

П. Ю. КРИВОШИЯ, кандидат ветеринарних наук, старший науковий співробітник

Л. Б. КОТ, науковий співробітник

М. В. РОМАНКО, науковий співробітник

Дослідна станція епізоотології Інституту ветеринарної медицини НААН (м. Рівне)

О. Г. РУДЬ, кандидат ветеринарних наук, доцент

Рівненський державний гуманітарний університет

АУТОФЛОРА ПОВЕРХНІ ШКІРИ КОНЕЙ ЗА ПРИХОВАНОГО ПЕРЕБІГУ ІНФЕКЦІЙНОЇ АНЕМІЇ

Проведено вивчення мікрофлори шкіри у здорових та хворих на інфекційну анемію коней. Встановлено підвищення кількості чутливих до маніту бактерій в динаміці розвитку інфекційного процесу.

Ключові слова: коні, мікрофлора, шкіра, маніт, інфекційна анемія.

Макроорганізм і його мікрофлора взаємозалежні та взаємоврегульовані біохімічні системи, що складають одне ціле. Стан мікрофлори є дуже чутливим індикатором імунного статусу тварин і характеризує їх загальну антиінфекційну стійкість та рівень неспецифічного імунітету.

Велика кількість робіт свідчить про те, що якісний і кількісний склад аутофлори чітко показує стан імунобіологічної реактивності організму [1, 2, 3, 4].

Мікроорганізми шкіри розподілені в основному двома різновидностями: транзитними і резидентними. Транзитні мікроорганізми відносно рідко зустрічаються на чистій шкірі. Резидентна флора – це відносно стабільна популяція як по чисельності, так і по складу [4].

У встановленні мікробіоценозу шкіри грає роль багато факторів: вік, стать, стан імунної системи, локалізація, стан обміну речовин та інші. Не можна не враховувати і зовнішні фактори, до яких відносяться сезонність, температура, вологість, рівень двоокису вуглецю оточуючої атмосфери, РН, вплив антибіотиків, гормонів, дезінфікуючих речовин, перенесені захворювання [5].

Встановлена статична залежність пов'язана зі статтю. По кількісному складу чоловіки значно більш колонізовані мікроорганізмами ніж жінки [6].

При наявності відповідних патогенетичних факторів, перед усім при імунологічній недостатності шкіряні інфекції можуть бути викликані умовно-патогенними мікроорганізмами та ступінь мікробної засміченості шкіри може бути тісно пов'язана, як із загальним станом організму, так із його імунобіологічною реактивністю.

Одним з механізмів тривалої персистенції збудника в організмі хазяїна є продукція бактеріями субстанцій, які пригнічують чинники імунітету [8]. Виявлено спроможність бактерій специфічно інактивувати лізоцим, комплемент, імуноглобуліни, пригнічувати фагоцитоз. Ці властивості зустрічаються у великій кількості мікроорганізмів [8]. У ряді експериментів було показано, що більше 99% бактерій, які були виділені від госпітальних хворих при нанесенні на пальці добровольцям, гинули протягом 2 хвилин [9]. Серед захисних механізмів організму провідне місце посідають нормальна мікрофлора, місцеві бар'єри, антитіла, комплемент, фагоцитарна активність клітин і клітинно-обумовлений імунітет. З чинників патогенності бактерій на першу позицію виступає слиз, капсули, компоненти клітинної стінки, ендотоксини та продукти життєдіяльності. Встановлено пряму залежність між станом аутофлори шкіри і гнійною інфекцією стафілококової етіології, також було встановлено кореляцію між змінами аутофлори шкіри зі змінами показників гуморального імунітету [10]. Виявлено, що антибіотики широкого спектру дії, більш впливають на аутофлору шкіри, ніж сам пеніцилін [11].

