

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ВЕТЕРИНАРНОЇ
МЕДИЦИНИ ТА БІОТЕХНОЛОГІЙ ІМЕНІ С.З. ГЖИЦЬКОГО**

Кваліфікаційна освітньо-наукова праця
на правах рукопису

МАРТИНІВ ЮЛІЯ ВАСИЛІВНА


УДК 619:615,1:616-084:636,8

ДИСЕРТАЦІЯ

**МІКРОСПОРІЯ КОТІВ (ОБГРУНТУВАННЯ ПРОТИГРИБКОВОГО
ЗАСОБУ «МІКРОМАР» ТА ІМУНОСТИМУЛЯТОРА «БІОГЛЮК»
В СИСТЕМІ ЛІКУВАЛЬНИХ І ПРОФІЛАКТИЧНИХ ЗАХОДІВ)**

галузь знань: 21 – ветеринарна медицина
спеціальність: 211 – ветеринарна медицина

Подається на здобуття наукового ступеня
доктора філософії

Дисертація містить результати власних досліджень.
Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання
на відповідне джерело  Ю. В. Мартинів

Науковий керівник – **Кісера Ярослав Васильович**,
доктор ветеринарних наук, професор

ЛЬВІВ – 2022

АНОТАЦІЯ

Мартинів Ю. В. Мікроспорія котів (обґрунтування протигрибкового засобу «Мікромар» та імуностимулятора «Біоглюк» в системі лікувальних і профілактичних заходів). – Кваліфікаційна освітньо-наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття освітньо-наукового ступеня доктора філософії галузі знань 21 «Ветеринарна медицина» за спеціальністю 211 «Ветеринарна медицина». – Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького, 2022.

Дисертаційна робота присвячена розробці ефективних засобів для комплексного лікування мікроспорії у котів, обґрунтування протигрибкового засобу «Мікромар» та імуномодулятора «Біоглюк» в системі лікувальних і профілактичних заходів. На етапі мікробіологічних і мікологічних досліджень від хворих мікроспорією котів ідентифіковано збудник *Microsporum canis* та отримано його чисту культуру на різних живильних середовищах, що дало можливість провести дослідження підбору концентрації діючих речовин для протигрибкового засобу «Мікромар». Встановлено, що гриб *Microsporum canis* чутливий до клотримазолу та повідон йоду у різних концентраціях при дослідженні диско-дифузійним методом чистої культури. Підтверджено утворенням радіусу чутливості при внесенні різних концентрацій даних речовин при культивуванні збудника на агарі Мюллера-Хінтона. Чиста культура *Microsporum canis* виявляє чутливість до клотримазолу в концентрації 0,25% та повідон-йоду 5%, які взяті за основу для виготовлення протигрибкового засобу «Мікромар». Розроблений протигрибковий засіб «Мікромар» має в своєму складі повідон-йод (5%) та клотримазол (0,5%), змішані із пропіленгліколем (до 100%). Технічний результат обумовлений тим, що застосовується новий препарат

місцевої дії у формі розчину для лікування мікроспорії інфекційної етіології на основі повідон-йоду, клотримазолу та пропіленгліколю. Основною діючою речовиною запропонованого розчину – є повідон-йод, який володіє вираженою протимікробною, протигрибковою та противірусною дією. Клотримазол є протигрибковим компонентом групи азолів, який додатково діє бактерицидно і володіє протизапальними властивостями. Пропіленгліколь використаний як розчинник, який не викликає алергічних реакцій на шкірі, проявляє ранозагоювальні властивості.

Розроблено рецептуру імуностимулюючого засобу «Біоглюк», яка включає імуностимулятор – бета-глюкан і біотин, який має властивість покращувати якість шерсті та стимулювати відновлюючі процеси в дермі, що є актуально при мікроспорії у котів, оскільки шкіра є головною мішенню збудника *Microsporium canis*. Комбінація вищезгаданих компонентів в комплексній терапії мікроспорії у котів дає можливість сприяти регенерації ушкоджених частин дерми та прискорювати період одужання. Концентрація діючих речовин в імуностимуляторі «Біоглюк» підібрана у співвідношеннях: бета-глюкану – 3%; біотину – 0,0005%; 5 % розчину глюкози – до 100%.

З'ясована комплексна реакція організму за перебігу мікроспорії шляхом проведення гематологічних, імунологічних досліджень крові та гістологічного вивчення стану шкіри здорових і експериментально інфікованих мурчаків. Зміни морфологічного складу крові у інфікованих мурчаків на 21-й і 42-й день після зараження супроводжуються ознаками гострого запального процесу. Кількість лейкоцитів вірогідно підвищується до $11,13 \pm 0,72$ Г/л з $5,77 \pm 0,37$ Г/л у здорових тварин. Вміст лімфоцитів підвищується з $46,00 \pm 0,89$ до $65,20 \pm 1,48$ % на 42-й день після зараження ($P < 0,001$). Встановлено вірогідне підвищення вмісту паличкоядерних нейтрофілів з $6,33 \pm 0,71$ до $15,76 \pm 1,29$, а сегментоядерних нейтрофілів знижується з $38,83 \pm 1,30$ до $12,17 \pm 1,47$ % на 42-й день після зараження ($P < 0,001$). Відмічено вірогідне підвищення ШОЕ з $1,67 \pm 0,21$ мм/год до

5,67±0,67 мм/год на 42-й день після зараження. Імунна відповідь характеризується тенденційним підвищенням кількості під Т-лімфоцитів з 53,00±1,53 до 59,83±1,50 % (P<0,01), Т-супресорів з 20,83±0,91 до 23,00±1,51 %, Т-кілерів з 17,50±0,85 до 22,67±1,50 %, зниженням Т-хелперів з 40,17±1,17 до 33,33±0,71 % (P<0,001) в порівнянні з здоровими тваринами. Гістологічні дослідження засвідчили, що у інфікованих мурчаків на 21-й день після зараження у роговому шарі шкіри та волосяних фолікулах наявні спори і гіфи гриба *Microsporum canis*, відзначаються накопичення клітинних волосяних фолікулів, набряк дерми та розшарування колагенових волокон та застійна гіперемія. На 42-й день в товщі дерми навколо волосяних фолікулів відмічено збільшення об'єму клітинного інфільтрату та потовщення дерми внаслідок набряку. В епідермісі зростає лущення рогових клітин, pojawiaються ознаки гіперкератозу і акантозу та гіперплазія клітин базального шару.

При з'ясуванні ефективності лікування мікроспорії препаратами «Мікромар» і «Біоглюк» на заражених мікроспорією мурчаках на 7, 14 та 21 добу після початку їх застосування встановлено, зміни в клітинному складі крові, які характеризуються нормалізацією кількості лейкоцитів та відсоткового співвідношення паличкоядерних та сегментоядерних нейтрофілів. Відмічено зниження швидкості осідання еритроцитів, що свідчить про зменшення ступеня запальної реакції організму внаслідок проведеної терапії. Результати гістологічних досліджень засвідчили, що на 7 день після початку лікування в шкірі відмічалось зменшення ексудації та послаблення запальної реакції. В динаміці на 14 та 21 добу відмічено зменшення кількості клітин медіаторів запалення, ознаки активної регенерації структур дерми, та відновлення нормальних фізіологічних процесів трофіки волосу в ділянці епітелію волосяних фолікулів. Нормалізація живлення волосяного стержня призводить до прискорення відростання волосу та закриття дефекту алопецій, що виникають на шкірі як наслідок перебігу мікроспорії.

Проведена порівняльна характеристика різних схем лікування мікроспорії у мурчаків з використанням системних та місцевих антимікотиків та протигрибкової вакцини в порівнянні з протигрибковим засобом місцевої дії «Мікромар» та імуностимулятором «Біоглюк». Встановлено, що при лікуванні за схемою, яка включала системний антимікотик ітраконазол та місцеві обробки 1% розчином клотримазолу відбувається послаблення запальної реакції, але відмічені ознаки алергізації, які проявляються у вигляді підвищення кількості еозинофілів та зниженні тромбоцитів в крові. Це підтверджено і гістологічними змінами, які характеризують алергічний процес у шкірі, а саме інфільтрація дерми лімфогістіоцитарними компонентами з поодинокими еозинофілами, що вказує на перебіг запальної реакції. Поява еозинофілів в інфільтраті є ознакою прояву алергії, алергізації шкірного покриву та безпосереднього впливу алергена на організм. У тварин, що отримували терапію у вигляді місцевих обробок 1% розчином клотримазолу та вакцинації протигрибковою вакциною «Вакдерм» виявлені ознаки активної імунної відповіді організму починаючи з 7 доби від початку лікування. Проте гістологічна картина шкіри хворих тварин свідчить про присутність тривалої запальної реакції у верхніх шарах дерми. При лікуванні препаратами «Мікромар» та «Біоглюк» виявлені зміни в крові, які характеризуються вірогідним зниженням кількості лейкоцитів, паличкоядерних нейтрофілів та ШОЕ, а також збільшенням Т-хелперів. На 7 добу відмічено збереження запальної реакції в шкірі, а на 14 добу відновлення структур дерми. Встановлено активну імунну відповідь на лікування, чітку диференціацію клітин епідермісу та стадію розрішення запального процесу в дермі, відсутність побічних ефектів.

Дослідження крові хворих мікроспорією котів засвідчили ознаки анемії, лейкопенії, лімфоцитопенії. Зокрема, спостерігається зниження еритроцитів, гемоглобіну, що вказує на зміни насиченості еритроцитів гемоглобіном. Кількість лейкоцитів тенденційно знижується з $10,47 \pm 0,33$ Г/л до $3,93 \pm 0,42$ Г/л ($P < 0,001$), вміст лімфоцитів з $33,44 \pm 1,58$ % до $20,55 \pm 1,77$ %

($P < 0,01$). Встановлено підвищення відсотка паличкоядерних нейтрофілів з $2,89 \pm 0,42$ % до $6,89 \pm 0,73$ % ($P < 0,001$), еозинофілів з $2,78 \pm 0,46$ % до $4,56 \pm 0,75$ % ($P < 0,01$). Виявлені морфологічні зміни нейтрофілів — вакуолізація та токсична зернистість, відмічена патологічна форма еритроцитів у вигляді еритроцитів-окантоцитів з тільцями включеннями Жолі, що вказує на зниження захисних функцій організму та ознаки анемії у хворих котів.

Проведені дослідження під час апробації протигрибкового засобу «Мікромар» та імуностимулятора «Біоглюк» при лікуванні котів уражених мікроспорією показали, що на 21-й день після початку застосування препаратів підвищується кількість лейкоцитів з $3,82 \pm 0,52$, до $6,92 \pm 0,34$ Г/л ($P < 0,001$); знижується кількість паличкоядерних нейтрофілів до $6,00 \pm 0,82$ з $13,57 \pm 1,81$ % ($P < 0,01$); ШОЕ до $4,57 \pm 0,72$, з $8,86 \pm 1,39$ ($P < 0,01$). Збільшення кількості Т-хелперів з $33,43 \pm 0,78$ до $41,57 \pm 0,48$ % ($P < 0,05$) свідчить про підвищення реакції організму на перебіг інфекційного процесу, що вказує на активізацію імунної відповіді організму.

Встановлено, що затрати на лікування при застосуванні протигрибкових препаратів (інтраконазол та клотримазол) складають 48 гривень; при лікуванні 1% розчином клотримазолу та проведенням вакцинації вакциною «Вакдерм» — 42 гривні; при використанні протигрибкового препарату «Мікромар» та імуностимулятора «Біоглюк» — 13 гривень. Економічна ефективність препарату «Мікромар» та імуностимулятора «Біоглюк» є вищою по відношенню до інтраконазолу і клотримазолу у 3,7, а до клотримазолу з проведенням вакцинації вакциною «Вакдерм» у 3,2 рази.

Наукова новизна одержаних результатів. Розроблено новий протигрибковий препарат «Мікромар», діючими речовинами якого є клотримазол та повідон-йод і імуностимулятор «Біоглюк», який включає комбінацію бета-глюкану і біотину. Уперше за результатами досліджень по виділенню та культивуванню на щільних поживних середовищах грибка *Microsporium canis* та визначення мінімальної інгібуючої концентрації

клотримазолу та повідон-йоду встановлено, що культура *Microsporium canis* виявляє чутливість до клотримазолу в концентрації 0,25% та повідон-йоду 5%, які взяті за основу для виготовлення протигрибкового засобу «Мікромар». Встановлено, що підібрані складники імуностимулюючого засобу «Біоглюк» бета-глюкан та біотин в комбінації забезпечують активну імуностимулюючу дію та сприяють відновленню ділянок дерми уражених грибом *Microsporium canis*. Уперше запропоновано схему лікування мікроспорії розробленими препаратами «Мікромар» та «Біоглюк», яка забезпечує досягнення позитивного результату. Наукова новизна підтверджена двома патентами – розчин «Мікромар» для лікування дерматофітних інфекцій і ветеринарний імуностимулюючий препарат «Біоглюк».

Практичне значення одержаних результатів. На основі проведених експериментальних досліджень встановлено, що при комплексному лікуванні мікроспорії розробленими препаратами відбувається прискорення періоду одужання та попередження розповсюдження збудника в навколишньому середовищі. Лікування препаратами «Мікромар» та «Біоглюк» не супроводжується побічними реакціями та призводить до відновлення трофіки в усіх шарах шкіри. Відмічена регенерація ушкоджених структур на шкіри та відростання волосяного покриву. За результатами досліджень розроблено нормативну документацію на препарати «Мікромар» і «Біоглюк» (ТУ, методичні рекомендації).

Ключові слова: мікроспорія, коти, мурчаки, кров, шкіра, клотримазол, повідон-йод, бета-глюкан, біотин, «Мікромар», «Біоглюк».

ANNOTATION

Martyniv Yu. V. Microsporia of cats (*substantiation of antifungal agent "Micromar" and immunostimulating drug "Biogluk" in the system of therapeutic and preventive measures*). - Qualifying educational and scientific work on the rights of the manuscript.

Dissertation for the degree of Doctor of Philosophy in the field of knowledge 21 "Veterinary Medicine" in specialty 211 "Veterinary Medicine". - Stepan Gzhytsky Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnology, 2022.

The dissertation work is devoted to the development of effective means for the complex treatment of microsporia in cats, substantiation of the antifungal agent "Micromar" and the immunomodulator "Biogluk" in the system of therapeutic and preventive measures. At the stage of microbiological and mycological studies of cats with microsporia, the pathogen *Microsporum canis* was identified and its pure culture was obtained on various nutrient media, which made it possible to conduct a study of the concentration of active substances for antifungal agent "Micromar". It was found that the fungus *Microsporum canis* is sensitive to clotrimazole and povidone iodine in different concentrations in the study by disc-diffusion method of pure culture. Confirmed by the formation of the sensitivity radius when applying different concentrations of these substances in the cultivation of the pathogen on Mueller-Hinton agar. Pure culture of *Microsporum canis* is sensitive to clotrimazole at a concentration of 0.25% and povidone-iodine 5%, which are the basis for the manufacture of antifungal agent "Micromar". The developed antifungal agent "Micromar" contains povidone-iodine (5%) and clotrimazole (0.5%) mixed with propylene glycol (up to 100%). The technical result is due to the fact that a new drug of local action is used in the form of a solution for the treatment of microsporia of infectious etiology based on povidone-iodine, clotrimazole and propylene glycol. The main active ingredient of the

proposed solution is povidone-iodine, which has a pronounced antimicrobial, antifungal and antiviral action. Clotrimazole is an antifungal component of theazole group, which additionally acts bactericidal and has anti-inflammatory properties. Propylene glycol is used as a solvent that does not cause allergic reactions on the skin, has wound-healing properties.

