

concentration of drugs in test tubes in the first stage of research was prepared by the method of successive decimal dilutions, and in the second stage of the research, to determine more precise bactericidal concentration of the drug – two dilutions so that the sensitivity is provided inside of the row. Bactericidal concentration of disinfectants was determined by seeding of the tubes with no visible growth of *Campylobacter* on Petri dishes with a nutrient medium dense for the cultivation of *Campylobacter*.

Key words: disinfectants, *Campylobacter*, circulating strains, sensitivity, poultry.

УДК 619:616.992:616-091.8:[636.028/636.5]

ПАТОГІСТОЛОГІЧНІ ЗМІНИ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ МУКОРМІКОЗІ

Кінаш О.В., аспірант vet.86@ukr.net

Полтавська державна аграрна академія, м.Полтава

Анотація. За експериментального мукормікозу білих мишей та птиці вражаються паренхіматозні органи та головний мозок. При гістологічному дослідженні в тканинах уражених органів виявляли проліферативні процеси, ступінь вираженості яких залежить від тривалості захворювання. У відповідь на присутність інфекційного агента в тканинах спостерігається клітинна реакція епітеліоїдних, лімфоїдних, плазматичних і гігантських клітин.

Ключові слова: мукормікоз, *Mucor ramosissimus*, кури, білі миші, гістологічні дослідження

Актуальність проблеми. В останні роки як у медичній, так і у ветеринарній мікології зростає актуальність мікозів, які викликаються «нетиповими» збудниками – грибами, чий патогенні властивості раніше лишалися невідомими. У порівнянні з бактеріальними та вірусними захворюваннями, діагностиці, лікуванню та профілактиці грибкових хвороб птиці не приділяється належної уваги. Грибкові захворювання набули нового значення через порушення термінів застосування антибактеріальних препаратів, що знищують природну корисну мікрофлору, яка в свою чергу є антагоністом грибів та пригнічує їх ріст [7]. Це призвело до загострення проблеми опортуністичних мікозів у ветеринарній практиці. Разом з тим, знання практикуючих ветеринарних фахівців щодо опортуністичних грибкових інфекцій залишаються на низькому рівні, в той час як ці захворювання розглядаються Міжнародною організацією медичних і ветеринарних мікологів (ISHAM) як «мікози зростаючої значущості», що вимагає подальшого їх всебічного вивчення [4,8]. Одним із таких маловивчених захворювань є мукормікоз. Існують лише поодинокі повідомлення про негативний вплив мукора на організм тварин та людей [7].

За даними В. Spellberg (2005) найчастіше в патологічний процес при мукормікозі залучаються носові пазухи, головний мозок і легені. Інфекція може поширитися на шлунково-кишковий тракт, шкіру та інші органи. Найбільш поширені форми мукормікозу – шкірна форма та церебральний мукормікоз [10]. Bigland С.Н. (1961) повідомляє про випадок системного мікозу в пінгвіна, який загинув внаслідок ураження ЦНС, що викликало порушення координації рухів, односторонню фотофобію із подальшим розвитком паралічу [6]. На думку Greiner Е.С. (1994), мукормікоз іноді важко відрізнити від аспергильозу [9]. Мукормікоз може бути віддиференційовано від схожих захворювань за допомогою гістологічного дослідження. Детальне вивчення мукормікозу провів Агольцов В.А. (2006). При експериментальному зараженні телят в тканинах легень ним виявлено макрофаги і нейтрофільні лейкоцити. Макроскопічно в усіх частках легень виявлено геморагічні інфаркти, в тканинах нирок – скупчення лейкоцитів і елементів гриба *Mucor* spp.. Після перорального зараження знаходили запалення шлунку з ділянками некрозу. В підслизовому шарі навколо кровоносних судин виявлено міцелій гриба. Деякі судини, в яких відсутня кров, заповнені гіфами гриба. Після аерогенного зараження характер уражень був схожий за патогістологічними змінами на зміни при внутрішньовенному зараженні, але при цьому вони були менш виражені. Клітинна реакція макроорганізму на вторгнення гриба виявлялася скупченням в місці локалізації збудника велетенських клітин і лімфоцитів [1]. Окремі дослідники свідчать, що при експериментальному мукормікозі в лабораторних тварин у нирках, печінці, селезінці, серцевих м'язах і легенях у місцях проростання спор гриба виникає вогнищевий некроз, густа лейкоцитарна інфільтрація та гнійне розплавлення тканин [5]. Проте, в роботах відсутні дані щодо змін в