У хворих злюкисніми пухлинами шлунка кількість сапрофітів у глибоких шарах шкіри збільшується [12-14]. Кількісний і якісний склад аутофлори корелював зі ступеню розповсюдження пухлинного процесу [2]. Продукти життєдіяльності стафілокока, основного компонента мікробної асоціації глибоких шарів шкіри фізіологічно впливають на Т-лімфоцити, викликаючи їх ділення і сенсibiliзацію. Також у покривних тканинах є багато спільного з кишковою стінкою і потрібно серйозно віднести до того, що шкіра – це не просто механічний захисний бар'єр, а є лімфоепітеліальний орган специфічного імунітету. В зв'язку з цим не можна не звернути увагу на ті обставини, що клініка шкіряних хвороб – це істинний музей імунопатології. У доступній нам літературі ми не зустріли повідомлень про стан аутофлори шкіри у коней та інших тварин.

Метою наших досліджень було вивчення мікрофлори шкіри у коней здорових та з прихованим перебігом інфекційної анемії в динаміці інфекційного процесу.

Матеріали та методи. Дослідження проведені в одному з господарств Західного регіону України. Визначення специфічних антитіл до вірусу інфекційної анемії ІНАН в сироватці крові коней проводили в РДП (реакції дифузної преципітації) згідно з методичними вказівками від 25.03.1983 р. №115-62. Для оцінки стану специфічної реактивності організму в піддослідних тварин визначали титр антитіл до вірусу ІНАН шляхом серійних розведень сироватки крові. На підставі отриманих даних було сформовано дослідну та контрольну групу.

Під спостереженням було 53 коней, із яких 14 (26,42 %) були хворі на ІНАН з титрами в РДП від нативних до 1:4. Вік коней був у межах 4-15 років (середній вік 7,5 років).

Мікробіологічні дослідження проводили згідно методичних рекомендацій: «Визначення аутофлори шкіри» (за методикою Н. Н. Клемпарської та Г. А. Шальнової) з деякими удосконаленнями, розробленими в нашій лабораторії [15]. Так у коней у верхній третині шиї за день до визначення аутофлори вистригали та вибривали ділянку шкіри розміром 3,0X10,0 см. На другий день це місце протирали 70° етиловим спиртом. Після чого брали предметне скельце розміром 2,5x7,5 см (18,75 см²) з поживним середовищем Коростильова та притискали на 1-2 секунди до поверхні шкіри. Після чого скельце клали в чашку Петрі до ще одного скельця з середовищем для контролю повітряної мікрофлори. Чашки Петрі з дослідними та контрольними пробами ставили у стерилізатор, на дно якого клали стерильну вологу вату та інкубували в термостаті при 37°С протягом 18-24 годин. Потім підраховували окремо загальну кількість жовтих (манітопозитивних), що представляють гемолітичні штами та зелених, білих колоній на предметному скельці з агаром. Маючи певні кількості жовтих і зелених (білих) колоній, обраховували індекс аутофлори шкіри за формулою:

$$IA = \frac{B}{F}, \text{ де}$$

IA – індекс аутофлори шкіри коня в умовних одиницях;

B – відсоток колоній жовтого кольору від загальної кількості колоній на предметному скельці;

B – відсоток колоній зеленого та білого кольору від загальної кількості колоній на скельці.

Якщо на агарі лише одні жовті колонії, тобто 100% заселеність, індекс аутофлори становить 20 умовних одиниць, якщо ж встановлено повну заселеність зелених та білих колоній – 0 умовних одиниць.

Результати та їх обговорення. Для більш повного аналізу заселеності шкіри коней мікроорганізмами проведено дослідження їх кількісного вмісту в різновікових групах коней. Підрахунок загальної кількості колоній, утворених протягом доби на середовищі Коростильова, проводили на предметних скельцях розміром 2,5×7,5 см (18,75 см²). Дані досліджень наведено в таблиці 1 та схематично показано на рис. 1.

Таблиця 1

Кількість колоній мікроорганізмів шкіри коней в залежності від їх віку

Показники	Вікові групи коней		
	2-3 (n=3)	4-8 (n=8)	9-15 (n=14)
Кількість колоній	10,0±2,17	7,31±3,0	7,5±2,91

Примітка: n – кількість досліджених тварин.

