

Summary. The study of skin diseases of dogs, because of its prevalence, diversity and complexity of dermatological problems, it is very relevant, as evidenced by the fact that skin diseases in dogs registered relatively often - 30% of all diseases of animal species. Among these pressing problems is the study of atopic dermatitis (AD). Atopic dermatitis is a hereditary predisposition to allergic antibody formation against the antigens from the environment (indoor dust, pollen, poplar fluff, etc.) that often act on the body. The major pathogenetic mechanisms of hypersensitivity lesion is skin that is caused by the action of sensitized lymphocytes and cytotoxicity of contact.

To study the nature and characteristics of the course of atopic dermatitis in dogs and the extent of its distribution, depending on the breed and age of animals; identify the most effective treatments and develop measures to reduce diseases of dogs with atopic dermatitis. The material for the research served as clinically healthy patients with dermatitis and dogs of different breeds (and outbred) of all ages and gender. Work performed during the 2013-2015 biennium. Department of Surgery at the Kharkiv State Veterinary Academy. We studied the extent of, clinical and morphological characteristics of atopic dermatitis (AD) in dogs, the clinical features of AD in dogs, especially the pathogenesis reasonable treatment of AD.

Diseases of the skin (dermatitis) in dogs are often characterized by considerable diversity and complexity of the mechanisms and symptoms etiopathogenetical by atopic dermatitis are more prone Terriers, Labradors, Boxers, Cocker Spaniels, German Shepherds, Setters, English Bulldogs. The most common symptoms of this skin disease is pruritus, alopecia, erythema, hyperpigmentation, lichenification on the face, feet, chest, abdomen, ears, tail.

In the occurrence of atopic dermatitis matter gets antigen via the airways, due to which blood pressure is often called "respiratory allergic dermatitis". Dogs suffering from AD, we used a complex treatment regimen combining the use of prednisone administration timalin immunostimulant. Last injected intramuscularly at a dose of 0.3 mg / kg once daily for 8-10 days; the control group of patients with AD dogs received standard treatment with prednisolone.

Dogs suffering from AD, we used a complex treatment regimen combining the use of prednisone administration timalin immunostimulant. Last injected intramuscularly at a dose of 0.3 mg / kg once daily for 8-10 days; the control group of patients with AD dogs received standard treatment with prednisolone. As a result of treatment found that comprehensive use of prednisone, timalin local therapy and cure contributed 83.3% of patients with AD dogs, while the use of prednisolone without further introduction to medical immunocorrective scheme and immunostimulatory therapy dogs percent cured was significantly lower (66 , 6%). The duration of treatment of patients in the first group of dogs was 11-21 days, and the second - 9 - 14 days.

Key words: skin disease, atopic dermatitis, immunostimulation

УДК 619:616.98-078:579.873.21:57.083.13:636.91

КУЛЬТУРАЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ БІОЛОГІЧНОГО МАТЕРІАЛУ ВІД МОРСЬКИХ СВИНОК НА ТУБЕРКУЛЬОЗ

Калашник М. В., аспірант⁷, nick.v.kalashnik@gmail.com

*Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини»,
м. Харків*

Анотація. У статті наведені результати культуральних досліджень біологічного матеріалу від морських свинок на туберкульоз. Встановлено залежність і вплив процесу заморожування та різних

⁷ Науковий керівник: Стегній Б.Т., доктор ветеринарних наук, професор, академік НААН, Заслужений діяч науки та техніки України.

строків зберігання біоматеріалу на показники росту та висіваєності культур мікобактерій *M. bovis* шт. *Vallee*. Встановлено, що найкращий показник первинного росту колоній мікобактерій було отримано при обробці свіжого біологічного матеріалу. Зниження швидкості та інтенсивності росту культур на поживному середовищі відмічали при зберіганні біологічного матеріалу в замороженому стані на протязі 15-30 діб.

Ключові слова: туберкульоз, *M. bovis*, культуральне дослідження.

