТА

METHOD FOR DETERMINING VIRUIENCE OF PATHOGENS OF TINEA ANIMALS

A. M. Volkov
volkov142@gmail.com

National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine,
Heroyiv Oborony str., 15, Kyiv–41, 03041, Ukraine

*The paper presents a method for determining the virulence of pathogenic dermatomycetes isolated from sick animals. The method is based on the use of the macerated skin young immature animals (mice, rats, guinea pigs, puppies, cats, rabbits, calves and so on) that gives an opportunity to diagnose dermatomycoses caused dermatomycetes genera *Microsporum* and *Trichophyton*. Method for determining the virulence of pathogens dermatomycoses animals is simple in execution, available for practice, effective and promising for the characterization of microorganisms that can be used as vaccines and control strains in the production of immunobiological preparations for specific prevention dermatomycoses animals.*

A method for determining the virulence of pathogens dermatomycoses animals using skin young immature animals allows to estimate the degree of virulence dermatomycetes after repeated recurrence of pathological focus. The method allows to share dermatomycetes by the nature of the pathological process in the skin and the timing of the flow of a skin reaction on the degree of virulence in four groups according to the degree of virulence: highly virulent, srednevirusulentnye, slabovirusulentnyh, avirusulent. Method for determination of virulence dermatomycetes can be used in the selection process of production and control strains — producers for effective protective antigens dermatomycetes to create a means of specific prophylaxis. Comparative results of applying the method of assessment of the virulence of pathogenic dermatomycetes on different kinds of immature animals have shown that the degree of the response differs depending on the type of pathogen. This should be considered for the selection of an appropriate animal species as a test object in each case, in particular in monitoring the effectiveness of vaccines.

Keywords: VIRULENCE, YOUNG ANIMALS, DERMATOMYCOSESE, STRAINS, MICE, RATS, GUINEA PIGS, KITTENS, PUPPIES, RABBITS, CALVES

МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ ВИРУЛЕНТНОСТИ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ДЕРМАТОМИКОЗОВ ЖИВОТНЫХ

А. Н. Волков
volkov142@gmail.com

Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины,
ул. Героев Оборона, 15, г. Киев—41, 03041, Украина

*В статье представлен метод определения вирулентности патогенных дерматомицетов, выделенных от больных животных. Метод основан на использовании мацерированной кожи молодых неполовозрелых животных (мышей, крыс, морских свинок, щенков, котят, крольчат, телят и т.д.), что дает возможность диагностировать дерматомикозы, вызванные дерматомицетами родов *Microsporium* и *Trichophyton*. Метод определения вирулентности возбудителей дерматомикозов животных является простым в исполнении, доступным для практики, эффективным и перспективным для определения характеристик штаммов микроорганизмов, которые могут быть использованы как вакцинные и контрольные штаммы при изготовлении иммунобиологических препаратов для специфической профилактики дерматомикозов животных. Разработанный метод определения вирулентности возбудителей дерматомикозов животных с использованием кожи молодых неполовозрелых животных позволяет оценивать степень вирулентности дерматомицетов после повторного рецидива патологического очага. Метод позволяет по характеру развития патологического процесса в кожных покровах и сроках течения кожной реакции разделять дерматомицеты по степени вирулентности на четыре группы: высоковирулентные, средневirusulentные, слабовirusulentных, авирулентные. Метод определения вирулентности дерматомицетов можно использовать в процессе отбора производственных и контрольных штаммов — продуцентов эффективных протективных антигенов дерматомицетов при создании средств специфической профилактики. Сравнительные результаты применения метода оценки степени вирулентности патогенных дерматомицетов на разных видах неполовозрелых животных показали, что степень проявления реакции отличается в зависимости от вида возбудителя. Это необходимо учитывать при подборе соответствующего вида животного как тест-объекта в каждом конкретном случае, в частности при контроле эффективности иммунобиологических препаратов.*