головному мозку, в той же час існують окремі повідомлення про те, що гриби роду *Mucor* часто вражають саме центральну нервову систему. Домницький І.Ю. (2009) досліджував патоморфологічні зміни при мукомікозі у корів, телят та поросят. Експериментальний мукомікоз дослідник відтворював на кролях [3]. Однак, в літературних джерелах недостатньо описано мукомікоз птиці. Також досить мало інформації щодо відтворення мукомікозу на лабораторних тваринах, таких як лабораторні миші чи шурі. Для з'ясування механізмів патогенезу мукомікозу є необхідним встановити зміни в тканинах і органах, які може спричиняти збудник.

Завдання досліджень полягали у вивченні патоморфологічних змін в органах білих мишей та птиці при експериментальному мукомікозі.

Матеріали і методи досліджень. Дослідження проводили на білих мишах та курях породи ломан-браун 6-ти місячного віку, які утримувались у спеціальному боксі дослідної лабораторії, де були створені умови для запобігання їх стороннього інфікування завдяки деконтамінації кормів і води за допомогою ламп ультрафіолетового опромінення та щоденного проведення аерозольної дезінфекції 40 %-вим водним розчином молочної кислоти в присутності тварин та птиці. Рівень бактеріального забруднення повітря контролювали седиментаційним методом.

З білих мишок та курей сформовано по 2 дослідних та по 2 контрольних групи по 6 голів в кожній. Попередніми дослідженнями було встановлено, що патоморфологічні зміни в органах білих мишей та курей почали виявляти, починаючи з зараження у концентрації 1×10^6 спор у 1 мл. Тому дослідних тварин та птицю інфікували внутрішньо-очеревинно 10-ти добовою чистою культурою гриба *Mucor ramosissimus* з концентрацією 1×10^6 спор у 1 мл в дозах 0,5 мл на голову (кури) та 0,2 мл на голову (білі миші). Контрольним тваринам та птиці вводили внутрішньо-очеревинно стерильний фізіологічний розчин в дозах 0,5 мл та 0,2 мл відповідно.

На 5, 10 та 15 добу зараження з дотриманням біоетичних стандартів здійснювали евтаназію мишей та курей по 2 тварини з кожної групи та проводили патолого-анатомічну оцінку органів мишей та курей. Для проведення гістологічних досліджень відбирали печінку, селезінку, легені, лімфатичні вузли, нирки, серце, кишечник і головний мозок тварин та фіксували їх 10% нейтральному розчині формаліну. Гістозрізи готували за класичною методикою на санному мікромомі НМ-440Е, фарбували гематоксилін-еозином [2]. Мікрофотографування здійснювали з використанням бінокулярного мікроскопа XSP-139 TP із системою аналізу зображення за допомогою програми «Відео Тест».

Результати досліджень. При дослідженні **легень** білих мишей на 5-ту добу після підшкірного інфікування спостерігали гіперемію та набряк легеневої тканини. Міжальвеолярні перетинки інфільтровані лімфоїдними та епітеліоїдними клітинами. На 10-ту добу виявляли більш інтенсивну клітинну інфільтрацію. Перибронхіальна сполучна тканина та міжальвеолярні перетинки були інфільтровані лімфоїдними та епітеліоїдними клітинами. Легенева тканина гіперемійована, набрякла, альвеоли заповнені серозним ексудатом (рис.1). На 15 добу ще зберігаються ознаки гіперемії, альвеоли заповнені серозним ексудатом. Окрім того виявлені значні ділянки клітинної інфільтрації тканини легень.