The formulation of the immunostimulating agent "Biogluk" has been developed, which includes an immunostimulant - beta-glucan and biotin, which has the ability to improve hair quality and stimulate regenerative processes in the dermis, which is relevant in microsporia in cats, as skin is the main target of *Microsporum canis*. The combination of the above components in the complex therapy of microsporia in cats makes it possible to promote the regeneration of damaged parts of the dermis and accelerate the recovery period. The concentration of active substances in the immunostimulant "Biogluk" is selected in the ratios: beta-glucan – 3%; biotin - 0.0005 %; 5% glucose solution - up to 100%.

The complex reaction of the organism during the course of microsporia by hematological, immunological examinations of blood and histological reaserch of skin of healthy and experimentally infected guinea pigs has been clarified. Changes in the morphological composition of blood in infected guinea pigs on the 21st and 42nd day after infection are accompanied by signs of acute inflammation. The number of leukocytes probably increases to 11.13 ± 0.72 G / l from 5.77 ± 0.37 G / l in healthy animals. The lymphocyte content increased from 46.00 ± 0.89 to $65.20 \pm 1.48\%$ on the 42nd day after infection ($P < 0.001$). A probable increase in the content of rod-shaped neutrophils from 6.33 ± 0.71 to 15.76 ± 1.29 , and segmental neutrophils decreased from 38.83 ± 1.30 to $12.17 \pm 1.47\%$ on the 42nd day after infection ($P < 0.001$). There was a probable increase in ESR from 1.67 ± 0.21 mm / h to 5.67 ± 0.67 mm / h on the 42nd day after infection. The immune response is characterized by an increase in T-lymphocytes from 53.00 ± 1.53 to $59.83 \pm 1.50\%$ ($P < 0.01$), T-suppressors from 20.83 ± 0.91 to $23.00 \pm 1, 51\%$, T-killers from 17.50 ± 0.85 to $22.67 \pm 1.50\%$, reducing T-helpers from 40.17 ± 1.17 to $33.33 \pm 0.71\%$ ($P < 0.001$) compared to healthy animals. Histological studies

showed that infected guinea pigs on the 21st day after infection in the stratum corneum and hair follicles have spores and hyphae of the fungus *Microsporum canis*, accumulation of infiltrates around the hair follicles, edema of the dermis and collagen fibers, congestive hyperemia of blood vessels. On the 42nd day, there was an increase in the volume of accumulated infiltrate in the thickness of the skin around the hair follicles, thickening of the dermis due to edema and its defeat by histiocytic infiltrates. There are signs of hyperkeratosis and acanthosis. Dystrophic changes are manifested in the form of hyperplasia of cells of the basal layer. There is peeling of the horny cells of the epidermis.

When determining the effectiveness of treatment of microsporia drugs "Micromar" and "Biogluk" on microsporia-infected guinea pigs found that on the 7th, 14th and 21st day after the start of drugs, there were changes in blood cell composition, characterized by normalization of white blood cell count and percentage of rod nuclei. and segmental neutrophils. There was a decrease in the rate of erythrocyte sedimentation, which indicates a decrease in the degree of inflammatory response of the body due to therapy. The results of histological examinations showed that on the 7th day after the start of treatment in the skin there was a decrease in exudation and weakening of the inflammatory response. In the dynamics of the 14th and 21st days there were signs of active regeneration of the dermis, a decrease in the number of inflammatory mediator cells and the restoration of normal physiological processes of hair trophism in the epithelium of hair follicles. Normalization of the nutrition of the hair shaft leads to accelerated hair regrowth and closure of the defect of alopecia, which occur on the skin as a result of microsporia.

A comparative characterization of different treatment regimens of microsporia in guinea pigs with the use of systemic and local antifungals and antifungal vaccine in comparison with the antifungal agent of local action "Micromar" and immunostimulant "Biogluk". It was found that treatment with a scheme that included the systemic antifungal itraconazole and topical treatment with 1% solution of clotrimazole weakens the inflammatory response, but there are

signs of allergy, which manifests itself in the form of increased eosinophils and decreased platelets in the blood. This is confirmed by histological changes that characterize the allergic process in the skin, namely the infiltration of the dermis with lymphohistiocytic components with single eosinophils, which indicates the course of the inflammatory reaction. The appearance of eosinophils in the infiltrate is a sign of allergies, allergies of the skin and the direct impact of the allergen on the body. In animals treated with topical treatment with 1% clotrimazole solution and vaccination with the antifungal vaccine "Vakderm" showed signs of active immune response from 7 days from the start of treatment. However, the histological picture of the skin of sick animals indicates the presence of a prolonged inflammatory reaction in the upper layers of the epidermis. During treatment with Micromar and Biogluk, changes in the blood were detected, which are characterized by a probable decrease in the number of leukocytes, rod-shaped neutrophils and ESR, as well as an increase in T-helpers. On the 7th day there was a preservation of the inflammatory reaction in the skin, and on the 14th day the normalization of the structures of the dermis. An active immune response to treatment, a clear differentiation of the layers of the epidermis and the stage of resolution of the inflammatory process in the skin, no side effects.

Blood tests of cats with microsporia showed signs of anemia, leukopenia, lymphocytopenia. In particular, there is a decrease in erythrocytes, hemoglobin, which indicates changes in the saturation of erythrocytes with hemoglobin. The number of leukocytes decreases from 10.47 ± 0.33 G / l to 3.93 ± 0.42 G / l ($P < 0.001$), the content of lymphocytes from $33.44 \pm 1.58\%$ to $20.55 \pm 1.77\%$ ($P < 0.01$). An increase in rod-shaped neutrophils from $2.89 \pm 0.42\%$ to $6.89 \pm 0.73\%$ ($P < 0.001$), eosinophils from $2.78 \pm 0.46\%$ to $4.56 \pm 0.75\%$ ($P < 0.01$). Changes in the structure of neutrophils by type of vacuolation and toxic granularity were detected, a change in the shape of erythrocytes in the form of erythrocytes-ocantocytes with bodies of Joly inclusions was noted, indicating immunosuppressive status and signs of anemia in sick cats.

Studies during the testing of the antifungal agent "Micromar" and the immunostimulant "Biogluc" in the treatment of microsporia in cats showed that on the 21st day after the start of the drug the number of leukocytes increases from 3.82 ± 0.52 to 6.92 ± 0.34 G / l ($P < 0.001$); the number of rod-shaped neutrophils decreases to 6.00 ± 0.82 from $13.57 \pm 1.81\%$ ($P < 0.01$); ESR to 4.57 ± 0.72 , with 8.86 ± 1.39 ($P < 0.01$). The increase in T-helpers from 33.43 ± 0.78 to $41.57 \pm 0.48\%$ ($P < 0.05$) indicates an increase in the body's response to the infectious process, which indicates the activation of the body's immune response.

It was found that the cost of treatment with antifungal drugs (itraconazole and clotrimazole) is 48 hryvnias; in the treatment of 1% solution of clotrimazole and vaccination with the vaccine "Vakderm" - 42 hryvnias; when using the antifungal drug "Micromar" and immunostimulant "Biogluc" - 13 hryvnias. The cost-effectiveness of Micromar and the immunostimulant Biogluc is 3.7 times higher than that of itraconazole and clotrimazole, and 3.2 times higher than that of clotrimazole vaccinated with Vakderm.

Scientific novelty of the obtained results. A new antifungal drug "Micromar" has been developed, the active ingredients of which are clotrimazole and povidone-iodine and the immunostimulant "Biogluc", which includes a combination of beta-glucan and biotin. For the first time, studies on the isolation and cultivation of *Microsporum canis* on dense nutrient media and the determination of the minimum inhibitory concentration of clotrimazole and povidone-iodine showed that the culture of *Microsporum canis* is sensitive to clotrimazole at a concentration of 0.25% and povidone-iodine 5% as a basis for the manufacture of antifungal agent "Micromar". It was found that the selected components of the immunostimulating agent "Biogluc" beta-glucan and biotin in combination provide active immunostimulatory effect and help to restore areas of the dermis affected by the fungus *Microsporum canis*. For the first time, a scheme for the treatment of microsporia with developed drugs has been proposed, which ensures the achievement of a positive result. The scientific novelty is confirmed by

two patents - a solution of "Micromar" for the treatment of dermatophyte infections and veterinary immunostimulating drug "Biogluk".

The practical significance of the results obtained. On the basis of the conducted experimental researches it is established that at complex treatment of a microsporia by the developed drugs there is an acceleration of the recovery period and the prevention of distribution of the activator in environment. Treatment with Micromar and Biogluk is not accompanied by side effects and leads to the restoration of trophism in all layers of the skin. Regeneration of damaged areas on the skin and regrowth of hair was noted. According to the results of research, regulatory documentation has been developed for the drugs "Micromar" and "Biogluk" (TU, guidelines).

Key words: microsporia, cats, guinea pigs, blood, skin, clotrimazole, povidone-iodine, beta-glucan, biotin, "Micromar", "Biogluk".

СПИСОК ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Статті у фахових наукових виданнях України

1. **Мартинів Ю.В.** Зміни гематологічних показників крові у хворих на мікроспорію котів /**Ю.В. Мартинів**, Я.В. Кісера //ISSN 2518-7554 print ISSN 2518-1327 online Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій ім. С.З. Гжицького. – Львів, 2019. – Т. 21. – № 93. – С. 70-73.*(Здобувачка провела дослідження, аналіз та інтерпретацію отриманих даних, підготувала матеріали до друку).*

2. Кісера Я.В. Підбір концентрації клотримазолу та повідон-йоду як основних діючих речовин протигрибкового засобу «Мікромар» /Я.В. Кісера, **Ю.В. Мартинів** //Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій ім. С.З. Гжицького. – Львів, 2019. – Т. 21. – № 95. – С. 27-31.*(Здобувачка виконала експериментальну частину роботи, провела обробку та аналіз даних, підготувала статтю до друку).*

3. **Мартинів Ю.В.** Імуностимулююча дія бета-глюкану за медикаментозної імуносупресії /**Ю.В. Мартинів**, Я.В. Кісера //Біологія тварин. – 2020. – Т. 22. – № 1. – С. 15-19.*(Здобувачка провела дослідження, проаналізувала отримані результати, підготувала статтю до друку).*

4. Kisera Ya.V. Hematological, immunological and histological changes in guinea pigs in the treatment of microsporia with drugs “Micromar” and “Biogluk” /**Y.V. Martyniv**, Ya.V. Kisera //Ukrainian Journal of Veterinary and Agricultural Sciences. – 2021. – 4(1). – P. 29-32. *(Здобувачка провела дослідження, аналіз та інтерпретацію отриманих даних, підготувала матеріали до друку).*

5. Kisera Ya.V. Economic efficiency of different treatment schemes of cats microsporia. /Kisera Ya.V., **Martyniv Yu.V.** //Ukrainian Journal of Veterinary and Agricultural Sciences. – 2021. – 4(3). – P. 58-61. *(Здобувачка провела дослідження, аналіз та інтерпретацію отриманих даних, підготувала матеріали до друку).*

6. **Мартинів Ю.В.** Порівняльна характеристика різних методів лікування мікроспорії /**Ю.В. Мартинів, Я.В. Кісера** //Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій ім. С.З. Гжицького. – Львів, 2021. – Т. 23. – № 104. – С. 3-10.*(Здобувачка провела дослідження, аналіз та інтерпретацію отриманих даних, підготувала матеріали до друку).*

Публікації в міжнародній наукометричній базі даних Web of Science

7. Kiser a Ya.V. Dynamics of morphological, immunological and histological changes in microsporiain guinea pigs /Ya.V. Kiser a, **Y.V. Martyniv**, B.V. Gutyj //Regulatory Mechanisms in Biosystems. – 2021, Volume 12, № 2. – P. 206-211. *(Здобувачка провела експериментальні дослідження, проаналізувала отримані результати, підготувала статтю до друку).*

Статті у періодичних виданнях інших держав, які входять до складу

Європейського Союзу

8. Kiser a Ya. Pathomorphological changes in the skin of the guinea pigs in the course of microspores /Ya. Kiser a, **Yu. Martyniv**, I. Klishch //«EUREKA: Health Sciences». – 2020. – Volume 2 (26). – P. 76-84. *(Здобувачка виконала експериментальну частину роботи, провела обробку та аналіз даних, підготувала статтю до друку).*

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації

Тези наукових доповідей:

9. **Мартинів Ю.В.**, Кісера Я.В. Морфологічні показники крові мурчаків за дії бета-глюкану і дексафурту //Матеріали XVIII Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих вчених «Молоді вчені у розв'язанні актуальних проблем біології, тваринництва та ветеринарної медицини» 5-6 грудня 2019 р. Львів – 2019. – С. 133.

10. **Мартинів Ю.В.**, Кісера Я.В. Визначення протигрибкової активності клотримазолу та повідон-йоду до культури збудника *Microsporum canis* як основних діючих речовин протигрибкового засобу «Мікромар»

//Матеріали XXIV міжнародного медичного конгресу 13-15 квітня 2020 р.). – Тернопіль: Укрмедкнига. – 2020. – С. 132.

11. **Мартинів Ю.В.**, Кісера Я.В. Гістологічна картина шкіри мурчаків при мікроспорії //Матеріали науково-практичної конференції «Актуальні проблеми ветеринарної біотехнології та інфекційної патології тварин» Інституту ветеринарної медицини Національної академії аграрних наук України 9 липня 2020 р.– Київ. – 2020. – С. 19.

12. **Мартинів Ю.В.**, Кісера Я.В. Гематологічні показники крові за перебігу мікроспорії у котів. //Матеріали IV Всеукраїнської науково-практичної інтернет-конференції «Сучасні аспекти лікування і профілактики хвороб тварин» 15-16 жовтня 2020 р. – Полтава. – 2020 – С. 260.

13. **Мартинів Ю.В.**, Кісера Я.В. Гематологічні, імунологічні та гістологічні зміни за перебігу мікроспорії у мурчаків. //Матеріали II міжнародної науково-практичної конференції 21-22 квітня 2021 р.. – Дніпро – 2021. – С. 59.

14. **Yu. Martyniv, Ja. Kisera.** Characteristics of different schemes for the treatment of microsporia. //Матеріали I Україно-польського наукового форуму «Агробізнесперспектива» 29-30 вересня 2021 р. – Львів – 2021. – С. 76.

15. **Мартинів Ю.В.**, Кісера Я.В. Ефективність протигрибкового засобу «Мікромар» та імуноштифту «Біоглюк» при лікуванні мікроспорії котів //Матеріали II конференції "Сучасні методи діагностики, лікування та профілактика у ветеринарній медицині" 18-19 листопада 2021 р.. – Львів – 2021. – С. 105-106.

Патенти України на корисну модель:

16. **Мартинів Ю.В.**, Кісера Я.В. Розчин для лікування дерматофітних інфекцій «Мікромар»: пат. 144019 України, МПК (2006.01) А61К 9/08; А61Р 31/10 (2006.01). № u 2020 01885; заявл. 17.03.20, опубл. 25.08.20, бюл. № 16,5 с.*(Здобувачка провела дослідження, отримала нові дані та брала участь в оформленні документів на патент).*

17. **Мартинів Ю.В.**, Кісера Я.В. Ветеринарний імуностимулюючий препарат «Біоглюк»: пат. 146754 України, МПК (2006.01) А61К 31/716; А61Р 37/04 (2006.01). № u 2020 04664; заявл. 22.07.20, опубл. 17.03.21, бюл. № 11,5 с. *(Здобувачка провела дослідження, отримала нові дані та брала участь в оформленні документів на патент).*

Методичні рекомендації

18. «Мікроспорія котів (Діагностика, лікування, профілактика та заходи боротьби)». Методичні рекомендації для наукових співробітників, викладачів, аспірантів, слухачів відповідних закладів післядипломної освіти, студентів вищих навчальних закладів та лікарів ветеринарної медицини /Я.В. Кісера, **Ю.В. Мартинів**. – Львів – 2021. – 34 с.