Ключевые слова: ВИРУЛЕНТНОСТЬ, МОЛОДЫЕ ЖИВОТНЫЕ, ДЕРМАТОМИКОЗЫ, ШТАММЫ, МЫШИ, КРЫСЫ, МОРСКИЕ СВИНКИ, КОТЯТА, ЩЕНКИ, КРОЛЬЧАТА, ТЕЛЯТА

Дерматомікози (*Dermatomycoses*) — зооантропонозні інфекції, які характеризуються ураженням шкіри та її похідних. Етіопатогенетичними збудниками є патогенні дерматоміцети (дерматофіти, кератоміцети) родів *Microsporum* і *Trichophyton*, класу *Deuteromyces*, що відносяться до недосконалих грибів (*Fungi imperfecti*). Дерматомікозами хворіють коти, собаки, коні, свині, хутрові звірі, велика і дрібна рогата худоба, а також людина [1–3]. Стрижем у боротьбі з дерматомікозами тварин є специфічна профілактика. На сьогодні створено значну кількість вакцин проти дерматомікозів ЛТФ-130, Триховак, Фунгіканіфел, Полівак-ТМ, Вермет, Вермет F, Біокан-М, Біоофел-М та інші, під час виробництва та контролю яких не враховувалась ступінь вірулентності дерматоміцетів збудників дерматомікозів тварин [4, 5]. Кількість імунобіологічних препаратів для специфічної профілактики дерматомікозів тварин із року в рік збільшується, а кількість випадків захворювань грибної етіології щорічно зростає. Під час виготовлення вакцин використовують не епізоотичні штами, а як правило, музейні, які не циркулюють на території України. В Україні недостатньо охарактеризована вірулентність патогенних дерматоміцетів у великих і дрібних домашніх тварин, відсутні надійні тест-об'єкти щодо її оцінювання [6, 7].

Вперше застосування шкіри як тест-об'єкту започатковано під час оцінювання токсичності плісневих культур грибів і кормів, контамінованих токсигенними грибами. Так, ще Ятель у 1937–1938 роках під час розшифрування «невідомого захворювання» у коней на території України застосував шкіру кролів для визначення токсичності виділеного гриба *Stachybotris alternans* та токсичності грубого корму [1].

Реакція на шкірі кролика дозволяє визначати чотири ступені токсичності кормів і культур грибів: I ступінь (дуже слаботоксичні) — почервоніння, підвищена чутливість шкіри, лущення; II ступінь

(слаботоксичні) — почервоніння, болючість, незначне потовщення шкіри, лущення, дрібні одиночні, з просіяне зерно або менше, жовтуваті бульбашки; III ступінь (токсичні) — почервоніння, сильне потовщення, болючість, складчастість шкіри, на всій поверхні вогнища жовтуваті бульбашки, сухий поверхневий некроз, іноді виразки і суцільний тонкий струп; IV ступінь (різкотоксичні) — почервоніння, сильний набряк, який виступає у вигляді валика на нижній межі вогнища, глибокий сухий некроз [1]. Застосування шкіри кролика, як тест-об'єкту почали використовувати під час вивчення патогенності збудників дерматомікозів тварин з метою відтворення шкірних захворювань. Було запропоновано два прийоми нанесення культури гриба на шкіру тварин: аплікації та втирання [8]. Суть першого способу полягає в тому, що на гладко вистрижену, неуразену шкіру накладають культуру (плівку) гриба і закривають зверху пластиром або пов'язкою. Цей метод зараження інакше називають аплікаційним. Аплікацію роблять 3 дні підряд. Спостереження за розвитком патологічного процесу ведуть впродовж 10 діб. Можна використовувати патологічний матеріал (волосся, лусочки) або культуру гриба. Цей матеріал або культуру разом із агаром розтирають між двома листочками наждачного паперу, потім цим листочком обережно (уникаючи появи крові) втирають культуру (патологічний матеріал) у вистрижену, оголену поверхню шкіри. Під час такого втирання пошкоджується епідерміс шкіри, що сприяє проникненню патогенного гриба.