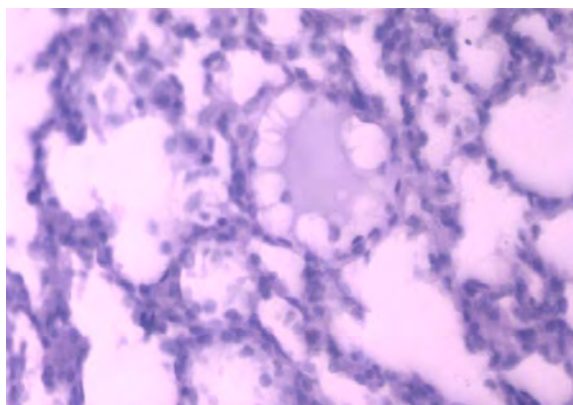


Рис. 1 . Гістопрепарат легень білої миші:
клітинна інфільтрація міжальвеолярних перетинок (а); серозний ексудат в альвеоли (б).
Гематоксилін-еозин, x400.

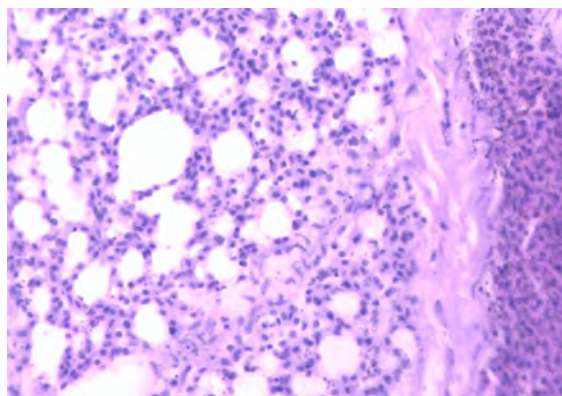


Рис. 2. Гістопрепарат легень курки:
клітинна інфільтрація міжальвеолярних перетинок (а); набряк стінки кровоносної судини (б), переповнення судини кров'ю (в).
Гематоксилін-еозин, x200.

В **легенях курей** як на 5-ту, так на 10-ту і 15-ту добу після інфікування спостерігали аналогічні зміни, що виражалися в інтенсивній клітинній інфільтрації перибронхіальної сполучної тканини та міжальвеолярних перетинок. Стінки кровоносних судин легень були потовщені, набрякли, кровоносні судини розширені та переповнені кров'ю (рис.2).

В **нирках** забитих мишей на 5-ту добу після інфікування спостерігали гіаліново-крапельну дистрофію епітелію канальців нирок, в яких виявлені великі білкові краплини. Межі клітин в більшості канальців не виявлялися. В окремих клітин порушується клітинна мембрана і гіаліноподібні циліндри вільно розташовуються в просвіті канальців. В мишей, забитих на 10-ту та 15-ту добу клубочки були зморщені, деформовані, спостерігали пошкодження капсули клубочка. Виявляли аналогічну картину гіаліново-крапельної дистрофії канальців нирок. Епітелій місцями зруйнований, його десквамація мала вигляд глибок. Окрім того, на 15-ту добу після інфікування виявлені значні клітинні інфільтрати ниркової тканини, переважно за рахунок епітеліоїдних та лімфоїдних клітин (рис. 3).

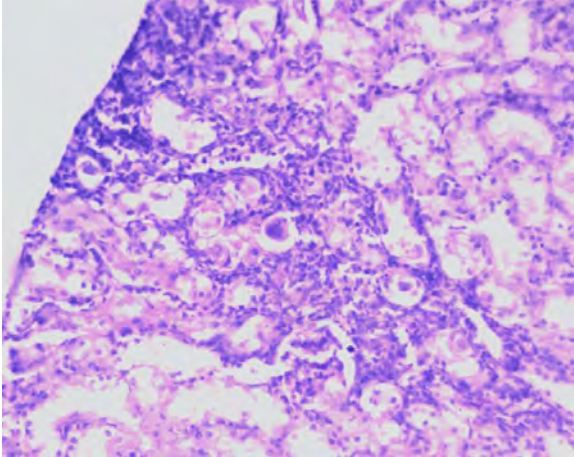


Рис. 3 . Гістопрепарат нирки білої миші:
клітинна інфільтрація (а); гіалінові циліндри в просвіті канальців(б), гіаліново-крапельна дистрофія епітелія канальців (в).
Гематоксилін-еозин, x200.