Наявність завершеної наукової розробки - технічні умови:

19. Кісера Я.В., **Мартинів Ю.В.**, Курилас Л.В. Розчин «Мікромар» для лікування дерматофітних інфекцій: ТУ У 21.2 – 00492990-024:2020 [Чинний від 2020 – 24 – 12]. Львів, 2020. 23 с. *(Здобувачка виконала експериментальну частину роботи та брала участь у розробці технічних умов).*

20. Кісера Я.В., **Мартинів Ю.В.**, Курилас Л.В. Імуностимулюючий препарат «Біоглюк»: ТУ У 21.2 – 00492990-025:2020. [Чинний від 2020 – 24 – 12]. Львів, 2020. 23 с. *(Здобувачка виконала експериментальну частину роботи та брала участь у розробці технічних умов).*

ЗМІСТ

АНОТАЦІЯ.....	2
СПИСОК ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ.....	14
ЗМІСТ.....	18
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ.....	20
ВСТУП.....	21
РОЗДІЛ 1.	
ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.....	27
1.1. Історична довідка щодо мікроспорії котів.....	27
1.2. Етіологія мікроспорії.....	28
1.3. Епізоотологія мікроспорії.....	31
1.4. Патогенез мікроспорії.....	33
1.5. Клінічні форми мікроспорії.....	37
1.6. Діагностика мікроспорії.....	39
1.7. Лікування мікроспорії.....	41
1.8. Імунний захист.....	43
Висновки до Розділу 1.....	51
РОЗДІЛ 2.	
ЗАГАЛЬНА МЕТОДИКА ТА ОСНОВНІ МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	53
2.1. Матеріали досліджень.....	53
2.2. Методи досліджень.....	59
РОЗДІЛ 3.	
РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	66
3.1. Розробка протигрибкового засобу «Мікромар».....	66
3.1.1. Виділення чистої культури <i>Microsporum canis</i>	66
3.1.2. Підбір концентрації клотримазолу та повідон-йоду як основних діючих речовин протигрибкового засобу «Мікромар».....	69
3.1.3. Дослідження параметрів гострої токсичності протигрибкового засобу «Мікромар»	73
3.2. Розробка імуностимулятора «Біоглюк».....	76

3.2.1. Дослідження імуностимулюючої дії бета-глюкану за умови медикаментозної імуносупресії.....	76
3.2.2. Підбір основних діючих речовин імуностимулятора «Біоглюк».....	82
3.2.3. Дослідження параметрів гострої токсичності імуностимулятора «Біоглюк».....	83
3.3. Морфологічні та імунологічні показники крові і гістоструктурні зміни шкіри у хворих мікроспорією мурчаків	87
3.4. Дослідження крові та шкіри мурчаків при лікуванні препаратами «Мікромар» та «Біоглюк».....	100
3.5. Порівняльна характеристика різних схем лікування мікроспорії у мурчаків.....	105
3.6. Гематологічні дослідження крові у хворих мікроспорією котів.....	118
3.7. Апробація протигрибкового засобу «Мікромар» та імуностимулятора «Біоглюк» при лікуванні мікроспорії у котів.....	122
3.8. Ефективність лікування мікроспорії у котів розробленими препаратами «Мікромар» та «Біоглюк» в порівнянні з іншимисхемами.....	126
РОЗДІЛ 4.	
УЗАГАЛЬНЕННЯ ТА ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ...	130
ВИСНОВКИ.....	141
ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ.....	144
СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ.....	145
ДОДАТКИ.....	160

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

Ig – імуноглобуліни

МІК – мінімальна інгібуюча концентрація

МКА –моноклональні антитіла

ТУУ – технічні умови України

ЦТЛ – цитотоксичні Т-лімфоцити

ШОЕ – швидкість осідання еритроцитів

CER (cost-effectiveness ratio) – коефіцієнт «витрати-ефективність»

DSM – селективне середовище для дерматофітів

γ -IFN –гамма інтерферон

M. canis – *Microsporum canis*

TGF- β – трансформуючий фактор росту β

ВСТУП

Актуальність теми. Дерматофітози набувають все більш широке поширення, що пов'язано з недостатністю проведення профілактичних заходів з метою попередження та запобігання джерел зараження, найпоширенішим з яких є мікроспорія. Основним джерелом зараження мікроспорією людини та тварин у 80,5% є коти. За останні роки в Україні спостерігається масова тенденція до утримання котів. Водночас зросла і частота їх захворювань. Коти найчастіше потрапляють в домівки людей з вулиці, від волонтерів, рідко з розплідників. За рахунок цього, часто на прийом до лікаря потрапляють коти хворі мікроспорією, яка відноситься до одного з найпоширеніших антропозоонозних захворювань (Климко Н.Н., 2007; Антонова С.Б., 2016; Безлущенко О.В., 2017).

Збудниками мікроспорії є гриби роду *Microsporum*. Найпоширенішим збудником мікроспорії є зоофільний гриб *Microsporum canis*, на частку якого приходить близько 95% усіх дерматофітозів котів. За ураження збудником *Microsporum canis* волосяних стержнів, інфіковані артроспори, можуть залишатися здатними до зараження в навколишньому середовищі протягом двох років. Проблема захворювання котів мікроспорією є актуальною також і в санітарному відношенні, оскільки хвороба передається людині (Carlotti D.N., 1997; Scott D.W., 2001; Гаскелл Р., 2005; Chen S.C., 2007; Kirk R., 2014; Задора И.С., 2018).

Клінічний прояв мікроспорії напряму залежить від імунного статусу організму. Імунітет відіграє важливу роль при виникненні захворювання та впливає на тривалість перебігу хвороби. Також перебіг мікроспорії може ускладнюватися секундарною мікрофлорою. Тому з метою якісного лікування мікроспорії до терапії повинен бути комплексний підхід. В зв'язку з розвитком стійкості збудника до наявних лікарських препаратів виникла потреба в ефективних протигрибкових засобах, які володіють фунгіцидною та фунгістатичною дією. Протигрибкова терапія в поєднанні з раціональною медикаментозною корекцією функціональної активності імунної системи є

необхідним заходом при мікроспорії у котів, оскільки застосування стимуляторів імунної відповіді спрямоване на посилення фізіологічних можливостей організму (Schmid M.H., 1995; Brown G.D., 2002; DeBoer D.J., 2003; Петерсон С., 2008; Шмелькова Е.С., 2010).

Зважаючи на вищесказане, постала потреба у розробці протигрибкового засобу «Мікромар» та імуностимулятора «Біоглюк», які в комбінації дадуть змогу проводити комплексне лікування мікроспорії котів, забезпечуючи не лише ефективну терапевтичну дію, але і попереджати розповсюдження збудника в навколишньому середовищі та стимулювати захисні функції організму.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота є розділом комплексної наукової тематики кафедри епізоотології Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького «Особливості епізоотичного процесу, вдосконалення методів діагностики та імунокорекції, розробка профілактичних і протиепізоотичних заходів при інфекційних хворобах тварин і птиці у Західних областях України» (державний реєстраційний номер 0116U004257, термін виконання 2016-2020 рр.); «Вивчення епізоотологічних особливостей виникнення і поширення інфекційних хвороб тварин і птиці, вдосконалення діагностики та розробка профілактичних і протиепізоотичних заходів» (державний реєстраційний номер 0121U109949, термін виконання 2021-2025 рр.).

Мета і задачі дослідження. *Мета роботи* – розробити та впровадити у практику ветеринарної медицини протигрибковий засіб «Мікромар» та імуностимулятор «Біоглюк» для проведення лікувальних і профілактичних заходів при мікроспорії котів.

Для досягнення цієї мети були поставлені наступні завдання:

1. Обґрунтувати склад протигрибкового засобу «Мікромар».
2. Розробити рецептуру імуностимулятора «Біоглюк».

3. З'ясувати зміни морфологічних показників крові та гістологічної структури шкіри у хворих мікроспорією мурчаків.

4. Дослідити зміни крові та шкіри у хворих мікроспорією мурчаків при лікуванні препаратами «Мікромар» та «Біоглюк»

5. Провести порівняльну оцінку різних схем лікування мікроспорії у мурчаків.

6. З'ясувати особливості морфологічних показників крові у хворих мікроспорією котів

7. Провести апробацію протигрибкового засобу «Мікромар» та імуностимулятора «Біоглюк» при лікуванні мікроспорії у котів

8. Встановити ефективність лікування мікроспорії у котів розробленими препаратами «Мікромар» та «Біоглюк» в порівнянні з іншими схемами.

Об'єкт дослідження – розробка протигрибкового засіб «Мікромар» та імуностимулятора «Біоглюк» для комплексного лікування мікроспорії у котів.

Предмет дослідження – обґрунтування протигрибкового засобу «Мікромар» та імуностимулятора «Біоглюк» в системі лікувальних і профілактичних заходів за мікроспорії у котів.

Методи дослідження: мікробіологічні та мікологічні (висів лусочок поверхневого шару шкіри та шерсті з уражених ділянок на середовища «DERMAKIT», сусло-агар і Сабуро; мікроскопія колоній, встановлення чутливості культури збудника до протигрибкового засобу «Мікромар»); гематологічні (кількість еритроцитів і лейкоцитів, лейкограма, вміст гемоглобіну, гематокритна величина, ШОЕ); імунологічні (вміст Т- і В-лімфоцитів, натуральні кілери, Т-хелпери і Т-супресори); гістологічні; клінічні (оцінка симптомів захворювання за поступлення тварин у клініку, упродовж та в кінці курсу лікування новоствореними препаратами); статистичні (біометрична обробка результатів досліджень).

Наукова новизна одержаних результатів. Розроблено новий протигрибковий препарат «Мікромар», діючими речовинами якого є

клотримазол та повідон-йод і імуностимулятор «Біоглюк», який включає комбінацію бета-глюкану і біотину. Уперше за результатами досліджень по виділенню та культивуванню на щільних поживних середовищах грибка *Microsporum canis* та визначення мінімальної інгібуючої концентрації клотримазолу та повідон-йоду встановлено, що культура *Microsporum canis* виявляє чутливість до клотримазолу в концентрації 0,25% та повідон-йоду 5%, які взяті за основу для виготовлення протигрибкового засобу «Мікрмар». Встановлено, що підібрані складники імуностимулюючого засобу «Біоглюк» бета-глюкан та біотин в комбінації забезпечують активну імуностимулюючу дію та сприяють відновленню ділянок дерми уражених грибом *Microsporum canis*. Уперше запропоновано схему лікування мікроспорії розробленими препаратами, яка забезпечує досягнення позитивного результату.

Наукова новизна підтверджена двома патентами:

1. **Мартинів Ю.В.**, Кісера Я. В. (Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького). Розчин «Мікрмар» для лікування дерматофітних інфекцій: пат.144019 України, МПК (2006.01) А61К 9/08; А61Р 31/10 (2006.01). № u 2020 01885; опубл. 25.08.2020, бюл. № 16.

2. **Мартинів Ю. В.**, Кісера Я. В. (Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького). Ветеринарний імуностимулюючий препарат «Біоглюк»: пат. 146754 України, МПК (2006.01) А61К 31/716; А61Р 37/04 (2006.01). № u 2020 04664; опубл. 17.03.2021, бюл. № 11.

Практичне значення одержаних результатів. На основі проведених експериментальних досліджень встановлено, що при комплексному лікуванні мікроспорії розробленими препаратами відбувається прискорення періоду одужання та попередження розповсюдження збудника в навколишньому середовищі. Лікування препаратами «Мікрмар» та «Біоглюк» не супроводжується побічними реакціями та призводить до відновлення трофіки

в усіх шарах шкіри. Відмічена регенерація ушкоджених ділянок на шкірі та відростання волосяного покриву. За результатами досліджень розроблено нормативну документацію на препарати «Мікромар» (ТУ У 21.2 – 00492990-024:2020. Розчин «Мікромар» для лікування дерматофітних інфекцій) і «Біоглюк» (ТУ У 21.2 – 00492990-025:2020. Імуностимулюючий препарат «Біоглюк»).

Особистий внесок здобувача. Дисертантка особисто обґрунтувала наукову концепцію, яка була покладена в основу дисертаційної роботи, сформулювала мету й основні етапи досліджень, здійснила підбір і аналіз наукової літератури за темою дисертації, організувала досліди та виконала лабораторні дослідження. Узагальнення та інтерпретацію одержаних результатів, висновків і пропозицій, підготовку статей та дисертаційної роботи проведено авторкою за методичної допомоги наукового керівника, доктора ветеринарних наук, професора Кісери Ярослава Васильовича.

Апробація результатів дисертації. Основні результати експериментальних досліджень доповідались та отримали загальне схвалення на щорічних наукових звітах і конференціях співробітників ЛНУВМБ імені С. З. Гжицького (2019-2021 рр.); XVIII Всеукраїнській науково-практичній конференції молодих вчених «Молоді вчені у розв'язанні актуальних проблем біології, тваринництва та ветеринарної медицини» (Львів, 5-6 грудня 2019 р.); XXIV міжнародному медичному конгресі (Тернопіль, 13-15 квітня 2020 р.); науково-практичній конференції молодих вчених «Актуальні проблеми ветеринарної біотехнології та інфекційної патології тварин» Національної академії аграрних наук України (Київ, 9 липня 2020 р.); IV Всеукраїнській науково-практичній конференції «Сучасні аспекти лікування і профілактики хвороб тварин» (Полтава, 15-16 жовтня 2020 р.); II міжнародній науково-практичній конференції (Дніпро, 21-22 квітня 2021 р.); I Україно-польському науковому форумі «Агробізнесперспективи» (Львів, 29-30 вересня 2021 р.); конференції «Сучасні методи діагностики, лікування та профілактики у ветеринарній медицині» присвяченій 140-річчю відкриття навчального

закладу " Цісарсько-королівська ветеринарна школа та школа підковування коней разом із клінікою-стаціонаром для тварин у Львові" (Львів, 18–19 листопада 2021 р.)

Публікації. Відповідно до одержаних даних з проведених досліджень по дисертаційній роботі опубліковано **20** наукових праць, у тому числі **6** статей у наукових фахових виданнях України, **1** стаття в міжнародній наукометричній базі даних Web of Science, **1** стаття у періодичному науковому виданні інших держав, що входять до складу Європейського Союзу, одержано **2** патенти на корисну модель, **2** технічні умови, **1** методичні рекомендації та **7** тез наукових доповідей.

Структура і обсяг дисертації. Дисертаційна робота викладена на 180 сторінках комп'ютерного тексту і складається з: анотацій, вступу, огляду літератури, загальної методики та основних методів досліджень, результатів власних досліджень, узагальнення та обговорення результатів досліджень, висновків, пропозицій виробництву, списку використаних джерел і додатків. Дисертаційна робота проілюстрована 33 рисунками та 27 таблицями. Список використаних джерел містить 178 джерел, з яких 97 латиницею.

РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.2. Історична довідка щодо мікроспорії котів

Мікроспорія – це інфекційна хвороба, яка протікає з ураженням шкіри та її похідних і є найпоширенішою інфекцією серед дерматофітів з групи *Dermatophytes* [47, 128, 132]. Грибкові хвороби шкіри у тварин відмічались ще з давніх часів. Проте про дерматофіти як про збудник дерматофітозів стало відомо в середині XIX століття з відкриттям збудників трихофітії, мікроспорії та фавусу. В цей же період були описані морфологічні властивості та клінічні прояви цих захворювань [30, 57, 66].

Перше повідомлення щодо збудника мікроспорії належить австроугорському вченому Грубі, який 1842-1843 роках відкрив збудник мікроспорії та описав клінічну картину хвороби, визначив біологію гриба-патогена та назвав його на честь французького зоолога Одуена *Microsporum Audouini* [60, 111, 121]. Роботи Грубі отримали широку популярність, проте зв'язок між виявленням збудника та розвитком клінічного прояву в цей період не вважався встановленим. Це відбулося пізніше завдяки дослідженням французького дерматолога Сабуро [21, 99].

В 1937 році Сабуро запропонував класифікацію дерматофітозів в основу якої були покладені морфологічні особливості дерматофітів в волоссі та при культивуванні збудника. В цій класифікації Сабуро поділяє дерматофіти на групи, де мікроспорію відносить до третьої групи [110]. Вказуючи на те, що волос при мікроспорії покритий сірим футляром з дрібних спор, які розміщені всередині або поза волосом неупорядковано – мозаїчно [144]. Колонії пухнасті, пухнасто-борошністі і складаються з ракетоподібного міцелію та багатьох веретеноподібних макроконідій (веретен); мікроконідії (айлерії), які зустрічаються не часто [29, 48, 49, 103].

В колишньому Радянському Союзі розвиток ветеринарної дерматології асоціюється з іменем професора Харківського. В 1930 році він опублікував

працю «Курс шкірних захворювань домашніх тварин», де були описані клінічні прояви, патогенез та лікування за перебігу мікроспорії [35, 138].

Детальним вивченням стійкості збудника мікроспорії до хімічних та фізичних факторів, культурально-морфологічних властивостей, займалися Садовський І.Я., Посереднік Ф.І., Щербатих П.Я., Орлов Ф.М. [34]. Дослідженнями Степаніщевої З.С., Богданова Н.Н., Чушакова Г.В. в 40-х роках ХХ століття було встановлено, що коти є основним джерелом зараження людини і причиною появи епідемій мікроспорії [98, 140].

Сучасні дослідники вважають, що за мікроспорії формується імунітет як результат перебудови організму після перехворювання або імунізації тварин і підпорядковується закономірностям властивим іншим інфекційним хворобам [46, 54, 55, 172].

1.2. Етіологія мікроспорії

Дерматомікози об'єднують групу захворювань поверхні тіла людини та тварин, збудниками яких є патогенні гриби родів *Microsporum*, *Trichophyton* або *Epidermiphyton*. Мікроспоруми відносяться до недосконалих грибів – *Fungi imperfecti*. Хвороби, які викликаються вказаними грибами називаються мікроспорія (*Microsporia*, *Microsporidiosis*), трихофітія (*Trichophytosis*, *Trichophytosis*), фавус (*Favus*) [6, 65].

Дерматоіцети розділяють на три групи в залежності від їх ареалу перебування:

геофільні – знаходяться в ґрунті і інколи є причиною дерматомікозу;
зоофільні – в основному є патогенними для тварин, але здатні уражати і людей;

антропофільні – викликають захворювання у людей і дуже рідко у тварин [156].

З використанням методів молекулярної біології описано 17 представників роду *Microsporum*. Для клініцистів найбільше значення мають наступні чотири види грибів: антропофільні – *Microsporum audouinii*,

Microsporium ferrugineum; зоофільний – *Microsporium canis*; геофільний – *Microsporium. gypseum* [78, 128, 140].

Microsporium canis уражає котів, собак, хутрових звірів, мурчаків, кролів, коней, овець, кіз, свиней, оленів, мавп та тигрів. Збудники мікроспорії мають дрібні (2-3 мкм) округлі спори. Окрім спор в периферичній частині волосу виявляють розгалужені, прямі та посмуговані нитки міцелію. Волос наче оточений «футляром» з округлих утворень, що являють собою спори гриба та нитки міцелію. Вони оточують волос біля основи, їх також знаходять всередині волосу. При мікроскопії зіскобів з патологічного матеріалу спори розташовані мозаїчно або хаотично [94, 160].

Наявність спор і гіфів гриба *Microsporium canis* можлива у роговому шарі епідермісу та волосяних фолікулах. Клітини дерматоміцетів мають оболонку, протоплазму, ряд включень і диференційоване ядро [122].

Збудник мікроспорії культивується на сусло-агарі, кров'яному агарі та середовищі Сабуро при температурі 27°C і проявляє ріст на 3-5 день після висіву [34].

З сучасних методик культивування збудника використовують селективні середовища для дерматофітів – DSM, що містять поживні речовини, які прискорюють ріст дерматофітів; вибірккові антибіотики, що сповільнюють ріст непатогенних сапрофітних грибів і бактерій. Індикатор рН, зміною кольору на червоний вказує на присутність дерматофіта, в результаті продукування лужних метаболітів. Середовища класу DSM дають можливість отримання результатів вже через 3 дні при культивуванні в умовах температури 22-25°C. Дані середовища розроблені на основі рецептури Тапліна та співавторів [57, 165].

Збудник мікроспорії проростає у вигляді сірувато-білих колоній (пізніше жовто-коричневих) з пухнастим міцелієм, що стелиться. Одна і та ж культура може мати пігменти різних відтінків: більш ніжні у молодих культурах та інтенсивнішого забарвлення у зрілих. Динаміка пігментоутворення напряму залежить від якості поживного середовища та

умов вирощування [138]. Також пігментацію культури *Microsporium canis* підсилює освітлення ультрафіолетовими променями сонця або ртутно-кварцевої лампи. Забарвлення буває яскравішим при слабкому опроміненні, в той час як при великих дозах ультрафіолетового опромінення пігмент втрачається [26, 59].

Розмноження дерматофітів визнається як безстатеве і відбувається шляхом ділення, однак ряд дослідників в своїх публікаціях вказують, що в цих грибів є досконалі органи розмноження [48, 101].

При диференціації та визначенні морфології збудників мікроспорії беруть до уваги різноманіття морфологічних елементів, розміри та форму клітин, їх розміщення, а також біологічні особливості та своєрідності паразитарної активності. Міцелій мікроспорумів є розгалуженим та поділеним на сектори. Гіфи теж часто несуть на своїх кінцях своєрідні розгалуження. Молодий міцелій складається з продовгуватих та прямокутних, старий – з коротких округлих або багатогранних клітин [110, 139, 174].

В результаті багаторазового поперечного ділення міцелію шляхом розгалуження деяких гілок грибниці на окремі прямокутні, кулеподібні або багатогранні клітини утворюються артроспори. З початку розчленування ниток артроспори розташовуються ланцюжками, потім групами і вільно у формі кулевидних утворень з протоплазмою. З часом розмір артроспор збільшується [110]. Хламідоспори схожі з артроспорами, але їх функція полягає не в розмноженні, а в збереженні виду до настання більш сприятливих умов життя. Збудник мікроспорії характеризується термінальними хламідоспорами, що розташовуються на кінцях міцелію [108].

В морфологічному та біологічному відношенні поняття хламідоспор є дуже обширне і не єдине. Розмір хламідоспор, та їх положення навіть в одній і тій же культурі можуть бути різноманітні. Молоді та зрілі хламідоспори при проростанні дають в подальшому розгалужений міцелій, старі – піддаються жировому переродженню та стають нежиттєздатними [101, 138].

Із мікроскопічних структур найважливішими вважаються макроконідії, яких ще називають «веретенами». Молоді елементи в патологічному матеріалі представлені у вигляді рівного, інколи дихромічного септованого міцелію. При мікроскопії зрілих колоній виявляють велику кількість макроконідій (крупні екзоспори грибів), що розміщені на нитках міцелію веретеноподібної форми з 5-12 перегородками. Мікроконідії зустрічаються не часто [38, 110, 119].

Головним хімічним компонентом клітинних стінок грибів є хітин. Саме він робить їх малопроникними, що може знижувати ефективність лікування препаратами для місцевих обробок. Ознайомившись з хімічними компонентами клітин дерматофітів можна стверджувати, що для їх живлення необхідні білки, вуглеводи та різноманітні мінеральні речовини [69].

Мінеральний обмін патогенних грибів пов'язаний з необхідною кількістю калію, натрію, фосфору, заліза, магнію, кальцію та інших елементів, що засвоюються у вигляді сульфатів, карбонатів і фосфатів [138].

1.3. Епізоотологія мікроспорії

Щороку дерматофітози набувають все більш широке розповсюдження, що пов'язано з недостатністю проведення профілактичних заходів з метою попередження та запобігання джерела зараження, найпоширенішим з яких є мікроспорія.

За останні роки в Україні спостерігається масова тенденція до утримання котів. Водночас зросла і частота їх захворювань. Коти найчастіше потрапляють в домівки людей з вулиці, від волонтерів, рідко з розплідників. За рахунок цього, часто на прийом до лікаря потрапляють коти хворі мікроспорією, яка відноситься до одного з найпоширеніших антропозоонозних захворювань.

Мікроспорією хворіють частіше домашні тварини (коти, собаки), а також хутрові звірі, мурчаки та кролі; рідше – коні, вівці, кози, свині, олені, мавпи та тигри. Хворіють коти усіх вікових груп, проте більш чутливий

молодняк з перших днів життя [149]. Протікає мікроспорія у вигляді спорадичних випадків та епізоотичних спалахів, реєструється у будь яку пору року, проте у котів частіше восени, зимою та на початку весни. Виникненню та поширенню хвороби сприяють скупчене утримання тварин та погана годівля, ослаблений імунітет, стреси [26, 59].

Джерелом збудника інфекції є інфіковані мікроспорією коти. Особливу небезпеку в поширенні збудника та підтриманні епізоотичного вогнища становлять бездомні коти. У дорослих котів мікроспорія найчастіше протікає у скритій формі, у молодняка відмічають всі форми хвороби (поверхнева, глибока, атипова та скрита) [4]. Хворі тварини поширюють збудник в навколишньому середовищі інфікованими лусочками, кірками та волосом, які випадають з поверхні ураженої шкіри. Інфіковані предмети стають небезпечними факторами передачі грибів мікроспорії. Зараження відбувається через шкіру, внаслідок її травмування або за умов імуносупресивного стану організму при локалізації збудника на тілі тварини, при прямому контакті здорових та хворих тварин, а також через заражені предмети догляду, підстилку, одяг людей [57, 59].

Волосяні стержні *Microsporum canis*, що містять інфіковані артроспори, можуть залишатися здатними до зараження в навколишньому середовищі на протязі двох років. Одування при мікроспорії може виникати без медикаментозного втручання за умови підвищення опірної здатності імунної системи [47].

Факторами передачі збудника є предмети догляду, годівниці, підстилка на якій можуть зберігатися спори грибка до 2-х років. Також збудник може перебувати на тілі kota не викликаючи клінічного прояву хвороби, але поширюючись в навколишньому середовищі [48, 119].

Стійкість збудника у зовнішньому середовищі відносно невисока. Пряме сонячне проміння вбиває збудника на протязі декількох годин, проміння ртутно-кварцевої лампи – за 30 хвилин. В вологому середовищі при температурі 80-90°C гриби гинуть за 7-10 хвилин. Сухий жар (100-110°C)

вбиває їх за 15-20 хвилин. З хімічних засобів на гриби згубно діють: 1-3% розчин формальдегіду, який знищує вегетативні форми грибів за 15 хвилин, 5-8% розчин лугів – за 20-30 хвилин [35, 156].

1.4. Патогенез мікроспорії

Порушення обміну речовин, виснаження організму, ослаблення його захисних сил, нестача вітамінів сприяють більш швидшому розвитку мікроспорії. Недостатньо фізіологічно зміцнілий молодий організм більш чутливий до захворювання. При наявності сприятливих умов для розвитку гриба міцелій і спори мають здатність проростати на поверхні шкіри і проникати у волосяні фолікули, де і відбувається їх подальший розвиток. Період проникнення гриба зазвичай не помітний. Його замінює інкубаційний період, який в залежності від патогенних особливостей гриба і стану захисних функцій організму триває від 6 до 30 днів. Міцелій гриба спочатку проростає по ходу росту волосу, і потрапляючи всередину волосяних фолікулів, розмножується між кореневою піхвою та коренем волоса, поширюючись вгору [154, 164].

Гриби роду *Microsporum* уражають шкіру та її похідні – волос і шерсть, що містять кератин (білок), який необхідний для їх паразитування. Гриби продукують протеолітичні ферменти, які сприяють розщепленню клітин ороговілого епітелію і виділяють токсини, що викликають запальний процес в місці проникнення елементів гриба – гіфів. Разом з тим в патогенезі мікроспорії велика роль належить макроорганізму, стану його центральної нервової системи, гормональної рівноваги та вітамінному насиченню, фізіологічній активності його тканин та органів, цілісності рогового шару шкіри, що суттєво впливає на розвиток хвороби. Тому патогенез мікроспорії слід розглядати в тісній і динамічній взаємодії макро- і мікроорганізму [40, 127, 168].

У виникненні патологічного процесу велике значення має зовнішнє середовище. Шкіра та її похідні в порівнянні з внутрішніми органами є більш

сприятливими для розвитку мікроспорії, оскільки вони пов'язані з аерацією, значним надходженням кисню і більш оптимальною температурою (25-36°C). Підвищена вологість шкіри та пов'язана з нею мацерація рогового шару знижують опірність епідермісу, відкриваючи ворота для проникнення патогенних грибів. Механічне пошкодження шкіри в результаті тертя, розчухування, ін'єкцій, накопичення великої кількості клітин рогового шару шкіри внаслідок поганого догляду за нею сприяє розвитку мікроспорії при потраплянні грибів на шкіру. Особливо різко змінюється проникність кровоносних судин та лімфатичних шляхів при загостренні запального процесу [113, 128, 138, 167].

За перебігу мікроспорії патогенетичні процеси супроводжуються імунною відповіддю. Найчастіше розвитку мікроспорії сприяє ослаблений імунний статус організму на фоні його імуносупресивного стану. Імунна реактивність господаря має вирішальне значення для чутливості до інфекції та її наслідків [142].

Особливістю дерматофітозів є те, що ці збудники знаходяться зовні організму та не вступають в пряму взаємодію з клітинами-носіями господаря. Проте вони викликають імунну відповідь у вигляді гіперчутливості шкіри і формування антитіл. При ураженні збудником мікроспорії внутрішньоклітинні реакції відбуваються при взаємодії між грибковими антигенами і антитілами, що сенсibiliзують шкіру. Ураження можуть бути локалізованими або генералізованими [38, 139].