Суть другого способу полягає в тому, що досліджуваний матеріал розтирають у ступці і наносять на попередньо скарифіковану шкіру. Щоб уникнути зализування чи розчісування, на вражені місця накладають суху пов'язку. Втирання матеріалу проводять впродовж 2–3 днів, один раз на день. Перші ознаки розвитку патологічного процесу спостерігають на 3–4 день. Характерна картина ураження настає на 8–10 день

після втирання. Розвиток гриба встановлюють при мікроскопічному дослідженні волосся і лусочок з уражених ділянок. Проте цей метод не дозволяє об'єктивно оцінювати вірулентність штамів грибів, що вивчаються, оскільки при нашкірній аплікації не відоме фактичне число клітин, що викликало експериментальний дерматомікоз.

Під час встановлення патогенності дерматофітів, виділених від сприйнятливих до дерматомікозів тварин, деякі автори застосовували метод нашкірного зараження морських свинок і кроликів [4, 5].

Вірулентність — ступінь патогенності інфекційного агента. Це найважливіший біологічний показник активності патогенних дерматофітів, знаючи вірулентність, можна судити наскільки збудник патогенний для організму і в якою мірою останній стійкий до дії першого. На сьогодні визначення вірулентності штамів патогенних дерматофітів, виділених від хворих тварин, є актуальним і важливим у практичному аспекті.

Проте, спроби диференціації вірулентності штамів патогенних дерматофітів, збудників дерматомікозів тварин на основі будь-якого тест-критерію практично відсутні у науковій літературі. Тому метою роботи була розробка методу визначення вірулентності штамів збудників дерматомікозів тварин.

Матеріали і методи

Досліджували відібрані епізоотичні ізоляти збудників дерматомікозів від мишей, щурів, морських свинок, котів, собак, коней і великої рогатої худоби з різних районів міста Києва та Київської, Чернігівської, Полтавської областей, а також від безпритульних тварин.

При цьому від мишей виділено 15 епізоотичних (польових) ізолятів *Microsporium canis* і 9 ізолятів *Trichophyton mentagrophytes*, від щурів відповідно — 18 і 10, від морських свинок — 9 і 7, від цуценят і собак — 77 і 16, кошенят та

дорослих котів — 126 ізолятів *Microsporium canis* та 28 *Microsporium gypseum*, від коней — 12 ізолятів *Microsporium canis* та 8 *Microsporium spp.*, від великої рогатої худоби — 6 ізолятів *Trichophyton verrucosum* та 11 *Trichophyton mentagrophytes*.

Визначення вірулентності збудників дерматомікозів тварин проводили за розробленим нами методом, який включає наступні етапи:

а) приготування суспензії клітин дерматофітів і підрахунок їх концентрації. У пробірки з вирощеною впродовж 15–20 діб культурою гриба на сусло-агарі, добавляли по 5 см³ стерильного фізіологічного розчину, мікологічним гачком розпушували поверхню культури і ретельно перемішували отримували суспензію. Далі готували послідовні розведення суспензії, використовуючи стерильний 0,85 % розчин NaCl у співвідношенні 1 : 10; 1 : 20 або 1 : 40, в залежності від її густини. Кількість всіх елементів дерматофіту (мікроконідії, макроконідії, фрагменти міцелію, артроспори тощо) підраховували за допомогою камери Горяєва. Спочатку визначали концентрацію всіх структурних елементів дерматофіту в найменшому розведенні, а, за необхідності, коли вона надто велика — у наступних розведеннях. Підрахунок всіх структурних елементів дерматофіту у суспензії здійснювали у 5 великих квадратах (4 по кутах та 1 — у центрі).

Вміст всіх структурних елементів дерматофіту в 1 см³ суспензії визначали за формулою:

$$K = \frac{H+B}{2} \times P \times 104 \times 5$$

де: K — шукане число всіх структурних елементів дерматофіту; H — кількість всіх структурних елементів дерматофіту у 5 великих квадратах першої сітки; B — число всіх структурних елементів дерматофіту у 5 великих квадратах другої сітки; P — розведення.

