

ЕКСПРЕС-МЕТОД ВИЯВЛЕННЯ ЗБУДНИКІВ МІКРОСПОРІЇ ТВАРИН

Волков А.М., аспірант, Volkov142@gmail.com

Національний університет біоресурсів і природокористування України, м. Київ

Анотація. Розроблено ефективний експрес-метод виявлення збудників мікроспорії тварин. Встановлено, що волосяний покрив тварин уражений дерматоміцетами роду *Microsporum* в ультрафіолетових променях флуоресцирує смарагдово-зеленуватим світінням. Цю властивість збудників мікроспорії можна застосовувати під час ранньої та попередньої постановки діагнозу.

Ключові слова: експрес-метод, мікроспорія, дерматоміцети, тварини.

Актуальність проблеми. Мікроспорія (*Microsporia*) – інфекційна хвороба людей та тварин. Етіопатогенетичними збудниками захворювання шкіри та її похідних є дерматоміцети роду *Microsporum*, класу *Deuteromycetes*, що відносяться до недосконалих грибів (*Fungi imperfecti*). Мікроспорією хворіють коти, собаки, коні, свині, хутрові звірі, а також люди [1, 2]. За даним ВОЗ, ФАО на мікози хворіє від 10 до 40% населення планети. Сприятливими факторами розвитку мікроспорії є зниження імунної реактивності організму, порушення обміну речовин тощо [3, 5]. Проблема мікроспорії тварин, попри значні досягнення у вивченні її, наявності засобів діагностики і профілактики та терапії і нині має тенденцію до поширення. Отже, вдосконалення методів визначення збудників мікроспорії тварин є нагальною потребою.

Завдання дослідження. Розробити інструментальний експрес-метод виявлення збудників мікроспорії тварин під час ранньої та попередньої постановки діагнозу.

Матеріал і методи дослідження. Досліджували на мікроспорію мишей, щурів, морських свинок, котів, собак та коней з різних районів міста Києва та Київської області, зокрема безпритульних тварин.

Відбір біологічного матеріалу для люмінесцентних, мікроскопічних та мікологічних досліджень проводили з тих ділянок волосяного покриву, які мали показники найінтенсивнішої флуоресценції смарагдово-зеленуватого світіння. Під час ранньої постановки діагнозу на мікроспорію відбирали біологічний матеріал – діагностичні проби волосся і лусочки за допомогою стерильного гребінця або щітки (робили не менше 10 маніпуляцій з

з одної ділянки). Для попередньої постановки діагнозу на мікроспорію відбір біологічного матеріалу проводили за допомогою стерильного пінцета і скальпеля або спеціального шкребка з периферії дерматомикозного вогнища. Брали кореневу частину волосся і лусочки, кірочки, а також шкребки з уражених ділянок шкіри на межі із здоровою.

Під час виділення та ідентифікації дерматоміцетів використовували середовище Сабуро, сусло-агар, диференційно-діагностичне середовище, отримане за власним прописом. З одночасним проведенням люмінесцентних досліджень було обстежено: мишей – 360 голів, щурів – 180, морських свинок – 203, котів – 333, собак – 286 та коней – 75. Всі відібрані діагностичні проби біологічного матеріалу від тварин досліджено мікроскопічними і мікологічними методами. Загалом від мишей було виділено 15 епізоотичних ізолятів *Microsporum canis* і 9 ізолятів *Trichophyton mentagrophytes*, від щурів 18 – *Microsporum canis* і 10 – *Trichophyton mentagrophytes*, від морських свинок 9 – *Microsporum canis* і 7 – *Trichophyton mentagrophytes*, кошенят та дорослих котів 126 – *Microsporum canis* та 28 – *Microsporum gypsum*, від цуценят і собак 77 – *Microsporum canis* і 16 – *Trichophyton mentagrophytes*, від коней 12 ізолятів *Microsporum canis* та 8 ізолятів *Microsporum spp.*

В процесі експериментів вірулентні властивості виділених чистих культур дерматоміцетів від тварин визначали згідно з методичними рекомендаціями [6].