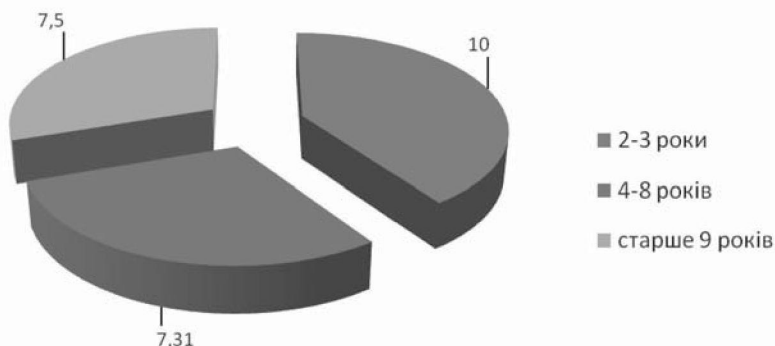


Рис. 1. Кількість колоній мікроорганізмів шкіри коней в залежності від їх віку

За результатами досліджень було встановлено, що кількість виявлених на поверхні шкіри коней мікроорганізмів суттєво не відрізняється у вікових групах та знаходиться в межах (7,31±3,0-10,0±2,17). Лише у віковій групі від двох до трьох років спостерігається незначне його підвищення, що на нашу думку, пов'язано з особливостями біохімічного стану організму в даній віковій групі, що сприяє більш активному розвитку мікроорганізмів.

При вивченні якісного складу мікрофлори шкіри коней в дослідних групах коней було встановлено, що кількість виявлених на поверхні шкіри коней гемолітичних штабів мікроорганізмів має тенденцію до збільшення їх кількості одночасно з підвищенням рівня антитіл до вірусу інфекційної анемії (ІНАН) в організмі хворих тварин. Результати досліджень наведені в табл. 2 та схематично на рис. 2.

Таблиця 2

Показники індексу аутофлори шкіри коней в залежності від титру специфічних антитіл до вірусу ІНАН

Показники	Титр специфічних антитіл			
	здорові коні (n=17)	нативний (n=5)	1:2 (n=3)	1:4 (n=6)
Індекс ауто флори шкіри, ум.од.	0,56±0,08	5,2±2,53	7,0±3,25	10,0±1,0*

Примітка: n – кількість досліджених тварин.

*- P<0,05; порівняно з дослідною групою коней з нативним титром антитіл

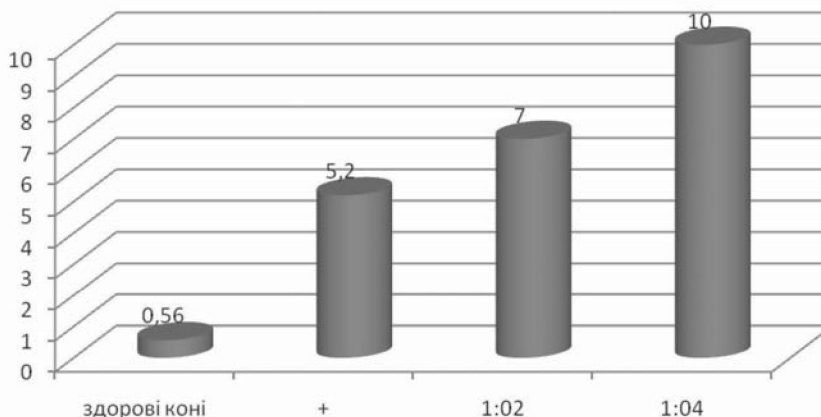


Рис. 2. Показники індексу аутофлори шкіри коней у дослідних групах

Як видно з таблиці найбільший індекс аутофлори був встановлений в коней з найвищим титром антитіл (1:4). В коней, в яких не було виявлено антитіл до вірусу, він - найнижчий та був у межах (0-0,56 ум. од.), а в хворих (5,2-10,0 ум. од.). Це вказує на те, що у хворих коней поверхню шкіри з розвитком інфекційного процесу поступово заміщують манітропозитивні бактерії (гемолітичні штаби), витісняючи при цьому манітрозистентні, які є слабо патогенними, та в своєму складі представляють в основному резидентну мікрофлору, що є