Актуальність проблеми. Збільшення виробництва та підвищення якості продукції тваринництва значною мірою залежить від благополуччя гуртів великої рогатої худоби щодо інфекційних хвороб, в тому числі і при туберкульозі. Захворювання людей і тварин на туберкульоз в різні роки відмічали на всіх континентах земної кулі. Серед сільськогосподарських тварин туберкульозну інфекцію найчастіше відмічають серед ВРХ. На сьогоднішній день туберкульоз є актуальною медико-соціальною, ветеринарною та екологічною проблемою у всьому світі [1, 2].

Одним із значних факторів, який позитивно впливає на розвиток галузі тваринництва, є профілактика та оздоровлення гуртів ВРХ від цього захворювання.

Щодо поширення туберкульозної інфекції серед ВРХ у світі, то вона має нерівномірне розповсюдження. Так за даними МЕБ на європейському континенті кількість неблагополучних пунктів складала 70,98 %, а хворих тварин — 68,7 %, в країнах Азії — 1,21 % і 10,6 %, на Американському континенті — 9,15 % і 8,64 %, в Австралії та Японії 2,41 % і 3,22 % відповідно. На початок 2000 року благополучними по туберкульозу ВРХ були 35 країн світу. З цього числа 19 країн були благополучними по туберкульозу протягом 5 років [8].

Щодо розповсюдження туберкульозної інфекції серед ВРХ в господарствах України, то за останні 7 років кількість неблагополучних пунктів по цьому захворюванню значно зменшилась від 60 в 2007 році до 1 пункту в 2015 році. Не дивлячись на досягнуті успіхи в боротьбі з туберкульозом в окремих областях серед поголів'я ВРХ відмічаються випадки виникнення цього захворювання як в благополучних так і в раніше оздоровлених господарствах.

В системі заходів профілактики та боротьби з туберкульозом велике значення має своєчасна та ефективна його діагностика. Для прижиттєвої діагностики туберкульозу застосовують внутрішньошкірну туберкулінову пробу, за результатами якої визначають наявність або відсутність інфікованих тварин у господарстві [12]. При цьому необхідно також відмітити, що реакції на туберкулін можуть зумовлювати не тільки збудники туберкульозу, але й деякі види атипичних мікобактерій. Отже в організмі тварин можуть одночасно циркулювати патогенні та персистувати непатогенні атипичні мікобактерії.

Разом з цим розвиток туберкульозного процесу в організмі тварин залежить від його резистентності та вірулентності збудника. Крім того туберкульозна інфекція може протікати і у латентній формі [7].

Для остаточного визначення епізоотичної ситуації в гуртах необхідно проводити додаткові дослідження із застосуванням патологоанатомічного та бактеріологічного методів досліджень. Діагноз на туберкульоз вважають встановленим при виявленні в органах і тканинах характерних для туберкульозу змін або виділенні збудника *M. bovis*, *M. tuberculosis* культуральним методом [12].

Для постановки заключного діагнозу на туберкульоз використовують бактеріологічний метод дослідження. Виділити збудника туберкульозу з біоматеріалу від забитих з діагностичною метою тварин культуральним методом не завжди є можливим. Це залежить від якості відібраного для дослідження біоматеріалу, терміну його дослідження, кількості життєздатних мікобактеріальних клітин у ньому, способу передпосівної обробки та елективності поживного середовища, що використовується для індикації мікобактерій [11].

В практиці бактеріологічних лабораторій для передпосівної обробки використовують метод Гона – Левенштейна – Суміоші, метод А.П. Алікаєвої, метод флотації, а також розчин хлоргесидінбіглюконіума, препарат «Лесептик», лаурілсульфат натрію в композиції з розчином луѓу. Не дивлячись на велику кількість запропонованих способів та використання різних діючих речовин та детергентів вони мають свої недоліки. Хімічні сполуки при застосуванні можуть частково пригнічувати ріст культур мікобактерій при культивуванні на селективних поживних середовищах [11, 6, 9, 10].

Разом з цим на мікобактеріальні клітини діють ферментативно-біологічні фактори, які містяться в патологічному матеріалі та згубно впливають на життєздатність мікобактерій [3].