У відповідь на дію антигенів і токсинів мікроорганізмів, а також інші травмуючі фактори, які спричиняються свербіжем, навколишні клітини (епітелій, ендотелій судин, нервових закінчень, лейкоцити) місцево синтезують судинорозширюючі медіатори запалення (брадикінін, гістамін та простагландин E2). Гістамін і брадикінін спричиняють скорочення мікрофіламентів ендотелію, як наслідок клітини ендотелію стають кубоподібними та високими. Це викликає тимчасове збільшення відстані між міжепітеліальними клітинами та збільшення перфузії судин. Відбувається

перехід рідкої частини крові в міжклітинний простір, що здійснюється в основному, через невеликі посткапілярні венули. В свою чергу, тромбоцити та серотонін звужують ці відстані. Нейрогенні медіатори також сприяють формуванню набряку, які звільняються в місцях, де відбувається пошкодження клітин. Завдяки учасникам запальної реакції формуються умови для залучення великих площ тканин в запальний процес, що має наслідок - порушення місцевого кровопостачання. Такі зміни можуть спричинити формування абсцесу або флегмони внаслідок ускладнення перебігу мікроспорії бактеріальною флорою, складовими частинами яких стають позаваскулярний некротичні тканини та білки рідкої частини крові а також конгломерат нейтрофілів. [6, 154].

Першими у вогнище запалення просуваються нейтрофіли, далі на другу добу – макрофаги, лімфоцити і дендритні клітини; пізніше – Т-цитотоксичні лімфоцити ($CD8^+$) та В-лімфоцити. Усі вище перераховані клітини та фактори вродженого імунітету узгоджено співпрацюють між собою. Так, компоненти комплементу покривають мікроорганізми і сприяють їх фагоцитозу. Макрофаги і нейтрофіли виробляють чисельні хемокіни та цитокіни. Нейтралізацію збудника здійснюють імунокомпетентні клітини та розчинні гуморальні фактори, тобто білки гострої фази разом з білками компонентів комплементу, ферментами, активних форм кисню та азоту. Клітинні разом з гуморальними факторами доповнюють один одного, посилюючи клілінговий ефект [160, 174].

Не виключається можливість приєднання процесів проліферації і диференціації лімфоцитів в самому вогнищізапалення. Ці процеси забезпечують основну специфічну імунну відповідь, тобто завершення запального процесу та руйнування збудника [6, 127].

Розрізняютьтакі механізми регуляції імунної відповіді на запальний процес:

- самостійне посилення імунної відповіді.
- самостійне обмеження імунної відповіді.

– гальмування (зниження) імунної відповіді.

Самопосилення імунної відповіді відбувається поетапно:

1) після антигенпрезентації Т-хелпери 1 типу активно продукують ІЛ-2 (фактор росту Т-лімфоцитів), який в свою чергу викликає проліферацію самих Т-хелперів (аутокринний механізм) та таких самих клітин (паракринний механізм), що спричиняє утворення такої кількості Т-лімфоцитів, що перевищує кількість причинних антигенів;

2) система ІЛ-2 запускає синтез макрофагами ІЛ-12 та формування Т-хелперів 1 типу, що підсилює імунну відповідь.

Також двоетапно відбувається самообмеження імунної відповіді:

1) активовані макрофаги виділяють простагландин Е2, який гнітить активну здатність специфічних та неспецифічних Т-лімфоцитів;

2) під впливом γ -IFN макрофаги продукують фермент, який провокує синтез вітаміну D3 (кальцитріолу), що, в свою чергу, пригнічує активність Т-лімфоцитів та знижує ризик утворення гранульоми.

Пригнічення імунної відповіді на запальний процес відбувається в основному за рахунок роботи моноцитів/макрофагів, які, як відомо, здійснюють фагоцитоз та презентують антиген Т-лімфоцитам [36, 156].

У випадку повної нейтралізації патогену, ці клітини зупиняють синтез прозапальних цитокінів та утворення адгезивних молекул. Це викликає зупинку фагоцитозу та антигенпрезентації. Всі вказані фактори та механізми гальмують процес апоптозу Т-лімфоцитів у осередку запалення. Після завершення роботи моноцитів/макрофагів лімфоцити, які залучені до імунної відповіді, гинуть і залишаються лише клітини-пам'яті. Окрім цього, моноцити/макрофаги виділяють трансформуючий фактор росту β (TGF- β), який, за допомогою активації фібробластів, сприяє посиленому синтезу колагену і колагенових волокон, а також регенерації ушкоджених тканин. Значний внесок у гальмування імунної відповіді дає ІЛ-10, який синтезується клітинами Т-хелперами 2 та 3 типів [31, 82].

1.5. Клінічні форми мікроспорії

Інкубаційний період триває від 6 до 30 діб, а захворювання від 3-х до 9-и тижнів і більше (7-9 місяців). За характером клінічного прояву розрізняють поверхневу, глибоку, стерту та скриту (приховану) форми. У котів вогнища ураження локалізуються на голові, навколо вух, на внутрішній поверхні вушних раковин, тулубі, біля основи хвоста у вигляді ділянок лущення, інколи кірочок з волосками в них. Шерсть на ділянках ураження коротша навколишніх здорових волосин. Вона легко та безболісно висмикується. Захворювання триває місяцями в субклінічній, або стертій формі без помітних ознак з ураженням окремих волосків на вусах, в носі, вухах, на надбрівних частинах голови, шиї, біля основи хвоста та у інших місцях [47, 128, 166].

Поверхнева форма мікроспорії при повному клінічному прояві характеризується випадінням (обламуванням) волосу та лущенням шкіри, формуванням безволосих плям округлої форми на малопомітних або обширних ділянках тіла kota. Часто волос в центрі ділянки обламаний, разом з цим відмічається ріст окремих волосків. Шкіра набрякла з синюшним відтінком. Ознаки ексудації малопомітні. Інколи хвороба протікає з яскраво вираженою запальною реакцією та утворенням кірок. Ураження можуть бути вогнищевими та дисемінованими [47, 91].

При глибокій (фолікулярній) формі запальний процес активно виражений, на поверхні шкіри формуються кірки засохлого ексудату. Невеликі плями можуть зливатися та формувати обширні, покриті кірками ділянки. У котенят можуть виникати генералізовані алопеції з випадінням шерсті та лущенням шкіри по всьому тілу. Глибока форма мікроспорії у котів трапляється рідко [154].

Атипова форма характеризується появою безволосих ділянок, але ознаки вираженого запалення відсутні. Такі ділянки потертості нагадують травматизацію і їх можна побачити лише при ретельному огляді [147].

Скрита або субклінічна форма супроводжується ураженням окремих волосин на голові або тулубі kota. Випадіння волос, утворення лусочок, кірочок при цій формі мікроспорії не відбувається. Уражений волос при звичайному огляді неможливо виявити. Їх виявляють лише за допомогою люмінесцентного методу. У котів при субклінічній формі уражаються лише окремі волосини на тулубі, підшерсток на внутрішній поверхні вušних раковин або на бровах та віях. Скриту форму в основному виявляють у дорослих тварин [156].

За перебігу мікроспорії в місцях уражених ділянок видно алопеції, де відбувається лущення шкіри з формуванням лусочок на її поверхні у вигляді сухої себореї. Надмірне злущування має вигляд від світло-сірої пилеподібної маси до відпадання цілих пластів. Вогнища локалізації запального процесу мають округлу, овальну або поліциклічну форму, волос обламаний, відмічається помірна гіперемія. Чітко видно демаркаційну лінію між здоровою та ураженою шкірою. Шкіра в вогнищі запалення є грубою. Хворі тварини можуть розчухувати місця ураження, що провокує виникнення саден та подряпин, які візуалізуються на шкірі [57, 132].

Гістологічно при мікроспорії відмічається запальний процес у верхніх шарах епідермісу, що як правило характеризується десквамацією рогового шару. Відбувається запальний процес, що супроводжується скопиченням клітинних інфільтратів в товщі шкіри. Навколо волосяних сумок можливе знаходження спор або гіфів збудника мікроспорії. Візуально вони виглядають у формі міцелію з дрібними включеннями.

Хронічний перебіг мікроспорії характеризується гіперкератозом. Роговий шар епідермісу стає потовщеним, клітини, що його формують нашаровуються у формі пластів на поверхні [11].

1.6. Діагностика мікроспорії

Для експрес – діагностики мікроспорії використовують лампу «Вуда» ультрафіолетового світла, яка має довжину хвилі 365-366 нм. При цьому ділянки, які уражені дають яскраво-зелене або смарагдове світіння в ультрафіолетових променях (при сильному ураженні чорне волосся не завжди дає описане світіння). При використанні цього методу слід також пам'ятати, що лусочки у вогнищах ураження, які містять міцелій, спори гриба, інколи короткі уламки волосу не дають флюоресценції [123]. Однак в цілому вірогідність люмінесцентної діагностики становить приблизно 50-70%. Заключний діагноз встановлюють за результатами мікроскопічного та культурального дослідження [135, 172].

Лабораторна діагностика включає мікроскопічне дослідження та культивування збудника на поживних середовищах. Матеріалом для дослідження є волосся, кірочки, шкірні лусочки з уражених ділянок, які не піддавалися лікуванню. Кращим матеріалом для аналізу є волос, що втратив звичайний колір, блиск та еластичність та легко висмикується пінцетом. У вогнищах, де інтенсивно перебігає інфекційний процес є значно більше елементів гриба. При мікроспорії обламаний волос оточений дрібними спорами збудника [57, 142].

Для мікроскопії проводять обробку патологічного матеріалу 10-15% розчином луґу, з подальшим підігріванням над полум'ям спиртівки. Після внесення краплі 50% розчину гліцерину проводиться дослідження препарату під мікроскопом. Мікроскопічне дослідження волосу також можна здійснювати із застосуванням мінеральних олій (наприклад імерсійна олія) [2].

Остаточне визначення причини та ідентифікацію збудника мікроспорії проводять за морфологічними характеристиками після виділення культури на живильних середовищах [29, 162].

Для виділення культури на сусло-агарі досліджуваний матеріал вносять на середовище та інкубують при температурі 20-25°C в темному

місці. Щодня чашки підлягають огляду та спостереженню за ростом колоній на протязі 3 тижнів. Зміна кольору і ріст колоній свідчать про наявність дерматофітів. Колонії, які проросли на 10-14 добу, відбирають липкою стрічкою (липкою стороною вниз). На поверхню стрічки додають краплю метиленової синьки і досліджують під мікроскопом. Мікроспорію диференціюють від інших дерматофітів за зовнішнім виглядом колонії, формою конідій і міцелію [51].

На середовищі Сабуро культивування відбувається при температурі 27°C. Збудник мікроспорії проявляє ріст вже на 3-5 день після посіву у вигляді округлих сірувато-білих колоній з пухнастим міцелієм, що стелиться. При мікроскопії зрілих колоній виявляють велику кількість макроконідій (крупні екзоспори грибів), розміщені на нитках міцелію веретеноподібної форми з 5-12 перегородками [52].

На середовищах класу DSM відібраний матеріал поміщають на поверхню, не занурюючи в нього. Закривають пробірку, щільно не закупорюючи її, щоб попередити утворення вологи, яка може вплинути на результати дослідження. Витримують при кімнатній температурі 22-25°C на протязі періоду тестування, який триває до 10 діб. Результат тестування можна отримати починаючи з 3 дня вирощування. Якщо за період тестування ріст колонії відсутній – результат вважається негативним.

При диференційній діагностиці мікроспорію необхідно відрізнити від трихофітії, парші, корости, авітамінозів А і В, екземи, дерматитів неінфекційної етіології, що базується на проведенні лабораторних досліджень та світлової мікроскопії.

Трихофітія у котів виникає дуже рідко. При цьому виникають осередки з ексудативним запаленням, бульбашки, що лопаються і формують множинні вогнища великих розмірів, різко виражений свербіж і при цьому можуть утворюватися садна просочені кров'ю [57, 153].

При парші уражене волосся випадає та локалізується групами серед здорових волосин і не обламується. Кірочки мають вигляд «блюдечка» або «щитка» із наявними заглибленнями у центрі.

Короста супроводжується сильним свербіжем, однак відсутні характерні для мікроспорії округлі плями, апри мікроскопії виявляють кліщі. При екземі та дерматитах волос не обламується, відсутні обмежені ділянки з сухими лусочками, результати мікологічних досліджень негативні [72].

1.7. Лікування мікроспорії

Для лікування мікроспорії у котів використовують системні та місцеві антимікотики. Фунгіцидні препарати здатні затримувати ріст гриба. За легкого перебігу хвороби застосовують місцеве лікування, а при генералізованих ураженнях на шкірі та хронічному перебігу до терапії долучають системні антимікотики та препарати, які впливають на організм вцілому: вітаміни, імуностимулятори, протигістамінні [56, 75, 118].

В зв'язку з тенденцією розвитку стійкості збудника до наявних лікарських засобів, виникла потреба в ефективних протигрибкових засобах, які володіють фунгіцидною або фунгістатичною дією [79, 163]. Найбільш багаточисельною групою синтетичних протигрибкових засобів, що найчастіше використовують для лікування мікроспорії є азоли. Азоли мають широкий спектр протигрибкової дії, виявляють фунгістатичний ефект. Вони діють також на деякі грампозитивні коки та коринебактерії. Механізм дії їх полягає в порушенні синтезу ергостеролу – основного структурного компонента клітинної мембрани грибів. Ефект пов'язаний з інгібуванням цитохром Р450-залежних ферментів, в тому числі 14-альфа-деметилази (стерол-14-деметилаза), яка каталізує реакцію перетворення ланостеролу в ергостерол, що приводить до порушення синтезу ергостеролу клітинної мембрани грибів і порушення цілісності мембрани клітини грибів [14, 33, 157].

Вибір системного протигрибкового препарату може бути зроблений на підставі результатів посіву на живильні середовища з визначенням чутливості збудника до антимікотиків на середовищі Мюллера-Хінтона. Проте вторинна резистентність до протигрибкових засобів розвивається вкрай рідко [95, 112, 142].

З антисептиків для місцевих обробок рекомендуються засоби на основі повідон-йоду, клотримазолу, 4% хлоргексидину, 10% розчин саліцилової кислоти, 3-5% розчин однохлористого йоду, 5-10% фталан, фукорцин [28, 80, 93].

Одним з найефективніших антисептиків вважається повідон-йод, який проявляє швидку бактерицидну дію на грампозитивні та грамнегативні бактерії, активний по відношенню до патогенних грибів, вірусів та простіших. Не викликає резистентності [77]. Протимікробна дія базується на пошкодженні йодом клітинної стінки мікроорганізмів. Повідон-йод є комплексом йоду та полімеру полівінілпіролідону, що виділяє йод протягом певного часу після його нанесення на шкіру. Звільняючись з комплексу із полівінілпіролідонем при контакті з біологічним матеріалом, йод утворює з білками клітини бактерій йодаміни, коагулює їх та викликає загибель мікроорганізмів. Механізм дії – вільний йод здійснює швидкий бактерицидний ефект, а полімер є депо для йоду [155].

Серед допоміжних сполук, які доцільно використовувати при патологіях, що характеризуються ураженням шкіри та волосу вважаються: вітаміни групи В, жиророзчинні вітаміни, цинк, сірка. Зокрема біотин (вітамін Н, вітамін В₇) є водорозчинним вітаміном групи В. В організмі біотин відіграє важливу роль в обміні вуглеводів, жирів і білків і є життєво необхідним для нормального росту і розвитку клітин. Біотин стимулює синтез і інших вітамінів групи В – фолієвої кислоти, пантотенової кислоти, ціанокобаламіну. Приймає участь в синтезі пуринових нуклеотидів, є джерелом сірки, яка бере участь у синтезі білка гемоглобіну та колагену, що

зумовлює доцільність його додаткового введення в організм для прискорення репаративних процесів [81, 142].

Лікування мікроспорії рекомендують продовжувати до отримання двох негативних результатів при посіві на поживні живильні середовища. Контроль якості проведеної терапії моніторять кожних 7-10 діб [97, 109, 120, 146].