Після підрахунку всіх структурних елементів дерматофіту у вихідній

суспензії концентрацію останніх доводили, додаючи 0,85 % розчин NaCl, до 1×10^8 . Далі готували ряд послідовних 10-кратних розведень (1×10^7 ; 1×10^6 ; 1×10^5 ; 1×10^4 ; 1×10^3). Для цього у 5 пробірок наливали по $4,5 \text{ см}^3$ стерильного 0,85 % розчину NaCl. У першу з них вносили $0,5 \text{ см}^3$ суспензії всіх структурних елементів дерматоміцету, що досліджували, ретельно перемішували і новою піпеткою відбирали $0,5 \text{ см}^3$ суспензії цього розведення та переносили у наступну пробірку і т. д., щоразу використовуючи нову стерильну піпетку. Таким чином, концентрація клітин у кожній наступній пробірці зменшується в 10 разів і становила у першій 1×10^7 , у другій — 1×10^6 , у третій — 1×10^5 і т. д. Загальний об'єм, що наноситься дослідним тваринам при зараженні становить $0,1 \text{ см}^3$ суспензії дерматоміцету. Об'єм інокулята суспензії всіх структурних елементів дерматоміцету, що наносили на шкіру тест-об'єкту тварин (мишей, щурів, морських свинок, цуценят, кошенят, кроленят, телят тощо), як правило, збільшували до $1,0 \text{ см}^3$ і більше, залежно від виду тварин, але концентрація суспензії була без змін і складала дозу $2\text{--}4 \text{ млн/см}^3$.

На відміну від загальноприйнятих методів визначення концентрації, де підраховують лише мікроконідії [5], в запропонованій методиці враховуються всі структурні елементи дерматоміцету (макроконідії, міцелії, мікроконідії, артроспори, тощо), зокрема все, що зустрічається у полі зору, оскільки вони також являються носіями вірулентності. Цей прийом дозволяє найбільш точно оцінювати вірулентність дерматоміцетів;

б) *зараження молодих статево незрілих тварин.* Зараження молодих тварин (мишей, щурів, морських свинок, цуценят, кошенят, кроленят, телят тощо) проводили на шкіру в ділянці спини, за лопатками. Заздалегідь, залежно від виду тварини, ділянку розміром від $0,5 \times 0,5$ до $6 \times 6 \text{ см}$, вистригали та голили. Шкіру обробляли 70 % розчином етилового спирту та мацерували зворотною стороною скальпеля до прояву ознак виразної

гіперемії. Далі кожне розведення інфікуючого матеріалу суспензії комплексом всіх структурних елементів гриба (міцелій, мікроконідій, макроконідій, артроспори тощо) в об'ємі $0,1 \text{ см}^3$ (до $1,0 \text{ см}^3$ і більше) наносили на підготовлену ділянку шкіри та легенько втирали шпателем. Кожним розведенням заражали якнайменше 4 тварини. Не менше двох тварин залишали контрольними. Їм наносили плацебо — розчин 0,85 % NaCl.

Результати зараження визначали на 10–14-ту добу з моменту інфікування, спостереження здійснювали через кожні 3 доби, до зникнення клінічних ознак хвороби. У разі позитивного результату зараження, у місці аплікації суспензії виявляли характерні для дерматомікозу ознаки (гіперемію, утворення лусочок або скориночок, струпів та ін.). Інфікуючу дозу (ID_{50}) визначали методом Кербера за модифікацією [7];

в) *оцінювання ступеня вірулентності штамів дерматоміцетів.* У залежності від вірулентності штаму дерматоміцету, він не викликає дерматомікоз або ж обумовлює у заражених тварин різний прояв захворювання. Як правило, оцінювання ступеня вірулентності дерматоміцету проводили після повторного рецидиву патологічного вогнища (через 10–14 діб). За цією характеристикою штами збудників дерматоміцетів поділяли на чотири групи: високовірулентні, середньовірулентні, слабовірулентні, авірулентні.

Високовірулентні штами (+++) обумовлюють яскраві клінічні ознаки захворювання, з утворенням великих струпів та лусочок, значну гіперемію.