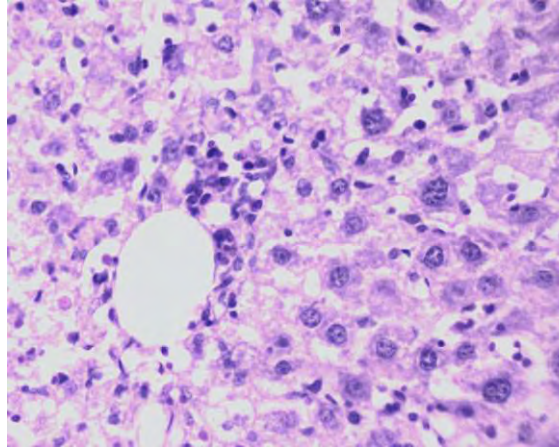


Рис. 4. Гістопрепарат печінки білої миші:
виражений цитоліз гепатоцитів:
каріопікноз (а); каріорексис(б), каріолізис (в).
Гематоксилін-еозин, x400.

В **нирках** забитих курей як на 5-ту , так і на 10-ту добу після інфікування виявляли застійні явища (кровоносні судини нирок розширені та кровонаповнені). Стінки кровоносних судин були потовщені та набрякли. Місцями спостерігали гіаліново-крапельну дистрофію епітелію канальців. На 15-ту добу відбувалось поглиблення дистрофічних змін та виявлялись невеликі вогнища клітинної інфільтрації.

У білих мишей, забитих як на 5-ту, так на 10-ту і 15-ту добу після інфікування в **міокарді** виявляли незначне порушення поперечної посмугованості. Виявлене набрякання міжм'язових сполучнотканинних елементів та стази у кровоносних судинах міокарда. Окрім того, на 15-ту добу залишалася клітинна інфільтрація (переважно за рахунок епітеліоїдних та лімфоїдних клітин) міжм'язової сполучної тканини серцевого м'яза.

У забитих курей на 5-ту та 10-ту добу після інфікування також виявляли порушення поперечної посмугованості м'язових волокон міокарду, набрякання між м'язовими волокнами, стази в кровоносних судинах міокарда. На 15-ту добу в серці курей також були виражені порушення поперечної посмугованості міокарда та спостерігали набрякання міжм'язової сполучної тканини і значні крововиливи у міокарді.

Балкова структура **печінки** білих мишей, забитих на 5-ту та 10-ту добу після інфікування, порушена. Біля центральних вен виявлені незначні клітинні інфільтрати переважно за рахунок епітеліоїдних, лімфоїдних та плазматичних клітин. На 15-ту добу виявлено поглиблені порушення балкової структури печінки, а також хроматоліз ядер. Клітинні інфільтрати спостерігаються в міжчасточковій сполучній тканині, біля центральних вен та жовчних протоків (Рис.4).

В **печінці** курей як на 5-ту, так і на 10-ту добу після інфікування виявляється дисконкомплексація балкової структури. В міжчасточковій сполучній тканині, біля жовчних протоків і вен – клітинні інфільтрати. Відмічено, що на 15-ту добу після інфікування кількість та розмір клітинних інфільтратів

збільшується. Спостерігається також активна проліферація міжчасточкової сполучної тканини (рис. 5).

В **селезінці** білих мишей, забитих на 5-ту та 10-ту добу після інфікування спостерігалась гіперплазія фолікулів, а на 15-ту добу, крім цього, виявлені дрібні осередки некрозів, епітеліоїдні, гігантські клітини та гіфи гриба (рис.5).

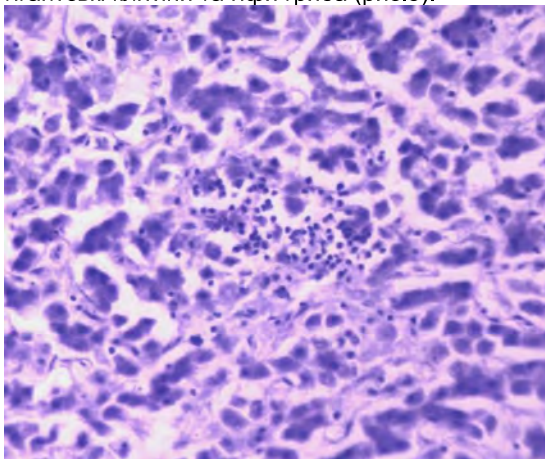


Рис. 5. Гістопрепарат печінки курки:
порушення балкової структури печінки(а); клітинна інфільтрація (б), зерниста дистрофія гепатоцитів (в), рексис та лізис ядер гепатоцитів (г). Гематоксилін-еозин, x400.