Результати дослідження. Розробку експрес-методу виявлення збудників мікроспорії тварин під час ранньої та попередньої постановки діагнозу проводили шляхом порівнювальної ефективності існуючих лабораторних методів діагностики.

Ранню та попередню діагностику на мікроспорію проводили з метою визначення носіїв патогенних дерматоміцетів у тварин в період скритого (безсимптомного) перебігу захворювання без помітних клінічних ознак. Важливим для своєчасної та якісної ранньої діагностики мікроспорії є попередній моніторинг стану волосяного покриву шляхом обстеження всіх тварин, особливо перед вакцинацією. Ці дослідження проводили як до лікування, так і після, а за їх результатами судили щодо ефективності лікувально-профілактичних заходів, а також визначали які

дерматоміцети циркулюють на цьому поголів'ї тварин, а отримані результати враховували під час розробки та виготовленні вакцин із місцевих штамів.

Люмінесцентні (інструментальні) дослідження. Візуальне виявлення наявності ураження волоссяного покриву збудників мікроспорії тварин за допомогою люмінесцентного методу. Досліджували волоссяний покрив всієї тварини шляхом проведення опромінення ультрафіолетовими променями за допомогою ручної лампи ОЛД-41 або аналогічного класу з світوفільтром Вуда, довжиною хвилі 365-366 нм. У позитивних випадках спостерігали флуоресценцію смарагдово-зеленуватого світіння волоссяного покриву всього тіла тварини або окремих її ділянок, ураженого дерматоміцетами роду *Microsporum*. Люмінесцентне обстеження волоссяного покриву тварин та відібрані діагностичні проби біологічного матеріалу проводили в темному приміщенні. Не флуоресцирує уражене дерматоміцетами мікроспорії волосся тварин чорної масті.

Достовірність постановки діагнозу на мікроспорію залежить також і від правильного відбору діагностичної проби біологічного матеріалу. Встановлено, що результативність діагностичної проби біологічного матеріалу відібраного від тварин без люмінесцентного контролю становила 40–60%, а під час обстеження методом люмінесценції волоссяного покриву всієї тварини або окремих ділянок та відбір діагностичної проби із місць найінтенсивнішої флуоресценції, сягала 90–97%. Таким чином, результативність постановки діагнозу на мікроспорію підвищується майже у два рази за рахунок правильно відібраної діагностичної проби.

Мікроскопічні дослідження. Біологічний матеріал (кореневі ділянки волосся, лусочки) досліджували у роздавленій краплі нефарбованого та фарбованого препарату методом фазово-контрастної мікроскопії. Під час мікроскопії виявлено нитки міцелію, ланцюжки та окремі мікроконідії біля волосся і всередині волосу та у вигляді чохла.

Мікологічні дослідження. Відібраний біологічний матеріал від тварин досліджували методом прямої інокуляції на агаризовані селективні та на диференційно-діагностичні середовища. Вивчали культурально-морфологічні ознаки збудників, ідентифікуючи їх до виду, використовуючи визначники [7, 8].

На першому етапі нами проведено порівняльне оцінювання результатів люмінесцентного та мікологічного дослідження щодо виявлення збудників мікроспорії та трихофітії, які свідчать про можливість їх використання у діагностичній роботі. Результати досліджень наведено в таблиці 1.

У результаті дослідження відібраного від мишей біологічного матеріалу було ізольовано *Microsporum canis* (63,0%) і *Trichophyton mentagrophytes* (37% від загальної кількості вилучених збудників), від щурів – *Microsporum canis* (64,0%) і *Trichophyton mentagrophytes* (36,0%), від морських свинок – *Microsporum canis* (56,0%) і *Trichophyton mentagrophytes* (44,0%), від котів –

Microsporum canis (82%) і *Microsporum gypseum* (18,0%), від собак – *Microsporum canis* (83,0%) і *Trichophyton mentagrophytes* (17,0%), від коней – *Microsporum canis* (60%) та *Microsporum spp.* (40%). Під час мікологічного дослідження у всіх випадках були виділені також мікроскопічні гриби, що належали до родів *Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor*, *Candida* тощо.