1.8. Імунний захист

Імунітет – це захисна реакція організму, спрямована на підтримку генетичної сталості індивідуума. Ця властивість забезпечується багатьма системами живого організму. Головну роль у захисті макроорганізму від інфекції відіграє система крові [10, 54].

Безпосередніми виконавцями імунних реакцій є лейкоцити або імунокомпетентні клітини. Їх призначення – розпізнавати чужорідні речовини і мікроорганізми, здійснювати боротьбу з ними, а також фіксувати інформацію про них. Лейкоцити є повноцінними клітинами, які містять ядро та інші субклітинні структури [73]. За формою ядра та розміщенням в цитоплазмі різних включень лейкоцити поділяють на п'ять видів, відсоткове співвідношення яких у гематологічному аналізі крові називають лейкограмою.

Зрілі лейкоцити об'єднують п'ять популяцій клітин:

- 1) лімфоцити (Т-кілери, Т-хелпери, Т-супресори, В-лімфоцити);
- 2) нейтрофіли (паличкоядерні і сегментоядерні);
- 3) еозинофіли;
- 4) базофіли;
- 5) моноцити.

Важливим є виділення двох незалежних, але спільно функціонуючих клітинних популяцій в імунній відповіді Т- і В-лімфоцитів, які мають як стимулюючий, так і інгібуючий вплив на імунні реакції.

Нейтрофіли – популяція лейкоцитів, яка є найбільш чисельною групою гранулоцитів. Виконують захисну функцію. Механізми, які вони використовують для виконання свого завдання – фагоцитоз (поїдання чужорідних утворень, таких як бактерії або омертвілі тканини). Синтезують ряд ферментів, які знищують мікроорганізми і хемотаксис – тобто здатність рухатися між клітинами тканин в організмі і цілеспрямовано пересуватися до мікроорганізмів та осередків запалення [63, 125].

Нейтрофіли транспортують у вогнище запалення велику кількість різних ферментів, які відіграють важливу роль у процесах лізису некротизованих тканин. Можуть екстрагувати в кров речовини, які володіють антитоксичними властивостями, а також пірогени, що викликають підвищення температури та речовини, які підтримують запальний процес. В запальному процесі нейтрофіли беруть участь в формуванні фібринових тромбів та їх видаленні – фібринолізі.

Підвищується кількість нейтрофілів при бактерійних, грибкових, паразитарних інфекціях, запаленнях, інтоксикаціях, нирковій та печінковій недостатності, злоякісних пухлинах. Знижується при деяких вірусних інфекціях за хронічного перебігу, при хворобах кісткового мозку, генетичних порушеннях імунітету [54, 74, 90].

Еозинофіли – форма лейкоцитів, з родини гранулоцитів. Вони як і інші форми лейкоцитів, захищають організм за допомогою фагоцитозу (поглинання чужорідних організмів) та інших механізмів, властивих нейтрофілам. Характерною їх особливістю є активна участь в алергічних реакціях.

Еозинофіли зменшують біологічну активність гістаміну, який «запускає» алергійну реакцію. Гістамін викликає спазм гладких м'язів, розширення капілярів, спричиняє набряк навколишніх тканин і згущення крові, активує виділення адреналіну. Для зменшення активності гістаміну еозинофіли виділяють – гістаміназу. Самі вони його не синтезують, але мають здатність накопичувати гістамін, який продукується іншими

клітинами, наприклад базофілами. Крім того еозинофіли виробляють білок, що гальмує виділення гістаміну з базофілів і гладких клітин [12]. Дають відповідь на хемотоксичні фактори, які виділяються гладкими клітинами і базофілами, а також на імунний комплекс антиген-антитіло. Дія еозинофілів активно проявляється в сенсibiliзованих тканинах. Вони приєднуються до реакції гіперчутливості негайного та уповільненого типу.

Базофіли – клітини крові, що належать до гранулоцитів і мають зернисту цитоплазму. Це невеликі клітини з посегментованими ядрами, нездатні до розмноження.

Реакції гіперчутливості негайного типу є головною функцією базофілів. Також вони беруть участь у реакціях гіперчутливості сповільненого типу, що відбувається через лімфоцити та у запальних, реакціях алергізації, в регуляції перфузії судинної стінки [8].

Моноцити – одна з форм лейкоцитів, яка разом з лімфоцитами належить до родини агранулоцитів. Найбільші за розмірами клітини серед лейкоцитів. Їм належить найважливіша роль у фагоцитозі – процесі поглинання твердих часток і мікроорганізмів. Проникаючи у вогнище запалення вони знищують мікроорганізми, зруйновану тканину, залишки мертвих лейкоцитів, тим самим очищаючи тканини для їхнього наступного відновлення. Також моноцити беруть участь у регуляції процесів кровотворення, імунній відповіді, згортанні крові, перетвореннях жирів і заліза [8, 137].

Моноцитоз є показником розвитку імунних процесів, але тільки за умови збільшення абсолютного числа моноцитів, а не за рахунок нейтропенії [5].

Всі клітини імунної системи є похідними від єдиної клітини-попередниці – поліпотентної гемопоетичної стовбурової клітини. Під впливом різних факторів росту відбувається диференціація цих клітин. Клітини, що утворилися, різняться між собою наявністю різних поверхневих маркерів – певних молекул, які формують фенотип клітини, в тому числі

імунокомпетентних клітин. Ці молекули утворюють антигени, які можуть бути виявлені за допомогою групи специфічних моноклональних антитіл (МКА) [87, 169].

Перебіг більшості захворювань напряду залежить від вихідного імунного статусу організму. Лейкоцити виконують функцію захисту організму від проникнення агентів, які викликають хворобу. При пошкодженні шкіри вони просуваються із судин у тканини, де поглинають мікробні клітини та перетравлюють їх. Мають високу ферментативну активність та виділяють речовини, які знешкоджують токсини [32, 58, 73].

На перше потрапляння антигенів початкова реакція як відповідь розвивається відносно повільно. Це відбувається через те, що досить висока концентрація антитіл накопичується через 2-3 тижні та перебуває в крові порівняно недовго – кілька тижнів. Ці процеси різко прискорюються у разі повторного потрапляння антигенів. Досить велика кількість антитіл з'являється вже за кілька годин (дїб) і антигени швидко нейтралізуються. Антитіла в організмі можуть перебувати впродовж більш тривалого часу, ніж антитіла після першої імунізації [62].

Клітинами імунної системи, які виконують основні функції по здійсненні набутого імунітету є лімфоцити, які є підтипом лейкоцитів. Вони можуть визначати збудників інфекції всередині або поза клітинами, в тканинах або крові [92].

Лімфоцити є центральною ланкою імунної системи, забезпечуючи захист від всього чужорідного для організму і сталість внутрішнього середовища та знешкоджують власні мутовані клітини. Походять із поліпотентної стовбурової клітини кісткового мозку, а дозрівають й диференціюються в тимусі з попередників (пре-Т лімфоцитів).

Види лімфоцитів:

Тимусозалежні – Т-лімфоцити (40-70%);

Бурсазалежні – В-лімфоцити (20-30%);

Нульові – О-лімфоцити (10-20%).

Утворюються в червоному кістковому мозку, а їх диференціація проходить у первинних лімфатичних органах. Попадають у кров'яне русло і розміщуються у вторинних лімфатичних органах: лімфатичних вузлах, селезінці, лімфатичній тканині шлунково кишкового тракту, дихальних шляхів, шкірі, де проходить проліферація лімфоцитів у відповідь на проникнення в організм чужорідного агенту [68, 84].

Місцева запальна реакція на шкірі за перебігу мікроспорії характеризується набряком, почервонінням, незначним підвищенням місцевої температури, порушенням функції. Також відмічається свербіж уражених ділянок [32, 90].

Під час переходу імунної відповіді у лімфоцитарну фазу в клінічному прояві відмічається пригнічення запалення. Це відбувається на фоні підвищення рівня лімфоцитів, що можна пояснити функціональними властивостями імунокомпетентних клітин. Реакції лімфоцитів сприяють роботі факторів природньої опірності специфічного процесу виявлення патогенів. Як наслідок, відповідь імунітету стає більш точною та ефективною. Неблагоприятним фактором для прогнозування, який свідчить про те, що сформовані імунні клітини не здатні забезпечити свою функцію є перехід нейтрофільної фази на лімфоцитарну без супроводу прогресуючого зниження симптомів запалення [3, 12, 17].

Визначення вмісту основних субпопуляцій лімфоцитів має діагностичне значення при первинних та вторинних імунодефіцитах, проліферативних та інфекційних захворюваннях, які виникають на фоні зниження функціональної здатності імунної системи. Кількість активованих Т-лімфоцитів може підвищуватися при імунній активації, що викликана інфекцією. Також ідентифікація субпопуляцій може застосовуватися для оцінки тривалості, важкості перебігу та прогнозу захворювання чи оцінки ефективності якості проведеного лікування. Фенотипування лімфоцитів дає можливість моніторингу стану імунної системи за перебігу тої чи іншої патології [55, 133].

T кілери знешкоджують клітини, які несуть антиген. Приблизно 3% кров'яних лімфоцитів мають гранульозну цитоплазму і тому їх називають НК або великими гранулярними лімфоцитами. Багато бактерійних, грибкових і майже всі вірусні інфекції збуджують Т лімфоцити і запускають утворення клітинної імунності. Активовані Т лімфоцити продукують хімотоксичний фактор, яким притягують макрофаги до місця інфекції, міграцію стимулюючий фактор (MIF), що концентрує макрофаги в місцях інфекції та збільшує їх метаболізм. Внаслідок цього збільшується кількість Т лімфоцитів і вбивчих НК клітин. Підвищення кількості цих клітин свідчить про наявність вогнища антигенного подразнення. У гострому періоді інфекційного захворювання і протягом 1-2 місяців після нього таке підвищення слід оцінювати як природне. Але в інших ситуаціях воно вказує на наявність хронічного запалення [12, 105, 107].

T-хелпери розпізнають антиген, співпрацюють з В-лімфоцитами і забезпечують їх перетворення на плазматичні клітини. Це допоміжні клітини для Влімфоцитів; вони є головним двигуном в імунних реакціях; допомагають В лімфоцитам в імунних реакціях до Т-клітинозалежних агентів. Крім цієї допоміжної ролі Т-хелпери продукують лімфокіни, якими регулюють імунні дії макрофагів у повільній гіперсенситивності і протимікробній імунності [76, 126]. Вони приймають участь у всіх імунних реакціях (гуморальних і клітинних), але самі антитіл не утворюють.

Т-хелпери беруть участь в індукції специфічної імунної відповіді, підсилюючи адаптивну імунну відповідь [20, 54].

Динамічна рівновага функцій Т-хелперних клітин забезпечує велику гнучкість імунної відповіді, а їх дисбаланс сприяє розвитку інфекційних захворювань. Індекс імунорегуляції у період збільшення і зниження клінічних симптомів сягає високих показників за рахунок великої відсоткової концентрації Т-хелперів, тобто CD4⁺Т-клітин. У період реконвалесценції значення цього показника зменшується, що пояснюється зростанням рівня CD8⁺Т-клітин (кілерів). Порушення цієї закономірності є ознакою

неадекватної імунної реакції та вказує про можливість формування хронічної інфекції шляхом неповної ерадикації збудника [36, 82].

T-супресори (цитотоксичні лімфоцити) або блокатори мають здатність пригнічувати надмірну активність Т- і В-лімфоцитів, формування антитіл, чим попереджають надмірну імунну відповідь. Тим самим вони попереджують надмірні імунні реакції. Т-супресори забезпечують утворення імунологічної толерантності, тобто ареаактивності як до власних антигенів так і до тих, з якими вже був контакт та саморегуляцію системи імунітету. Кількість цитотоксичних лімфоцитів за перебігу дерматологічних захворювань зменшується, але деякі автори відмічають загальну кількість Т-лімфоцитів та субпопуляцій Т-клітин в нормі. При тому зберігається їх звичайне співвідношення [86]. Ймовірно, що в таких випадках реактогенні властивості організму змінюються локально, безпосередньо в шкірі.

T-лімфоцити пам'яті – зберігають пам'ять про контакт з антигеном, що забезпечує ефективнішу організацію імунної відповіді при повторній зустрічі з ним [150].

В-лімфоцити або В-клітини – це один із видів лімфоцитів, які здійснюють специфічну гуморальну імунну відповідь. Вони презентують антигени Т-клітинам та синтезують антитіла. У більшості ссавців ці клітини дозрівають у кістковому мозку. В-лімфоцити певного клону мігрують у вторинні лімфатичні органи внаслідок взаємодії з антигеном. Там вони розмножуються та перетворюються у плазматичні клітини, які мають здатність виробляти 5 класів імуноглобулінів: IgM, IgG, IgE, IgA, IgD [37, 70, 84].

Проникнення антигену в організм тварин, зокрема збудника мікроспорії, стимулюють реакції, які завершуються продукцією антитіл В-лімфоцитами та продукцією лімфокінів Т-лімфоцитами [173]. Крім Т- і В-лімфоцитів в імунному процесі беруть участь й інші клітини. Зокрема, активні макрофаги, які розбивають антиген до імунних епітопів (визначальних груп), що спонукають Т-і В-лімфоцити до імунної дії.

Продуковані макрофагами епітопи знаходять В-лімфоцити із специфічними для них антитілами, з якими з'єднуються, оскільки В-лімфоцити мають на своїх поверхнях антитіла до всіх можливих епітопів. Ці сполуки активують В-лімфоцити. Стимульовані лімфоцити швидко розмножуються, трансформуються в плазматичні клітини та утворюють клони клітин, а кожен клон продукує антитіла з однаковою специфічністю. За допомогою міжклітинного контакту Т лімфоцити допомагають В лімфоцитам в їх реакціях до складних, Т-залежних антигенів. Інколи антигенну стимуляцію В лімфоцитів називають моноклональною, бо лише В клітини, які носять специфічні антитіла, утворюють клони [10, 82]. Поліклональну стимуляцію, в якій всі В і Т лімфоцити стимульовані до імунної готовності можна впровадувати за допомогою мітогенів. Мітогени – речовини, які збільшують інтенсивність мітозів. Як стимулятори бласттрансформації в практиці найбільш часто використовують рослинні мітогени. Саме тому широко використовуються натуральні імуностимулятори, які на відміну від синтетичних, не чинять токсичного впливу на організм і характеризуються мінімальним ризиком розвитку побічних реакцій [20, 127, 143].

Цим вимогам повністю відповідають засоби на основі бета-глюканів. Крім активації фагоцитарної функції макрофагів, бета-глюкани за допомогою тих же макрофагів потенціюють синтез медіаторів і біологічно активних субстанцій – лімфокінів, інтерферонів, імуноглобулінів. За впливу бета-глюканів підвищується концентрація імуноглобуліну А у плазмі крові, що забезпечує місцевий імунітет. Бета-глюкани мають регуляційний вплив на всі субпопуляції лейкоцитів, а значить, і на імунну систему. Не піддаються ферментативній фрагментації в шлунково-кишковому тракті, захоплюються клітинами слизової оболонки кишечника і активно переносяться у підслизовий шар, де активують макрофаги, а через них лімфоцити, відповідальні за захист ендотелію, тобто за місцевий імунітет. Завдяки механізму репопуляції активовані лімфоцити з слизової оболонки кишечника

дисемінують у слизові оболонки різних органів, забезпечуючи захист їх від інфекцій [13, 88].