Середньовірулентні штами (++) зумовлюють розвиток патологічного процесу, з утворенням великих і дрібних лусочок, гіперемію.

Слабовірулентні штами (+) зумовлюють ледь помітні ознаки дерматомікозу — утворення дрібних лусочок, незначну гіперемію.

Авірулентні (-) штами ознак захворювання не проявляють.

Результати й обговорення

В основу завдання поставлено задачу створити метод простий, доступний для виконання навіть у скромно оснащених лабораторіях та ефективний для визначення вірулентності патогенних штамів дерматомицетів, виділених від хворих тварин, під час постановки діагнозу на дерматомікоз у великих та дрібних свійських тварин, з використанням доступних тест-об'єктів — молодих статевонезрілих тварин: миші, морські свинки, цуценята, кошенята, кроленята, телята тощо. Пропонуємо у кожному конкретному випадку підбирати окремий вид тварин із високою чутливістю шкіри до комплексної дії всіх структурних елементів гриба: міцелій, мікроконідії, макроконідії, артроспори, хламідоспори (далі суспензія). А концентрацію суспензії доводити до 2–4 млн/см³ всіх структурних елементів дерматомицета.

На користь застосування шкіри статевонезрілих молодих тварин для

визначення вірулентності штамів патогенних дерматомицетів вказує наступне:

- висока чутливість шкіри молодих статевонезрілих тварин до патогенних штамів дерматомицетів;
- оцінювання проводили після повторного рецидиву патологічного вогнища (через 10–14 діб);
- у кожному випадку під час захворювання дерматомікозом підбирали відповідний чутливий тест-об'єкт до певного виду тварин (біопроба);
- фізична і економічна доступність тест-об'єктів;
- гуманний підхід, пов'язаний зі збереженням здоров'я тварин.

Порівняльні результати оцінювання ступеня вірулентності патогенних дерматомицетів на молодих статевонезрілих тваринах на 10–14 добу спостережень після зараження їх суспензією комплексом всіх структурних елементів дерматомицету дозою 2–4 млн/см³ наведені у таблиці.

Таблиця

Результати оцінювання ступеня вірулентності дерматомицетів (n=4)

Вид статевонезрілих тварин (тест-об'єкт)	Ступінь вірулентності дерматомицетів			
	<i>Trichophyton verrucosum</i> , штам 22	<i>Trichophyton mentagrophytes</i> , штам 412	<i>Microsporium canis</i> , штам BC	<i>Microsporium gypseum</i> , штам 311
Миші	++	+++	+++	+++
Щури	++	+++	+++	+++
Морські свинки	++	+++	+++	++
Кроленята	++	+++	++	++
Кошенята	++	+++	+++	+++
Цуценята	++	+++	+++	+++
Телята	+++	+++	++	+

Примітка: +++ — високовірулентні; ++ — середньовірулентні; + — слабовірулентні; — авірулентні штами

За результатами досліджень встановлено, що штам 22 *Trichophyton verrucosum* для телят був високо вірулентним, тоді як для других тест-об'єктів був середньовірулентним; штам 412 *Trichophyton mentagrophytes* для всіх тест-об'єктів — високовірулентним; штам BC *Microsporium canis* для цуценят, кошенят, морських свинок, щурів і мишей — високовірулентний, а для телят і

кроленят — середньовірулентний; штам 311 *Microsporium gypseum* для цуценят, кошенят, щурів і мишей — високовірулентний, а для кроленят і морських свинок — середньовірулентний, а для телят — слабовірулентний.

Проведені результати застосування методу оцінки ступеня вірулентності патогенних дерматомицетів на різних видах молодих статевонезрілих тварин показали,

що ступінь прояву шкіряної реакції відрізняється в залежності від виду збудника.

Таким чином, проведені дослідження і апробація в умовах виробництва показали, що метод визначення вірулентності збудників дерматоміцетів можна рекомендувати для застосування під час постановки діагнозу та у процесі відбору виробничих і контрольних штамів — продуцентів ефективних протективних антигенів дерматоміцетів під час створення засобів специфічної профілактики, а також визначати ефективність лікувально-профілактичних заходів як до проведення, так і після них.