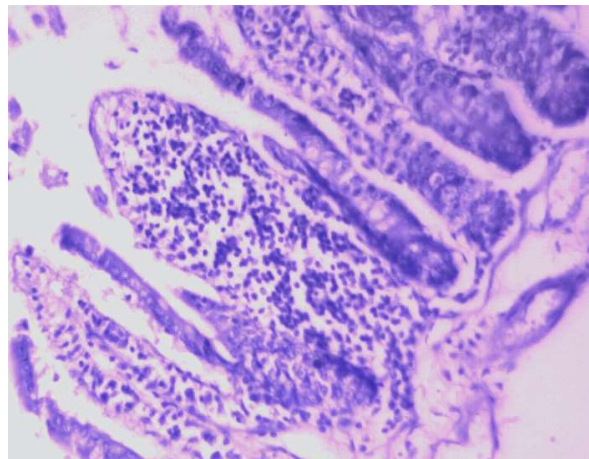


Рис. 6. Гістопрепарат тонкого кишечника білої миші:
інфільтрація ворсинок та структур підслизового шару слизової оболонки епітеліоїдними та лімфоїдними клітинами(а); переповнення слизом бокаловидних клітин (б). Гематоксилін-еозин, x200.

Як на 5-ту, так і на 10-ту добу після інфікування в **селезінці** курей червона пульпа інфільтрована лімфоїдними клітинами, а на 15-ту добу в фолікулах виявлені епітеліоїдні, окремі гігантські клітини та збіднення фолікулів на лімфоїдні елементи.

В слизовій оболонці **тонкого кишечника** білих мишей на 5-ту та 10-ту добу після зараження виявлено набряк підслизового шару та невеликі інфільтрати з лімфоїдних та епітеліоїдних клітин. Спостерігалася гіперплазія лімфоїдних фолікулів органу. На 15-ту добу ворсинки тонкого відділу кишечника деформовані, відмічалася інфільтрація ворсинок та інших структур слизової оболонки епітеліоїдними та лімфоїдними клітинами (рис.6).

В **товстому кишечнику** як на 5-ту, так і на 10-ту добу після інфікування білих мишей виявляли гіперплазію лімфоїдних фолікулів та клітинні інфільтрати в слизовій оболонці. На 15-ту добу спостерігали посилення десквамативних процесів серед ворсинок кишечника.

В **тонкому та товстому кишечнику** курей на 5-ту і 10-ту добу після інфікування спостерігалась незначна деструкція кишкових ворсинок та гіперплазія лімфатичних фолікулів. На 15-ту добу після інфікування курей збудником *Mucor ramosissimus* деструктивні зміни поглиблювались, ворсинки були деформовані, багато з яких зруйновано та частково інфільтровано лімфоцитами.

В **головному мозку** забитих мишей на 5-ту добу підшкірного інфікування спостерігали ознаки альтеративних змін у нейронах та невеликі ділянки скупчення лімфоїдних клітин, а також проліферацію клітин глії. Навколо судин головного мозку виявлені периваскулярні муфти. На 10-ту добу – лейкоцитарна інфільтрація була значно виражена. Дистрофічні зміни та ознаки некрозу у нейронах головного мозку були поширеним процесом на фоні перичелюлярних набряків та явищ нейронафагії, що може свідчити про розвиток негнійного енцефаліта. На 15-ту добу вищезазначені явища поглиблювались (рис.7).