Таблиця 1

Оцінювання люмінесцентного та мікологічного дослідження щодо виявлення збудників мікроспорії тварин

№ п/н	Вид тварин	Кількість обстежен. тварин (гол.)	Люмінесцентні дослідження		Мікологічні дослідження	
			Виявлено хворих тварин		Ідентифікація збудників	
			(гол.)	(%)	Назва збудника	Кількість ізолятів
1.	Миші	361	24	7,2	<i>Microsporum canis</i>	24
					<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	9
2.	Щури	180	28	8,4	<i>Microsporum canis</i>	28
					<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	10
					<i>Microsporum canis</i>	16

Проблеми зооінженерії та ветеринарної медицини

3.	Морські свинки	203	16	4,8	<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	7
4.	Коти	333	154	46,0	<i>Microsporium canis</i>	126
					<i>Microsporium gypseum</i>	28
5.	Собаки	286	93	27,6	<i>Microsporium canis</i>	93
					<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	16
6.	Коні	75	20	6,0	<i>Microsporium canis</i>	12
					<i>Microsporium spp.</i>	8
	Разом	1438	335	100		377

Таким чином, проведені нами дослідження і апробація в умовах виробництва показали, що експрес-метод виявлення збудників мікроспорії тварин можна рекомендувати для застосування під час ранньої та попередньої постановки діагнозу.

Впровадження в державних лабораторіях ветеринарної медицини розробленого експрес-методу виявлення збудників мікроспорії тварин дасть змогу підвищити результативність та сприятиме зниженню економічних витрат та часу на проведення мікологічних досліджень.

Висновки

1. Розроблено експрес-метод виявлення збудників мікроспорії тварин, який може бути використаний під час ранньої та попередньої постановки діагнозу.

2. Проведені порівняльні результати люмінесцентного та мікологічного дослідження щодо виявлення збудників мікроспорії тварин свідчать про можливість їх використання у діагностичній роботі.

3. Відбір діагностичних проб біологічного матеріалу під час ранньої, попередньої та заключної постановки діагнозу на мікроспорію тварин слід проводити із місць найінтенсивнішої флуоресценції волосяних покривів.

Література

1. Саркисов А.Х. Диагностика грибных болезней животных / А.Х. Саркисов, В.П. Королева, Е.С. Квашина, В.Ф. Грузин : под общей ред. А.Х. Саркисов. – М. : Колос, 1971. – С. 9-21.
2. Спесивцева Н.А. Микозы и микотоксикозы животных / Н.А.Спесивцева. – М. : Сельхозгиз, 1960. – С.30-79.
3. Петрович С.В. Микотические заболевания животных / С.В. Петрович. – М. : Россельхозиздат, 1982. – 192 с.
4. Головина Н.П. Дерматомикозы собак и кошек в условиях городов / Н.П. Головина // Ветеринария. – 1988. -№ 1. –С.59-61.
5. Харченко С.М. Специфічна профілактика та лікування дерматомикозів собак і котів / С.М. Харченко, А.М. Волков // Матеріали конференції професорсько-викладацького складу, наукових співробітників і аспірантів Навчально-наукового інституту ветеринарної медицини та якості і безпеки продукції тваринництва 11-12 березня 2008 р. К. : НАУ, 2008. – С. 145-146.
6. Скибіцький В.Г. Визначення вірулентності збудників дерматомикозів тварин. Методичні рекомендації / В.Г.Скибіцький, А.М. Волков. – К. : НУБіП України, 2013. – 11 с.
7. Кашкин П.Н., Хохряков М.К., Кашкин А.П. Определитель патогенных, токсигенных и вредных для человека грибов / П.Н. Кашкин, М.К. Хохряков, А.П. Кашкин. – Л.: Медицина, 1982. – 272 с.
8. Саттон Д. Определитель патогенных и условно-патогенных грибов / Д.Саттон, А. Фотергилл, М. Ринальди. – М. : Мир, 2001. – 468 с.