На поверхні макрофагів, які зв'язуються тільки з нерозгалуженою ділянкою молекули бета-глюкану, відбувається активація макрофагів й реалізується імунний захист організму. Активується фагоцитарна функція макрофагів та посилено синтезуються і вивільняються цитокіни, які є сигналом для інших клітин імунної системи, зокрема Т-лімфоцитів, фактора росту епідермальних клітин. Частина бета-глюканів через ворітну вену потрапляють у печінку, де захоплюються клітинами Купфера, які у відповідь на взаємодію з полісахаридами виділяють цитокіни, що активують системний імунітет. Отже, бета-глюкани активують як місцевий імунітет (захист організму від вторгнень антигенів), так і системний імунітет (знищення чужорідного генетичного матеріалу і відновлення імунного гомеостазу) [85, 89, 127].

Висновки до розділу 1

Узагальнення літературних даних свідчить про те, що базовим агентом в етіології мікроспорії є гриб – *Microsporium canis*. Виникненню та поширенню хвороби сприяють скупчене утримання тварин та погана годівля, ослаблений імунітет, стреси, травми шкірного покриву, які за наявності збудника являють собою пусковий механізм у виникненні захворювання. Основним джерелом збудника інфекції є коти.

Microsporium canis має здатність тривалий час зберігатися в навколишньому середовищі та викликати захворювання у котів на фоні зниження протекторної функції імунної системи. В свою чергу лікування потребує комплексного підходу і націлене на попередження розповсюдження збудника та активізації захисних сил організму.

Враховуючи контагіозність захворювання та здатність збудника знаходитися на поверхні тіла котів, викликаючи клінічний прояв лише за сприятливих умов в організмі перед нами постало питання вивчити

імунологічні, гематологічні та гістологічні зміни за перебігу мікроспорії у котів та розробити препарати для комплексного лікування цього захворювання – протигрибковий засіб «Мікромар» та імуномодулятор «Біоглюк».

Протигрибковий засіб «Мікромар» на основі клотримазолу та повідон-йоду дасть можливість проводити лікувально-профілактичні обробки тіла тварини з метою запобігання розповсюдження спор збудника мікроспорії в зовнішньому середовищі, прискорення періоду одужання тварини. Вибір клотримазолу як основної діючої речовини обумовлений тим, що вторинна резистентність грибків до групи азолів розвивається вкрай рідко. Повідон-йод має пролонговані антисептичні властивості завдяки атомарному йоду та полімеру полівілпіролідону, який подовжує дію йоду на поверхні шкіри хворої тварини. Тому, в комплексі ці діючі речовини (клотримазол та повідон-йод) забезпечать не лише прискорення періоду одужання, але і попередять виникнення ускладнень з боку вторинних піодермій.

Імуномодулятор «Біоглюк» включає комбінацію бета-глюкану і біотину. Бета-глюкан посилює місцевий імунітет, уберігаючи організм від вторгнення антигенів і системний імунітет, що призводить до руйнування вже прониклого всередину організму чужерідного генетичного матеріалу та відновлення імунного гомеостазу. Крім цього бета-глюкан є сильнодіючим антиоксидантом. Біотин в свою стимулює синтез колагену, завдяки цьому він покращує якість шерстяного покриву у тварин та сприяє прискоренню регенерації ушкодженого волосу, що є актуальним при мікроспорії.

РОЗДІЛ 2

ЗАГАЛЬНА МЕТОДИКА ТА ОСНОВНІ МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1. Матеріали досліджень

Дисертаційна робота виконувалася в період з 2018 по 2022 рр. на базі Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького, Державного науково-дослідного контрольного інституту ветеринарних препаратів та кормових добавок, Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського та приватної ветеринарної клініки «Імпульс» м. Львова. В умовах віварію Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського проводилися дослідження на лабораторних тваринах. Мікробіологічні дослідження проведені в лабораторії санітарно-епідеміологічного загону при клінічному госпіталі Державної прикордонної служби України (військова частина 2522) м. Львова. Гематологічні та імунологічні дослідження крові в лабораторії приватної ветеринарної клініки «Імпульс» міста Львова. Гістологічні дослідження у лабораторії клініко-біологічних досліджень Державного науково-дослідного контрольного інституту ветеринарних препаратів а кормових добавок. Дослідження на здорових і хворих мікроспорією котах проводились в приватній ветеринарній клініці «Імпульс».

При роботі з дослідними тваринами дотримувались загальних принципів проведення експериментів та усіх біоетичних вимог Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, від 18 березня 1986 року) та вимог ст. 26 Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» від 21.02.2006 р. №3447-IV, гуманного ставлення до тварин згідно з «Рекомендаціями з дотримання біотичних норм та вимог Міжнародного комітету по науці.

Дослідження проведені на 56 мурчаках, 75 білих щурах, 30 білих мишах, 3 кролях і 34 котах.

Експериментальна частина роботи включає, згідно загальної схеми проведених досліджень на рис. 2.1., три етапи.

На першому етапі проводили розробку протигрибкового засобу "Мікромар" та імуностимулятора "Біоглюк".

Первинна діагностика та забір матеріалу від хворих мікроспорією котів проводився в приватній ветеринарній клініці «Імпульс», де відібрали патматеріал, який помістили на середовище для дерматофітів «ДЕРМАКІТ» і впродовж 3-5 діб отримали чисту культуру збудника.

З отриманої чистої культури *Microsporum canis* було проведено забір в стерильну транспортну пробірку для подальших досліджень в мікробіологічній лабораторії на щільних поживних середовищах.

Для внесення різних концентрацій клотримазолу та повідон-йоду в сухо-жаровій шафі були підготовлені стерильні диски з фільтрувального паперу, які знаходилися в крафт пакеті при температурі 120°C – 45 хвилин. Для проведення досліду було обрано техніку поверхневого посіву на кров'яному агарі в чашці Петрі. З отриманої культури готували суспензію для визначення чутливості збудника *Microsporum canis* до клотримазолу та повідон-йоду. Отриману суспензію вносили на агар Мюллера-Хінтона.

Для визначення активності антибактеріальних препаратів використовувався диско-дифузійний метод.

При розробці імуностимулятора "Біоглюк" в умовах кафедри епізоотології Львівсько-національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького проведені дослідження імуностимулюючої дії бета-глюкану за умови медикаментозної імуносупресії на 20-и здорових мурчаках, з яких було сформовано одна контрольна і три дослідні групи (1-а дослідна група – імуносупресія без імуностимулятора; 2-а дослідна група – без імуносупресії з імуностимулятором; 3-я дослідна група – імуносупресія з імуностимулятором) по 5 особин в кожній групі.

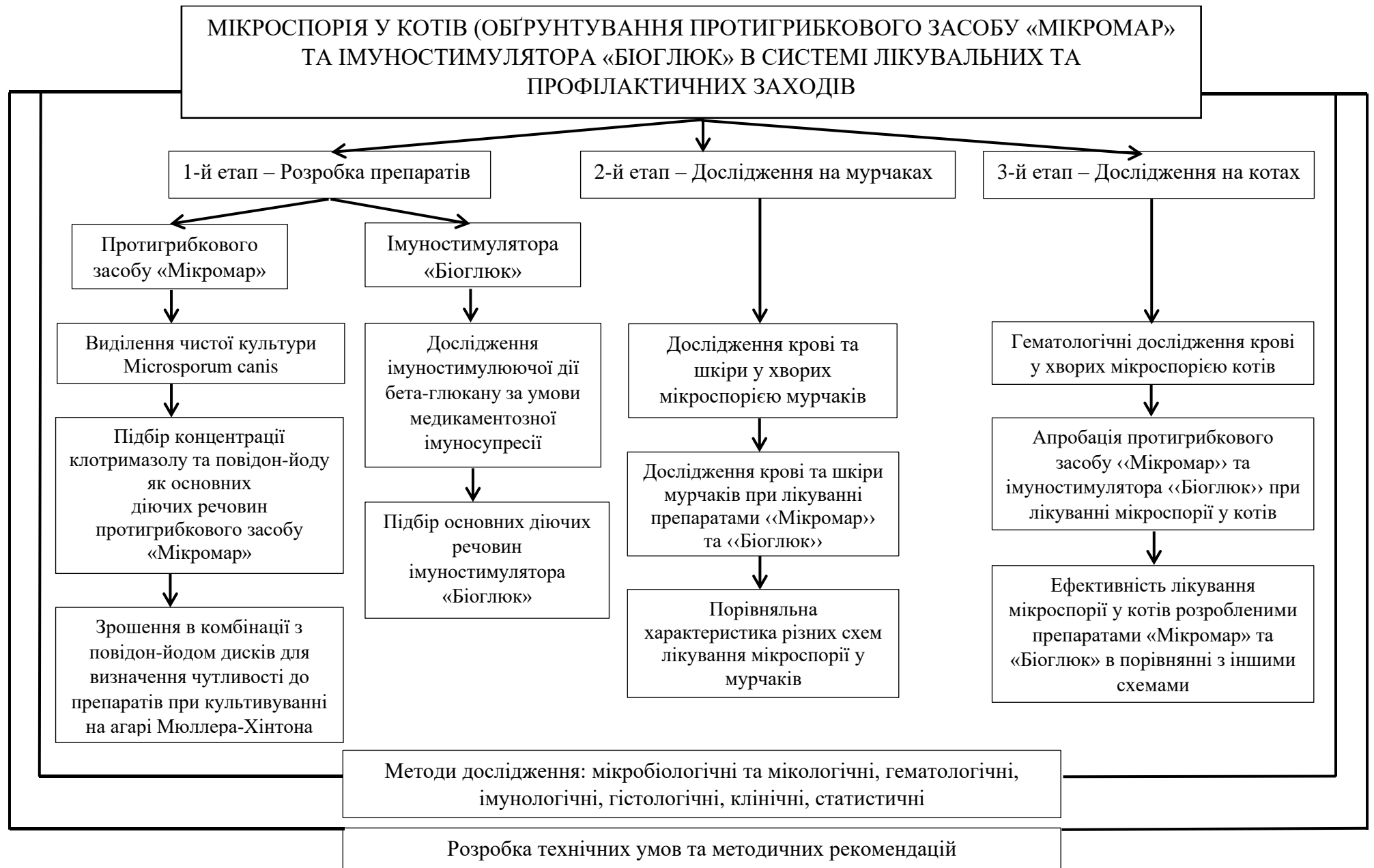


Рис. 2.1. Загальна схема проведення досліджень.

Для проведення імуносупресії використовували кортикостероїдний гормон дексаметазон в дозі 0,5 мг на 1 кг маси тварини, дворазово з інтервалом кожні 7 днів, підшкірно вводився препарат Дексафорт на основі дексаметазону пролонгованої дії виробництва фірми «Intervet Schering-Plough Animal Health» Нідерланди. Як імуностимулятор використовувався Бета-глюкан виготовлений ТОВ «Науково-виробнича компанія «Віларус» Україна в дозах 20-40 мг на кг маси. Препарат задавали методом вipoювання 1 раз в день щодня на протязі 14 діб тваринам після другого введення Дексафарту. Проведена медикаментозна імуносупресія, прийом бета-глюкану та щотижневі забори крові для гематологічних досліджень (*перший забір* крові + перше введення Дексафарту тваринам 1-ї і 3-ї дослідних груп; через 7 днів *другий забір* крові + друге введення Дексафарту тваринам 1-ї і 3-ї дослідних груп + почали парентеральне введення бета-глюкану тваринам 2-ї і 3-ї дослідних груп; через 7 днів *третій забір* крові + продовжили прийом бета-глюкану тваринам 2-ї і 3-ї дослідних груп; через 7 днів *четвертий забір* крові – припинено прийом бета-глюкану; через 7 днів *п'ятий забір* крові). Контрольній групі за період проведення експерименту задавали перорально 0,9% розчин натрію хлориду в дозі 1мл на 1 кг маси тіла. Гематологічні дослідження проводили в лабораторії шпиталю імені Митрополита Андрія Шептицького міста Львова [44].

Визначення параметрів гострої токсичності протигрибкового засобу «Мікромар» за внутрішньошлункового введення проводили на білих щурах віком 2-3 місяці, масою тіла 180-200г. Нашкірне застосування препарату «Мікромар» проводили з метою встановлення його шкірно-резорбтивної дії, оскільки препарат рекомендовано для місцевого використання на уражені ділянки шкіри при дерматомікозах. Дослідження проведено на білих щурах 3-4 місячного віку, масою тіла 200-220 г. Визначення параметрів гострої токсичності імуностимулятора «Біоглюк» проводили на білих мишах 2-3-місячного віку, масою тіла 19-22г та білих щурах, вік яких складав 2-3 місяці,

масою тіла 180-200г. Для визначення подразнюючої дії на слизову оболонку ока використовували кролів-альбіносів.

На другому етапі дослідження проведені на мурчаках з метою з'ясування імунної реактивності організму за перебігу мікроспорії, ефективності лікування мікроспорії препаратами «Мікромар» і «Біоглюк» та порівняльна характеристика різних методів лікування мікроспорії.

Для з'ясування імунної реактивності організму при мікроспорії проведені дослідження на мурчаках інфікованих збудником *Microsporium canis*. Було сформовано 2 групи тварин по 6 мурчаків в кожній (здорові і заражені). Зараження відбувалося шляхом внесення суспензії збудника *Microsporium canis* на скарифіковану стерильним лезом ділянку шкіри. Суспензію збудника готували з колоній *Microsporium canis* культивованих на середовищі DERMAKIT до 10 днів при температурі 25°C. Колонії обережно зішкребали з поверхні культурального середовища та поміщали в пробірки зі стерильним розчином 0,9% натрію хлориду об'ємом 20 мл. Шляхом розтирання формували гомогенну суспензію та наносили її по 0,4 мл на ділянку скарифікованої шкіри діаметром 4×4 см. Інокулят регулювали до 10⁶ спор *Microsporium canis*/мл. Матеріал для досліджень (кров та зразки шкіри) відбирали у клінічно здорових тварин та у хворих на 21 та 42 день після зараження.

З метою з'ясування ефективності лікування мікроспорії препаратами «Мікромар» і «Біоглюк» були проведені дослідження на заражених мікроспорією мурчаках. Під час лікування для оцінки результатів проводилися дослідження крові та біопсія шкіри на 7,14 та 21 день після початку застосування препаратів. Хворим тваринам наносили препарат «Мікромар» 1 раз на день місцево протягом 21 дня та випоювали 1 раз на день препарат «Біоглюк» 21 день.

Проведено порівняльну оцінку трьох схем лікування мікроспорії на мурчаках. Перша схема лікування включала терапію системним протигрибковим препаратом ітраконазол в дозі 5-10 мг/кг [118] кожні 24

години на протязі 21 дня [112]. Препарат задавали перорально. Також на ділянки ураження проводили місцеві обробки 1% розчином клотримазолу 1 раз на добу 21 день. По другій схемі проводили місцеві обробки протигрибковим засобом (1% розчин клотримазолу) та вакцинацію протигрибковою вакциною «Вакдерм» дворазово з інтервалом 10-14 діб [23]. По третій схемі наносили препарат «Мікромар» на уражені ділянки шкіри 1 раз на день місцево протягом 21 дня та впоювали 1 раз на день препарат «Біоглюк» 21 день [24, 25].

Первинно були проведені забори крові у здорових тварин та у хворих на 21 та 42 добу після зараження. Під час лікування проводили дослідження крові на 7, 14 та 21 добу та біопсію шкіри на 7 та 14 день після початку застосування препаратів.

Третій етап досліджень полягав у вивченні закономірностей змін картини крові у хворих мікроспорією котів, проведеної апробації розроблених препаратів – протигрибкового засобу "Мікромар" та імуностимулятора "Біоглюк" при лікуванні мікроспорії котів, а також встановлено економічну оцінку їх ефективності. Дослідження гематологічних показників картини крові у хворих мікроспорією котів проведені на 18 котах, з яких було сформовано 1-у контрольну (здорові) і 1-у дослідну (хворі) групи, по 9 котів в кожній.