Висновки

1. Запропонований метод визначення вірулентності збудників дерматомікозів тварин є простим у виконанні, доступним для практики, ефективним і перспективним для визначення кандидатів у вакцинні та контрольні штами, які будуть використані під час виготовлення і контролю імунобіологічних препаратів для специфічної профілактики дерматомікозів тварин.

2. Розроблено метод визначення вірулентності збудників дерматомікозів тварин, який ґрунтується на застосуванні шкіри молодих статевонезрілих тварин, що дає можливість оцінювати ступінь вірулентності дерматоміцета після повторного рецидиву патологічного вогнища, а за характером розвитку дерматоміцету у шкірних покривах і терміном перебігу шкірну реакцію поділяють на чотири ступені вірулентності: високовірулентні, середньовірулентні, слабовірулентні, авірулентні.

3. Метод визначення вірулентності дерматоміцетів можна використати під час діагностики дерматомікозів, викликаних дерматоміцетами роду *Microsporium* і *Trichophyton*, а також під час відбору та у процесі селекції виробничих і контрольних штамів.

4. Порівняльні результати оцінювання ступеня вірулентності патогенних

дерматоміцетів на статевонезрілих тваринах на 10–14 добу спостережень після зараження їх суспензією комплексом всіх структурних елементів дерматоміцету дозою 2–4 млн/см³, свідчать про те, що у кожному випадку слід підбирати відповідний до виду тест-об'єкт, використовуючи шкіру молодих статевонезрілих, сприйнятливих до захворювань тварин.

Перспективи подальших досліджень. Необхідно продовжити дослідження щодо визначення кореляції вірулентних та імуногенних (антигенних) властивостей епізоотичних ізолятів збудників дерматомікозів тварин.

1. Spesivtseva N. A. Mycoses and mycotoxicosis. Moscow, Selkhozizh., 1964. 517 p. (In Russian).

2. Sarkisov A. H., Koroleva V. P., Kvashnina E. S., Grezyn V. F. Diagnosis of fungal diseases (mycoses and mycotoxin) animals. Moscow, Kolos, 1971, 142 p. (In Russian).

3. Golovko O. V., Smolyaninova V. K., Severin R. V., Savenko M. M., Gluschenko Y. S., Smolyaninova I. V. Planning and organization of veterinary measures for the prevention and treatment of diseases of domestic animals in the area of private clinic. Problems of zooengineering and veterinary medicine : Preview *Collection of scientific works Kharkiv state zooveterinary Academy*. Kharkiv, PBB KSZA, 2013, Issue 26, Part 2 «Veterinary sciences», pp. 211–215 (in Ukrainian).

4. Stetsura L., Kassich V. Development tools specific prevention and treatment dermatomycoses dogs and cats. *Veterinary Medicine of Ukraine*, 2007, vol. 6, pp. 44–46 (in Ukrainian).

5. Skrypyk V. G. Pathogenicity dermatophytes *Trichophyton verrucosum*, selection in Ukraine for laboratory animals. *Veterinary Biotechnology, IVM*. Kyiv, Agricultural Science, 2006, Bull. № 8, pp. 246–251 (in Ukrainian).

6. Volkov A. V., Skybitsky V. G. Method of determining the virulence of pathogens dermatomycoses animals. Patent UR, no. 90118, 2014, zayavl. 23.12.2013, opubl. 12.05.2014, Byul. № 9, 4 p. (In Ukrainian).

7. Skybitsky V. G., Volkov A. M. Identification of virulence of pathogens dermatomycoses animals. Guidelines. Kyiv, VC NUBiP Ukraine, 2013. 11 p. (In Ukrainian).

8. Kurasova V. V., Kostin V. V., Malinowskia L. S. Methods of research in veterinary mikolohii. Moscow, Kolos, 1971, 119 p. (In Russian).