стабільною популяцією, як по чисельності, так і по складу. Яким чином проходить така зміна в популяційному складі мікроорганізмів, можливо лише припустити, що це пов'язано зі зміною біохімічного середовища організму під впливом вірусної репродукції та його дією на організм хазяїна в цілому, а на фоні прихованого перебігу ІНАН вона досить суттєво проявляється. Очевидно, що манитрозкладаючі бактерії мають імуносупресивні властивості, що посилюють вихідний імунодефіцитний стан хворих на інфекційну анемію коней.

Отримані результати є одним із критеріїв оцінки в цілому стану імунітету у коней та підставою для включення в курс лікування тварин з високим рівнем індексу аутофлори шкіри препаратів, що мають імунокорегуючу дію.

Висновки

1. Кількість колоній бактерій на поверхні шкіри суттєво не відрізнялася у різних вікових групах коней та знаходиться в межах $(7,31 \pm 3,0 - 0,0 \pm 2,17)$.

2. З розвитком інфекційного процесу при ІНАН на поверхні шкіри коней поступово проходить збільшення кількості гемолітичних штамів.

Список використаної літератури:

1. Ивкина О. В. Кишечная инфекция / О. В. Ивкина. – Киев, 1972. – Вып. 5. – С. 189.
2. Клемпарская Н. Н., Шальнова Г. А. Аутофлора как индикатор радиационного поражения организма. – М.: Медицина, 1966. – 84 с.
3. Кодрашов Г. Ф. Аутофлора здорового и больного организма. – Таллин, 1972. – 18 с.
4. Аутофлора здорового и больного организма. / Н. Б. Мордвинова, Г. В. Баранова, С. П. Винтовкина. – Таллин, 1972. – 18 с.
5. Козлов О. Ю. Изменение аутофлоры кожи подземных горных рабочих / О. Ю. Козлов, Н. Н. Васкевич, Б. В. Аретинский // Гигиена труда. – 1985. – № 3. – С. 53-55.
6. Willburg J. Zalemose skladu normalnej flory bacterginea skory ludrkij od wieku I plect badanych osob / J. Willburg, A. Kasprovicz, P. V. Heczro // Prz. dermatol. – 1984. – Т. 71. – № 6. – С. 551-557
7. Белоусова Т. А. Современные представления о структуре и функции кожного барьера и терапевтические возможности коррекции его нарушений / Т. А. Белоусова, М. В. Горячкина // Рус. Мед. Журнал. – 2004. – № 12. – С. 1082-1084.
8. Аллергология и иммунология: сб. науч. работ / А. А. Баранов. – Москва: Союз педиатров России, 2010. – 263 с.
9. Gontijo Filho P. P. Survival of gram-negative and gram-positive bacteria artificially applied on the hands / P. P. Gontijo Filho, M. Stumpf C. L. Cardoso // J. Clin. Microbiol. – 1985. – vol. 21. – № 4 – P. 652-653.
10. Аникина Т. П. Значение показателей аутофлоры кожи в развитии иммунологических реакций при стафилококкозах / Т. П. Аникина, М. П. Та-насейчук, Л. П. Стехина // Клиническая медицина, 1976. – Т. 54. – № 22. – С. 113-118.
11. Климинок С. И. Микроэкология кожи и её изменения под влиянием антибиотиков / Т. П. Аникина, М. П. Та-насейчук, Л. П. Стехина // Антибиотики и химиотерапия. – 1991 – Т. 36. – № 8. – С. 50-54.
12. Константинович Т. С. Актуальные проблемы онкологии и медицинской радиологии. – Минск, 1971. – 90 с.
13. Константинович Т. С. Об аутофлоре кожи у больных с предопухолевыми заболеваниями желудка / Т. С. Константинович, Н. П. Хилькевич // Актуальные проблемы онкологии и медицинской радиологии. – Минск, 1975. – Вып. 5. – С. 119-123.
14. Олейник И. П. Аутофлора кожи у различных групп больных / И. П. Олейник, М. К. Копылова, Р. Р. Гуревич // Материалы научной конференции. – Таллин, 1972. – С. 95-96.
15. Бусол В. О. Оцінка імунного статусу коней в нормі і за прихованого перебігу інфекційної анемії: методичні рекомендації / В. О. Бусол, М. С. Мандигра, О. Є. Галатюк і ін. // Інститут епізоотології. – Рівне, – 1996. – 26 с.