Достовірність бактеріологічної діагностики при дослідженні на туберкульоз залежить від впливу різних хімічних речовин та фізичних факторів на життєздатність мікобактерій, тому результат та

Проблеми зооінженерії та ветеринарної медицини

ефективність культурального дослідження на туберкульоз залежить в першу чергу від стану біологічного матеріалу, методів консервування, умов та терміну його зберігання.

Мікобактерії туберкульозу в дистильованій воді за температури 37 °С втрачають життєздатність через 3 тижні. У неконсервованій мокроті за температури мінус 24°С мікобактерії залишаються живими 1-4 місяці, а при додаванні гліцерину в якості консерванту гинуть вже через 10 діб. Температурні коливання навколишнього середовища значно знижують висіваємість та інтенсивність росту та збільшують строк появи культур мікобактерій туберкульозу на живильному середовищі. Ізоляція культур мікобактерій туберкульозу із біологічного матеріалу від тварин різко знижується за температури мінус 18 °С протягом 3 місяців зі 100 % до 37,5 % [5]. При зберіганні протягом 30 діб у 30 % розчині гліцерину висіваємість мікобактерій знижується у 2 і більше разів [4].

Завдання дослідження. У зв'язку з цим з'явилась необхідність вивчити культурально-морфологічні, тинкторіальні та ростові властивості мікобактерій в залежності від термінів зберігання патологічного матеріалу при культуральному дослідженні на туберкульоз. Мета роботи полягала у вивченні строків висіваємість мікобактерій із патологічного матеріалу після різних термінів його зберігання.

Матеріал і методи дослідження. Для постановки біологічної проби були відібрані клінічно здорові морські свинки вагою 250,0-300,0 грамів. Перед зараженням тварин досліджували алергічним методом на туберкульоз із застосуванням «Туберкуліну очищеного (ППД) для ссавців в стандартному розчині», серія № 29, термін придатності до 24.06.2016 року. Облік алергічної реакції на мікобактеріальний алерген проводили через 24 години після введення.

Дослідним тваринам вводили завись культури *M. bovis* (шт. *Vallee*) у дозі 1,0 см³ підшкірно в область правого стегна з медіальної сторони. Тварин, що загинули під час досліду та евтазованих через 90 діб, піддавали патологоанатомічному дослідженню, відбирали зразки патологічного матеріалу: лімфатичні вузли, шматочки легень, печінки, селезінки від 6 голів морських свинок.

Із внутрішніх органів робили мазки-відбитки, які фарбували за методом Ціля-Нільсена та проводили мікроскопію під імersionною системою світлового мікроскопа «UNICO».

Відібраний від лабораторних тварин патологічний матеріал досліджували в свіжому стані. Решту патматеріалу поміщали у стерильні чашки Петрі, заморожували в морозильній камері та зберігали протягом 7, 15, 30 діб за температури мінус 20°С. Після закінчення встановлених термінів зберігання патологічний матеріал розморожували за кімнатної температури 20 °С та проводили дослідження культуральним методом на туберкульоз.

Передпосівну обробку свіжого та замороженого протягом 7, 15, 30 діб патологічного матеріалу проводили за методом А.П. Алікаєвої з використанням 5 % сірчаної кислоти за експозиції 20 хвилин.

Після проведення передпосівної обробки суспензію патологічного матеріалу висівали на поживне середовище для культивування мікобактерій. Пробірки з висівами розташовували у термостаті за температури 37°С на 2-3 доби у скошеному положенні. Після цього ватно-марлеві пробки парафінували, розміщували у бактеріологічні штативи та культивували в термостаті за температури 37 °С.

Облік росту культур мікобактерій проводили протягом 90 діб.

Результати дослідження. При проведенні патологоанатомічного дослідження у тварин відмічали виснаження, збільшення пахових лімфатичних вузлів, некротичні осередки, вузлики які оточені щільною капсулою. Печінка та селезінка були збільшені в 1,5-2 рази, дряблої консистенції з наявністю туберкульозних уражень розміром від макового до просяного зерна.