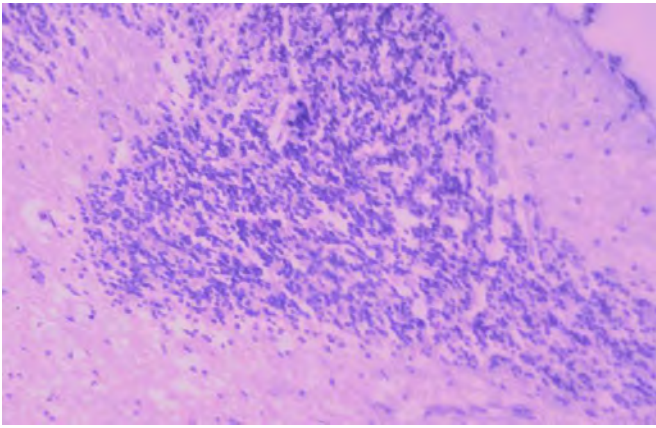


Рис. 7. Гістопрепарат головного мозку білої миші (ділянка півкуль):
клітинна інфільтрація (а); каріопікноз (б),
нейронофагія (в). Гематоксилін-еозин, х400.

В **головному мозку** забитих курей на 5-ту та 10-ту добу після інфікування спостерігали дистрофічні зміни у нейронах головного мозку, перичелюлярні набряки та стази в кровоносних судинах. На 15-ту добу в головному мозку курей виявляли явища базофілії та нейронофагії, поглиблення дистрофічних змін в нейронах на незначну лімфоїдну інфільтрацію, що свідчило про розвиток негнійного енцефаліта. Але, значних ділянок клітинної інфільтрації в головному мозку не виявляли.

Отже, виявлена динаміка патоморфологічних змін свідчить про поступове переважання продуктивного запального процесу над лейкоцитарно-лімфоцитарною реакцією на штучне інфікування збудником мукормікозу у курчат та білих мишей. Проліферація

епітеліоїдних клітин і поява поодиноких гігантських клітин на фоні стриманої лімфоїдної та плазмодитарної інфільтрації свідчить про поступове формування інфекційної гранульоми. Ураження мозку в курей і білих мишей супроводжується масовими периваскулярними муфтами з випотіванням рідини навколо судин. В окремих запусітих судинах знаходяться поодинокі несептовані гіфи гриба. Ознак некрозу за означений період досліджень в мозковій тканині не виявляли, в той час як руйнація слизової оболонки кишечника, пікноз, рексис ядер гепатоцитів та ретикулярної тканини селезінки свідчить про цитоліз та токсичний вплив збудника. Таким чином можна вважати, що експериментальний мукормікоз на моделі курей і білих мишей перебігає переважно з ознаками мікозу, проте збудник здійснює агресію своїми мікотоксинами відносно паренхіматозних органів дослідних тварин.

Висновки

1. При експериментальному мукоромікозі у мишей та курей встановлена виражена клітинна реакція епітеліоїдних, лімфоїдних, плазматичних і окремих гігантських клітин на присутність збудника в паренхіматозних органах.
2. Активність проліферативного процесу залежить від термінів розвитку захворювання (від поодиноких скупчень клітин до формування інфекційних гранул).
3. Наявність активної клітинної реакції в мозку тварин свідчить про подолання збудником гемато-енцефалічного бар'єру і його спроможності уражати мозкову тканину.

Література

1. Агольцов В. А. Кандидоз, аспергиллез и мукороз животных: дис. докт. вет. наук : 16.00.03 / В.А. Агольцов. – Саратов, 2006. – 380 с.
2. Волкова О. В. Основы гистологии с гистологической техникой / О. В. Волкова, Ю. К. Елецкий. – М: Медицина, 1982. – 304 с.
3. Домницкий И. Ю. Патоморфологическая диагностика висцеральных микозов :автореф. дис... 16.00.02/И. Ю. Домницкий. – Саратов, 2009. – 44 с.
4. Оппортунистические микозы животных: тезисы докладов второго съезда микологов России [«Успехи медицинской микологии»], (Москва, 16-18 апреля 2008 г.) – Т.2.– С. 320–323.
5. Патологічна анатомія тварин: / [П. П. Урбанович, М. К. Потоцький, І. І. Гевкан та ін.]. – К.: Ветінформ, 2008. – 896 с.
6. Bigland C.H. An osteolyticMucor mycosis in a penguin /C.H.Bigland, F.E.Graesser, K.S. Penniford// Avian Diseases, 1961. – Vol. 5, №4. – P. 367–370.
7. De Lucca A.J. Harmful fungi in both agriculture and medicine / A.J.De Lucca // Rev.IberoamMicol, 2007. – №24. – P. 3–13.
8. Kuldeep D. FungalMycotic Diseases of Poultry-diagnosis, Treatment and Control: A Review /D. Kuldeep,C. Sandip, K. Amit et al. // Pakistan Journal of Biological Sciences, 2013. – № 23. – P. 1626–1649.