ЭКСПРЕСС-МЕТОД ОБНАРУЖЕНИЯ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ МИКРОСПОРИИ ЖИВОТНЫХ
Волков А.Н., аспирант, Volkov142@gmail.com

Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины, г. Киев
Аннотация. Разработан эффективный экспресс-метод обнаружения возбудителей микроспории животных, основанный на флуоресценции дерматомицетов, который может применяться при ранней и предварительной постановки диагноза.

Ключевые слова: экспресс-метод, микроспория, дерматомицеты, животные.

RAPID METHOD DETECTION OF PATHOGENS MICROSPORES ANIMALS

Volkov A.M., post-graduate student

National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine

Summary. The article provides a rapid method of identifying pathogens microsporia animals based on the fluorescence dermatomitsetov that can be used for early and pre-diagnosis.

Key words: rapid method, microsporia, dermatomitsetami animals

УДК 619:616. 93:579. 673. 21:636

ЛІПІДНИЙ СКЛАД ТА ВІРУЛЕНТНІСТЬ МΥСОВΑCΤΕRІUM ΒΟVІS ШВИДКОРОCЛОГО ШΤΑΜΥ

Глебенюк В.В., к. вет. н., доцент

Дніпропетровський державний аграрно-економічний університет,
м. Дніпропетровськ

Анотація. Наведено результати вивчення ліпідного складу *M. bovis* швидкорослого штаму. Встановлено зміни кількості загальних ліпідів і складу вільних жирних кислот у мікобактерій за відновлення вірулентності після пасажування через морських свинок.

Ключові слова: мікобактерії, вірулентність, ліпідний склад, пасаж, морські свинки.

Актуальність проблеми. Загальний вміст ліпідів у клітинах мікобактерій складає 10–60 %. До їх складу входять полярні та нейтральні ліпіди, вміст яких може визначати вірулентність збудника та змінюватися в залежності від факторів зовнішнього середовища [4, 5].

Загальновідомо, що для відновлення вірулентності збудника туберкульозу потрібно один–три “сліпих” пасажів через організм лабораторних тварин. При цьому не всі штами однаково відновлюють свою вірулентність [1].

Особливо актуальним це питання постає за циркуляції в стадах великої рогатої худоби *M. bovis* швидкорослих штамів [2, 6].

Завдання дослідження: вивчити ліпідний склад *M. bovis* швидкорослого штаму за відновлення вірулентності після пасажування через морських свинок.

Матеріал і методи дослідження. Матеріалом для досліджень були *M. bovis* швидкорослого штаму до (№ 1) та після (№ 2) пасажування через морських свинок.

Ліпідний склад досліджували за методикою Фолча в модифікації Блайя-Дайера після накопичення біомаси мікобактерій на середовищі ДП «Ветеринарна медицина» протягом 30 діб за температури 37 °С.

Фракційний склад ліпідів вивчали методом тонкошарової хроматографії на пластинках Silufol (Чехія) із закріпленим шаром силікагелю та подальшим кількісним денситометруванням.

Аналіз фракції вільних жирних кислот проводили за допомогою газорідинної хроматографії на газовому хроматографі Chrom-5 (Чехія) після попереднього метилування. На хроматограмах піки ідентифікували за допомогою стандартних сумішей метилових ефірів жирних кислот і за часом їх утримання. Для кількісної оцінки визначали площі піків і розраховували відношення кожного піку до суми компонентів у відсотках [3].

Результати дослідження. В результаті досліджень встановлено, що кількість загальних ліпідів у мікобактерій штаму № 1 майже у 3 рази нижча, ніж штаму № 2 (табл. 1).

Таблиця 1

Вміст загальних ліпідів у *M. bovis*

Вміст загальних ліпідів (% на наважку)	№ штаму	
	1	2
	4,09±0,29	13,00±0,44

Наступні дослідження засвідчили, що фракції ліпідів знаходяться практично на одному рівні (табл. 2).

Між тим, газорідинною хроматографією виявлено, що вміст окремих вільних жирних кислот