Бактеріоскопічним методом у мазках-відбитках були виявлені кислотостійкі палички, які мали світло-червоний колір. У мікроскопічних препаратах мікобактеріальні клітини мали форму тонких, прямих та дещо зігнутих паличок із закругленими кінцями.

Після передпосівної обробки патологічного матеріалу проводили культуральне дослідження кожного ураженого органу окремо. Результати культурального дослідження патологічного матеріалу від морських свинок наведена в таблиці 1.

Таблиця

Дослідження патологічного матеріалу від морських свинок (n=6)

Досліджений матеріал	Кількість висіяних пробірок	Ріст колоній у пробірках	Швидкість росту мікобактерій (діб)	Кількість колоній мікобактерій	Інтенсивність росту колоній
----------------------	-----------------------------	--------------------------	------------------------------------	--------------------------------	-----------------------------

Свіжий патологічний матеріал					
Печінка	60	60	18	<3000	#
Селезінка	60	60	19	2356	+++
Лімфатичні вузли	60	56	21	1027	++
Легені	60	55	21	1005	++
7 діб зберігання					
Печінка	60	48	18	1440	+++
Селезінка	60	42	21	1080	++
Лімфатичні вузли	60	24	28	720	++
Легені	60	25	29	712	++
15 діб зберігання					
Печінка	60	49	20-25	480	++
Селезінка	60	45	21-26	300	++
Лімфатичні вузли	60	42	25-30	220	+
Легені	60	14	35-38	104	+
30 діб зберігання					
Печінка	60	30	45-48	348	++
Селезінка	60	30	43-52	252	++
Лімфатичні вузли	60	24	46-50	150	+
Легені	60	12	52-60	78	+
Примітки: «+» - від 1 до 10 колоній мікобактерій; «++» - від 10 до 20; «+++» - від 20 до 50; «#» - суцільний ріст колоній мікобактерій на поживному середовищі.					

За результатами таблиці видно, що при висіві суспензій із свіжого патологічного матеріалу від морських свинок заражених культурою *M. bovis* ріст культур спостерігали на 18-21 добу. При цьому первинний ріст колоній мікобактерій спостерігали на 18 добу із проб печінки, на 19 добу — з селезінки, на 21 добу — з лімфатичних вузлів та легень у вигляді дрібних, сухих та шорстких колоній білого та світло-сірого кольору (R-форма), які не утворювали пігмент при культивуванні на щільному яєчному середовищі для культивування мікобактерій. Загальна кількість колоній в 60 висіяних пробірках із поживним середовищем складала більш ніж 3000 за інтенсивності зросту «#» із проб печінки, 2356 колоній, «+++» — із проб селезінки, 1027 і 1005 колоній мікобактерій, «++» — із проб лімфатичних вузлів та легень.

При висіві патологічного матеріалу від лабораторних тварин, що зберігався 7 діб в морозильній камері, первинний ріст культури (шт. *Vallee*) був зафіксований на 18 добу із печінки, на 21 добу з селезінки, на 28 добу з лімфатичних вузлів, на 29 добу з легень. Інтенсивність росту колоній складала: «+++» — із проб печінки, «++» — із проб селезінки, лімфатичних вузлів, легень. Загальна кількість колоній мікобактерій в 60 пробірках становила: 1440, 1080, 720, 712 відповідно.

При дослідженні патологічного матеріалу розмороженого через 15 діб було встановлено, що колонії мікобактерій виростили не у всіх пробірках. Так із зразків печінки від лабораторних тварин з 60 висіяних пробірок ріст мікобактеріальних колоній встановлений у 49 пробірках. При цьому первинний ріст було встановлено на 20-25 добу, а інтенсивність була на рівні «++» при загальній кількості 480 колоній. Із досліджених проб селезінки тварин ріст колоній спостерігали у 45 пробірках на 21-26 добу. Інтенсивність була на рівні «++», а загальна кількість колоній становила 300 одиниць. Із загальної кількості пробірок із висівами проб лімфатичних вузлів ріст колоній було зафіксовано у 42 пробірках із 60, інтенсивність росту — на рівні «+» при 220 колоніях. На 15 добу із легеневої тканини колонії виростили на 35-38 добу в 14 пробірках, при цьому інтенсивність росту 104 колоній становила «+».