9. Greiner E.C. *Mycoses* / E.C Greiner, B.W. Ritchie // *Avian Medicine: Principles and Applications* / Lake Worth, Florida: Wingers Publishing, 1994. – P. 997-1006.
10. Spellberg B. *Novel Perspectives on Mucormycosis: Pathophysiology, Presentation, and Management* / B.Spellberg, J.Edwards, A. Ibrahim // *Clin.Microbiol.Rev*, 2005.– № 18. – P. 556–569.

ПАТОГИСТОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ МУКОРМИКОЗЕ

Кинаш О.В., аспирант vet.86@ukr.net

Полтавская государственная аграрная академия, г.Полтава

Анотация. При экспериментальном мукормикозе белых мышей и птицы поражаются паренхиматозные органы и головной мозг. При гистологическом исследовании в тканях пораженных органов выявляли пролиферативные процессы, степень выраженности которых зависит от продолжительности заболевания. В ответ на присутствие инфекционного агента в тканях наблюдается клеточная реакция эпителиоидных, лимфоидных, плазматических и гигантских клеток.

Ключевые слова: мукормикоз, *Mucor ramosissimus*, куры, белые мыши, гистологические исследования

PATHOHISTOLOGICAL CHANGES CAUSED BY EXPERIMENTAL MUCORMYCOSIS

Kinash O.V., vet.86@ukr.net

Poltava State Agrarian Academy, Poltava

Summary. To determine the mechanisms of mucormycosis pathogenesis was tasked to establish changes in tissues and organs, which may causing by infection agent *Mucor ramosissimus*. The study was conducted on white mice and 6 months old hans breed Lohman-Brown. Experimental animals are kept in a special box of research laboratory, wich conditions were created to prevent exterior contamination. Were formed two experimental and two control groups of white mice and chickens by six heads in each. Experimental animals and poultry were intra-peritoneal infected by 10-day pure culture of fungus *Mucor ramosissimus* with spores concentration 1 million colonied forming units per 1ml in dose 0.2 ml. Control animals and birds were intra-peritoneal injected by sterile saline in dose of 0.2 ml per head. At 5, 10 and 15 days of infection with observance to bioethical standards was conducted euthanasia of mice and chickens by two animals from each group and conducted pathoanatomical assessment of selected organs. Were taken liver, spleen, lungs, lymph nodes, kidneys, heart, intestines and brain of animals for the histological researh and fixed their 10% in neutral formalin solution. Histological sections prepared by the classical method on a sled microtome and stained with hematoxylin-eosin. Dynamics of pathological changes indicates a gradual predominance of a productive inflammation over the leukocytic and lymphocytic reaction in response to experimental infection by mucormycosis agent in chickens and white mice. Proliferation of epithelioid cells and appearance of a rare giant cells in a background of moderate lymphoid infiltration and plasmocytes inphiltration indicates to a gradual formation of infectious granulomas. Activity of a proliferative process depends on the disease duration. Presence of active cell reaction in animals brain indicates to overcoming the blood-brain barrier by pathogen fungi. Brain lesions in chickens and white mice accompanied by widespread perivascular clutches with fluid exudation around vessels. In some empty vessels there are few no-septum hyphae of the fungus. There were no signs of necrosis in brain for a certain period of research, at the same time the destruction of intestinal mucosa, pyknosis, reksys of hepatocytes and reticular spleen tissue nucleus indicates to toxic effect of the pathogen. So it could be considered that the experimental model of mucormycosis in chickens and white mice passing mostly with signs of visceral mycosis, and toxic effects of the pathogen to parenchymal organs caused by the influence of fungus metabolites – mycotoxins.

Key words: mucormycosis, *Mucor ramosissimus*, chicken, white mice, histological research.