АУТОФЛОРА ПОВЕРХНОСТИ КОЖИ ЛОШАДЕЙ ПРИ СКРЫТОМ ТЕЧЕНИИ ИНФЕКЦИОННОЙ АНЕМИИ / П. Ю. Кривошея, Л. Б. Кот, М. В. Романко, О. Г. Рудь,

В результате исследований установлено, что у больных инфекционной анемией лошадей, поверхность кожи с развитием инфекционного процесса постепенно замещается маннитположительными бактериями (гемолитические штаммы), вытесняя при этом маннитрезистентные, которые в большинстве своём являются слабопатогенными и в своём составе представляют в основном резидентную микрофлору, которая является постоянной популяцией, как по численности, так по составу. Такие изменения в популяционном составе бактерий авторы связывают с изменениями в биохимическом и иммунологическом состоянии организма лошадей при персистенции вируса ИНАН в организме.

Ключевые слова: лошади, микрофлора, кожа, манит, инфекционная анемия.

AUTOFLORA OF SKIN SURFACE OF HORSES IN CASE OF INFECTIOUS ANEMIA / P. Y. Krivoshiya, L. B. Kot, M. V. Romanko, O. G. Rud.

Macroorganism and its microflora – interrelated biological systems, which are integrated. Quantitative and qualitative composition of autoflora depends on the age, type of feeding, season and other factors that affect the body. Normal microflora is a very sensitive indicator of the immune status of animals and characterizes their common anti-infective resistance.

According to the research, it was found that the number of detected on the surface of the skin of horses microorganisms is not significantly different in the age groups and within the $(7,31 \pm 3,0 - 10,0 \pm 2,17)$. Only in the age group between two and three years there has been a slight increase of its.

The number of detected on the skin surface of horses hemolytic strains of microorganisms tends to be increased concurrently with increased levels of antibodies to infectious anemia virus (INAN) in the body of sick animals.

In the result of the examination there was established that in the horses with latent course of infectious anemia on the surface of the skin with the development of the infectious process mannitpositive bacteria (hemolytic strains) gradually replaced, at this displacing the mannitresistant ones, which mostly are low pathogenic and represent in their composition mainly resident microflora, which is a constant population both by its number and composition. The highest index of autoflora was set in horses with a high titer of antibodies (1:4). Horses who have not had antibodies to the virus, it was the lowest in the range $(0-0,56$ conventional units), in patients $(5,2-10,0$ conventional units). The authors associate such changes in

the bacterias population composition with the changes in biochemical and immunological condition of the organism of the horses at virus INAN presence in the organism.

Also, according to the authors bacteria that decompose manit have immunosuppressive properties that enhance the original immunodeficiency state of patients with equine infectious anemia.

The obtained results are one of the criteria for assessing the overall state of immunity of horses and the basis for inclusion in the treatment of animals with high index of autoflora of the skin preparations that have immunocorrective action

Key words: horses, microflora, skin, manit, infectious anemia.

Рецензент кандидат ветеринарних наук – **С. М. Катюха.**

Рукопис надійшов 08.09.2014 року.