При висівах зависі патологічного матеріалу від лабораторних тварин, що зберігався у морозильній камері протягом 30 діб, появу росту відмічали на 45-48 добу (печінка), на 43-52 добу (селезінка), на 46-50 добу (лімфатичні вузли) та на 52-60 добу (легені). Кількість колоній мікобактерій

Проблеми зооінженерії та ветеринарної медицини

складала від 78 з проб легень до 348 з проб печінки, а показник інтенсивності росту культур був на рівні «+» та «++».

Висновки

1. Результати проведених досліджень свідчать про те, що строки виділення збудника туберкульозу *M. bovis* із патологічного матеріалу та інтенсивність росту на поживному середовищі залежать від терміну дослідження. Встановлено, що найкращі показники первинного росту колоній відмічали при культуральному дослідженні свіжого патологічного матеріалу печінки на 18 добу, селезінки — на 19 добу, легень та лімфатичних вузлів — на 21 добу культивування.

2. Зберігання проб патологічного матеріалу в замороженому стані протягом 15-30 діб впливає на життєздатність мікобактерій та призводить до зниження швидкості та інтенсивності росту культур на поживному середовищі.

3. Отримані результати культурального дослідження біологічного матеріалу від лабораторних тварин свідчать про необхідність вивчення впливу процесу заморожування та зберігання біологічного матеріалу від великої рогатої худоби, реагуючої на туберкулін (ППД) для ссавців, на висівальність мікобактерій. Дослідження в цьому напрямку є актуальними та представляють практичний інтерес для профільних спеціалістів ветеринарної медицини.

Література

1. OIE World Animal Health Information System // Weekly Animal Disease sevice global report [Електронний ресурс]. URL : [http://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Reviewreport/Review/viewsummary?](http://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Reviewreport/Review/viewsummary?&dothis=&reportid=17998) fupser=&dothis=&reportid=17998 (дата звернення: 27.01.2016).
2. WHO Global Tuberculosis Report 2015 / WHO – World Health Organization, 2015.
3. Балан В. И. Способ консервации патологического материала для культурального выявления микобактерий туберкулеза / В. И. Балан // Проблемы туберкулеза – 1988. – № 7 – С. 40-41.
4. Белобородова А. А. Повышение эффективности лабораторной диагностики туберкулеза крупного рогатого скота : автореф. дис. на соиск. уч. степ. канд. вет. наук : спец. 16.00.03 "Ветеринарная микробиол., вирусол., эпизоотол., микол. с микотокс. и иммунология" / А. А. Белобородова. – Новосибирск, 2008. – 20 с.
5. Боганец Н. С. Бактериологическая диагностика туберкулеза животных и ее усовершенствование : автореф. дис. на соиск. уч. степ. док. вет. наук : спец. 16.00.03 "Ветеринарная микробиол., вирусол., эпизоотол., микол. с микотокс. и иммунология" / Н. С. Боганец. – Омск, 2006. – 30 с.
6. Гольшевская В. И. Обработка мокроты раствором хлоргексидинбиглюконикума отечественного производства / В. И. Гольшевская, Н. М. Макаревич // Проблемы туберкулеза – 1990. – № 3 – С. 41–43.
7. Туберкулез сельскохозяйственных животных / [А. М. Колычев, Ю. Я. Кассич, О. В. Мартма и др.] ; под ред. В. П. Шишков, В.П. Урбан. – Москва.: Агропромиздат, 1991.– 255с.
8. Палій А. П. Епізоотологічний моніторинг туберкульозу великої рогатої худоби та науково-експериментальне обґрунтування розробки і застосування : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня док. вет. наук : спец. 16.00.03 "Ветеринарна мікробіол., вірусол., епізоотол., інф. хвороби та імунол." / А. П. Палій. – Харків, 2013. – 40 с.
9. Способ выявления микобактерий туберкулеза [Електронний ресурс]. URL: <http://www.findpatent.ru/patent/219/2190220.html> (дата звернення: 28.01.2016).
10. Способ предпосевной обработки проб, снятых с объектов внешней среды, на выделение микобактерий [Електронний ресурс]. URL: <http://www.findpatent.ru/patent/240/2402781.html> (дата звернення: 28.01.2016).
11. Настанова по діагностиці туберкульозу тварин та птиці / Київ, 1994. – 39 с.
12. Інструкція з профілактики та боротьби з туберкульозом тварин (затверджена Державним комітетом ветеринарної медицини України, наказ № 316 від 03.09.2009 р.).

КУЛЬТУРАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА ОТ МОРСКИХ СВИНОК НА ТУБЕРКУЛЕЗ

Калашник Николай Васильевич, аспирант, nick.v.kalashnik@gmail.com

Национальный научный центр «Институт экспериментальной и клинической ветеринарной медицины», г. Харьков

Аннотация. В статье приведены результаты культуральных исследований биологического материала от морских свинок на туберкулез. Установлена зависимость и влияние процесса замораживания, а также разных сроков хранения патологического материала на показатели роста и высеваемость культур микобактерий *M. bovis* шт. *Vallee*. Установлено, что наилучший показатель первичного роста колоний микобактерий был получен при обработке свежего биологического материала. Снижение скорости и интенсивности роста культур на питательной среде отмечали при хранении биологического материала в замороженном состоянии на протяжении 15-30 суток.

Ключевые слова: туберкулез, *M. bovis*, культуральное исследование.

CULTURAL STUDY OF BIOLOGICAL MATERIAL FROM GUINEA PIGS ON TUBERCULOSIS

Kalashnyk Mykola Vasylovych, PhD student, nick.v.kalashnik@gmail.com

National Scientific Center «Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine», Kharkiv

Summary. The article presents results of pathological material culture investigation from guinea pigs on tuberculosis. The dependence and effect were set between the pathological material freezing process, different storage periods, growth and inoculation of *Mycobacterium bovis* str. *Vallee*.

The depletion and increase of the inguinal lymph nodes, necrotic foci, nodules, with surrounded capsule were found during the post mortem examination of animals. Liver and spleen were enlarged in 1,5-2 times, had flabby consistency with the presence of tuberculous lesions in size from poppy seed to a millet seed. Light red color acid-fast bacilli were identified in smears by the bacterioscopy method. In smears mycobacterial bacilli had thin, straight and curve form of cells with rounded edges. Cultural studies of each affected organ were performed separately after preliminary treatment of pathological material.

The results of our studies suggest that the time of pathogen isolation from pathological material and growth intensity on the nutrient medium depends on terms of conducted study. It is found that the best rates of primary growth of colonies were observed from pathological material in fresh condition. In this case primary mycobacterial colonies grew up from liver samples on 18th day, from spleen samples on 19th day and from lymph nodes on 21th day of cultivation. Colonies were small, dry and rough with white and light gray color (R-form). They do not form a pigment on egg medium for the cultivation of mycobacteria. The total number of colonies was more than 3 thousands CFU with the growth intensity «#» from liver samples, 2356 colonies with growth intensity «+++» from spleen samples, 1027 and 1005 mycobacterial colonies with the growth «+++» from lymph nodes and lung samples. Storage of pathological material samples in frozen condition during 15-30 days affects the viability of mycobacteria and reduces the speed, growth intensity of cultures on nutrient medium.

The appearance of colony growth observed on 45-48 days (liver), on 43-52 days (spleen), on 46-50 days (lymph nodes) and on 52-60 days (lungs) while inoculation suspensions of pathological material from guinea pigs that was stored in the freezer during 30 days. The number of mycobacterium colonies were from 78 in lung samples to 348 in liver samples. Growth rate index was at the level of "+" and "++".

The results of biological material culture studies from laboratory animals indicates necessity of studying the effect between mycobacteria inoculation, freezing process and storing biological material from reacting on tuberculin (PPD) cattle. Research in this direction is relevant and has practical interest of dedicated experts of veterinary medicine.

Key words: tuberculosis, *M. bovis*, cultural study.