Апробацію розроблених препаратів – протигрибкового засобу "Мікромар" та імуностимулятора "Біоглюк" при лікуванні мікроспорії проведені на 7 хворих котах. Матеріал для гематологічних і імунологічних показників крові відбирали до лікування і на 21 день лікування. Контроль ефективності лікування проводили оцінюючи візуальні клінічні зміни, гематологічні показники крові та результати бакпосіву на поживне селективне середовище для дерматофітів «DERMAKIT» на 10-й та 20-й день після початку застосування препаратів до одержання двох від'ємних результатів (відсутності росту збудника на поживному середовищі) [165].

При проведенні економічної оцінки ефективності лікування мікроспорії котів препаратами «Мікрмар» та «Біоглюк» в порівнянні з іншими схемами дослідження проведені на 15 хворих мікроспорією котах, які були поділені на 3 дослідні групи.

На підставі одержаних даних розробили Технічні умови України: «Розчин «Мікрмар» для лікування дерматофітних інфекцій» [24], «Імуностимулюючий препарат «Біоглюк» [25] і методичні рекомендації «Мікроспорія котів (Діагностика, лікування, профілактика та заходи боротьби)» [53].

2.2. Методи досліджень

Діагностику мікроспорії здійснювали шляхом клінічного огляду та епізоотологічного аналізу показників захворювання та за результатами лабораторних досліджень. Для досліджень в умовах клініки використовували ртутно-кварцеву лампу «Вуда» та селективне середовище з рН індикатором «DERMAKIT» фірми Biorpronix.

Методика проведення дослідження на селективному середовищі для дерматофітів «DERMAKIT». Забір лусок та шерсті з межі пошкодження проводили з допомогою стерильного леза скальпеля. Відібраний матеріал поміщали на поверхню середовища «DERMAKIT», не занурюючи в нього. Закрили пробірку, щільно не закупорюючи її, щоб попередити утворення вологи, яка може вплинути на результати дослідження. Витримували при кімнатній температурі 22-25°C протягом періоду тестування. Щоденно проводилися перевірки росту колонії та зміни кольору середовища. По макроскопічним характеристикам колонії ідентифікували збудника *Microsporum canis*. Колонії мають пухнастий міцелій сіро-білого кольору з чіткою демаркаційною лінією по периферії. [165].

З отриманої чистої культури *Microsporum canis* було проведено забір в стерильну транспортну пробірку для подальших досліджень в мікробіологічній лабораторії на щільних поживних середовищах: агар Сабуро, кров'яний агар, агар Мюллера-Хінтона для фунгіцидів.

Агар Сабуро. Метод приготування. 62 г агару внесли у 1 л. очищеної води, розмішали, прокип'ятили до повного розплавлення агару протягом 2-3 хвилин, профільтрували через ватно-марлевий фільтр. Розлили у стерильний посуд, провели стерилізацію в автоклаві протягом 15 хв. при температурі 121°C. Охолодили середовище до температури 47°C, розлили по 25 мл. в стерильні чашки Петрі. Після застигання, дотримуючись правил асептики, середовище підсушили за температури 33°C протягом 40 хвилин [52].

Кров'яний агар. Метод приготування. 34г агару ретельно розмішали при нагріванні в 1 л. очищеної води, кип'ятіння 2-3 хв. до повного розплавлення агару, розлили у відповідний посуд. Далі провели стерилізацію насиченою паром під тиском 121°C 15 хв. у паровому стерилізаторі, охолодили середовище до 45°C і асептично змішали із стерильною дефібринованою кров'ю. Утворилося середовище, що відповідає 1,5% агаровому гелю. Середовище розлили у стерильні чашки Петрі по 20 мл, охолодили до застигання і підсушили, дотримуючись правил асептики [51].

Агар Мюллера-Хінтона для фунгіцидів. Метод приготування. 54 г агару ретельно розмішали при нагріванні в 1 л. очищеної води, кип'ятіння 2-3 хв. до повного розплавлення агару. Розлили у відповідний посуд, простерилізували паром під тиском при 121°C 15 хв. у паровому стерилізаторі. Середовище розлили у стерильні чашки Петрі по 20 мл., охолодили до застигання та підсушили дотримуючись правил асептики [50].

Для внесення різних концентрацій клотримазолу та повідон-йоду були підготовлені стерильні диски з фільтрувального паперу в сухо-жаровій шафі, які знаходилися в крафт пакеті при температурі 120°C – 45 хвилин.

Техніка поверхневого посіву на щільні поживні середовища в чашці Петрі:

1. Шпатель вийняли з паперу і взяли його у праву руку;
2. Відкрили лівою рукою кришку чашки Петрі і внесли у неї шпатель;
3. На тверде середовище нанесли бак петлею краплю посівного матеріалу і потім розпроділили його на поверхні, користуючись стерильним

шпателем Дригальського.

4. Використали одну чашку, розділивши її на сектори і послідовно засівали їх штрихом (метод виснаженого штриха). Для цього спочатку засіяли поверхню першого сектора, а потім послідовно засіяли всі інші сектори клітинами, що залишилися на петлі. З кожним наступним штрихом відбувається зменшення кількості клітин, що засіваються;

5. Перенесли шпатель у посудину з дезінфікуючим розчином;

6. Висіяні культури культивували в термостаті при температурі 37°C.

З отриманої культури приготували суспензію для визначення чутливості збудника *Microsporium canis* до клотримазолу та повідон-йоду. Відібрали 3-5 однотипних ізольованих колоній, що вирости на поживних середовищах після інкубації. Незначну кількість матеріалу помістили в пробірку з стерильним фізіологічним розчином (4-5 мл). Отриману суспензію внесли на поживне середовище в чашку Петрі.

Диско-дифузійний метод. Чашку Петрі поділили на сектори. В кожен з секторів на поверхню середовища внесли паперові диски просочені клотримазолом та повідон-йодом різної концентрації. Пригнічення росту відбувається в результаті дифузії (впливу) антибактеріального препарату зі збудником, який внесли на поживне середовище. Диско-дифузійний метод дає можливість оцінити антибактеріальну активність досліджуваних речовин (клотримазолу та повідон-йоду). Результатом дослідження є критерій чутливості: чутливий (затримка росту – 1,5-2 мм), помірно-стійкий (0,05-1 мм), резистентний (відсутність затримки росту) [29, 42].

Визначення параметрів гострої токсичності протигрибкового засобу «Мікромар» за внутрішньошлункового введення через зонд проводили на білих щурах. З цією метою в орієнтовному досліді препарат «Мікромар» застосовували у діапазоні доз: 500, 1000, 1500 та 2000 мг/кг маси тіла, при цьому на кожну дозу даного препарату було використано по три тварини. При проведенні розгорнутого досліді за принципом аналогів було сформовано 6 груп, в кожній з яких по 6 тварин. Щурам дослідних груп протигрибковий

засіб «Мікромар» застосовували у дозах 500, 600, 700, 800, 900 та 1000 мг/кг маси тіла. На основі отриманих даних середньосмертельну дозу препарату визначали методом Г. Кербера. Препарат задавали зранку на голодний шлунок, внутрішньошлунково, одноразово, за допомогою зонда [175, 178].

Визначення параметрів гострої токсичності протигрибкового засобу «Мікромар» за наскірного застосування проводили на білих щурах. При цьому за день перед початком експерименту, проводили обстригання шерсті в ділянці спини, що складає не менше ніж 10% від загальної площі поверхні тіла тварин. З цією метою в орієнтовному досліді засіб «Мікромар» наносили в діапазоні доз 50, 500, 1500 та 2500 мг/кг маси тіла, при цьому на кожну дозу препарату «Мікромар» використовували по три тварини. Для підтвердження отриманих результатів, через відсутність загибелі тварин в орієнтовному досліді, був проведений розгорнутий дослід, де «Мікромар» наносили у дозах 1500 та 2500 мг/кг маси тіла одноразово на шкіру тварин [175].

Після нанесення протигрибкового засобу «Мікромар» за лабораторними тваринами спостерігали на протязі 14 днів. При цьому брали до уваги такі показники: поведінку та зовнішній вигляд тварин, стан шерсті і видимих слизових оболонок, апетит, частоту дихальних рухів, час появи та характер прояву інтоксикації, її ступінь важкості та перебіг, час загибелі тварин або їх одужання.

Визначення гострої токсичності імуностимулятора «Біоглюк» на білих мишах проводили за внутрішньошлункового його введення. В орієнтовному досліді даний препарат застосовували у наступних дозах: 500, 1000, 3000 та 5000 мг/кг маси тіла, при цьому на кожну дозу препарату було використано по три тварини. При проведенні розширеного досліді було сформовано за принципом аналогів 2 групи по 6 лабораторних тварин в кожній. Тваринам, що були в контрольній групі застосовували 5% розчин глюкози, тваринам дослідної групи імуностимулятор «Біоглюк» застосовували у дозі 5000 мг/кг маси тіла. Імуностимулятор «Біоглюк» у дозі 5000мг/кг маси тіла тварини було повторно введено подвійній кількості тварин. Вводили зранку на

голодний шлунок, одноразово, внутрішньошлунково, за допомогою шприца з зондом [175, 178].

Після введення імуностимулятора «Біоглюк», спостереження за лабораторними тваринами вели протягом 14 днів. При цьому враховували наступні показники: поведінку та зовнішній вигляд тварин, стан шерсті та видимих слизових оболонок, апетит, серцевий ритм, частоту дихальних рухів, час появи та характер прояву інтоксикації, її важкість, перебіг, час загибелі або одужання тварин.

Для визначення подразнюючої дії імуностимулятора «Біоглюк» на слизову оболонку ока застосовували 3 кролів-альбіносів. Для цього, перед початком експерименту у дослідних кролів було проведено ретельний огляд очей. Після цього, кожній тварині у кон'юнктивальний мішок лівого ока інстилювали по 0,1 см³ досліджуваного засобу «Біоглюк». Після чого, повіки змикали і витримували протягом 1-2 с, при цьому праве око було контрольним. Після застосування препарату «Біоглюк» повторний огляд проведено через 1, 24, 48, 72 години та до 14 днів з метою встановлення подразнюючої дії. Оцінку подразнюючої дії препарату «Біоглюк» на слизову оболонку очей проводили за появою вираженості почервоніння, припухлості, виділень відповідно до бальної системи, яка подана у таблиці 2.2.1 [176].

Шкірно-резорбтивну дію вивчали на двох групах білих щурів – контрольній і дослідній, по п'ять тварин у кожній. Щурів фіксували у спеціальному станку для лабораторних тварин, а їх хвости занурювали на 2/3 довжини у пробірки з імуностимулятором «Біоглюк». Тваринам контрольної групи хвости занурювали у 0,9 % розчин натрію хлориду [178].

Таблиця 2.2.1

Оцінка шкідливої дії нових речовин на слизові оболонки очей

Показники	Оцінка
А. Гіперемія кон'юнктиви та рогівки	
1. Судини ін'єковані	1 бал
2. Окремі судини погано видно	2 бали
3. Розлите глибоке почервоніння	3 бали
Б. набряк повік	
1. Незначний набряк	1 бал
2. Виражена припухлість з частковим виверненням повік	2 бали
3. У результаті набряку око наполовину закрите	3 бали
4. У результаті набряку око закрите більше, ніж наполовину	4 бали
В. Виділення	
1. Мінімальна кількість в кутику ока	1 бал
2. Кількість виділень, яка зволожує повіки	2 бали
3. Кількість виділень, яка зволожує повіки та шкіру навколо	3 бали

Кількість еритроцитів і лейкоцитів визначали шляхом їх підрахунку в камері Горяєва [29], вміст гемоглобіну гемоглобінціанідним методом [9]. Лейкограму виводили на основі підрахунку та диференціації 100 клітин лейкоцитів у мазках крові, пофарбованих за методикою Романовського-Гімзи.

Гематокритну величину визначали за допомогою гематокритних капілярів шляхом їхнього центрифугування у спеціальній центрифuzі (10 хвилин при 3000 обертів за хвилину), швидкість осідання еритроцитів (протягом 1 години) – з допомогою піпеток Панченкова [18].

Підрахунок абсолютного та відносного вмісту Т- і В-лімфоцитів проводили з допомогою еритроцитарної реакції розеткоутворення. Для Т-лімоцитів та їх субпопуляцій – з еритроцитами барана; для В-лімфоцитів – з еритроцитами миші [9]. Клітини, до яких приєднувалися три і більше

еритроцита вважали розеткоутворювальними. Кров відбирали у мурчаків з периферичних вен вуха, а у котів – з вени передпліччя.

Матеріал для гістологічного дослідження (шматочки шкіри) фіксували в 10-12% охолодженому розчині нейтрального формаліну далі поміщаючи у парафін. Шматочки після фіксації товщиною 2 мм промивали у воді 30 хв. і більше, після чого сушили на фільтрувальному папері та проводили через спирти (75, 96 і 100° для зневоднення і знежирення добу в кожному із спиртів). Далі ксилолом (розчинником парафіну) просочували 1,5 год. З ксилолу шматки вносили у насичений розчин парафіну у ксилолі на 1,5 год. при температурі 37°C. Потім шматочки витримували у розплавленому парафіні при температурі 54-55°C, тобто при температурі на 2-3° вищій, ніж температура плавлення парафіну, до 2 годин у першій порції парафіну і до 2 годин у другій. Після чого їх переносили у порцелянові чашки й заливали розплавленим парафіном, а далі швидко охолоджували у холодильній камері. Після затвердіння парафіну шматочки нарізали разом з парафіном і наклеювали на дерев'яні кубики. Гістозрізи товщиною 5-7 мкм виготовляли на санному мікротомі МС-2. Для морфологічної оцінки клітин і тканин застосовували фарбування гематоксиліном та еозином.

Мікроскопію проводили з допомогою мікроскопа OLIMPUSCX-41. Мікрофотографування з допомогою фотокамери Leica DFC4500C і програмного забезпечення Leica Application Suite Version 4.4.

Розрахунки економічної ефективності застосованих схем лікування мікроспорії котів виконані шляхом вирахування показника коефіцієнт «витрати-ефективність» CER (cost-effectiveness ratio) [27].

Цифровий матеріал статистично опрацьовували за допомогою комп'ютерної програми Excel з пакету "Microsoft Office 2007" з визначенням середнього арифметичного (M), його похибки (m). Вірогідність визначали за t критерієм. Вірогідність отриманих результатів оцінювали за коефіцієнтом Стьюдента [61].

РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

3.1. Розробка протигрибкового засобу «Мікромар»

3.1.1. Виділення чистої культури *Microsporium canis*

Матеріал для дослідження відбирали у хворих мікроспорією котів з локалізованою формою захворювання. Перед забором матеріалу проводили клінічний огляд тварин, які підозрювалися у захворюванні. При огляді було встановлено наявність обмежених алопецій з ознаками обламування волосу в ділянках ураження. Дані ділянки досліджували з допомогою ртутно-кварцевої лампи Вуда в темному полі зору. За наявності яскраво-зеленого флюорисцентного світіння – з даної ділянки проводили забір кірочок, лусочок та волосу на подальше дослідження.

При мікроскопічному дослідженні волосу з уражених ділянок відібраного від хворих мікроспорією 9 котів, які не піддавались лікуванню виявлено спори гриба *Microsporium canis* (рис. 3.1.1.1).

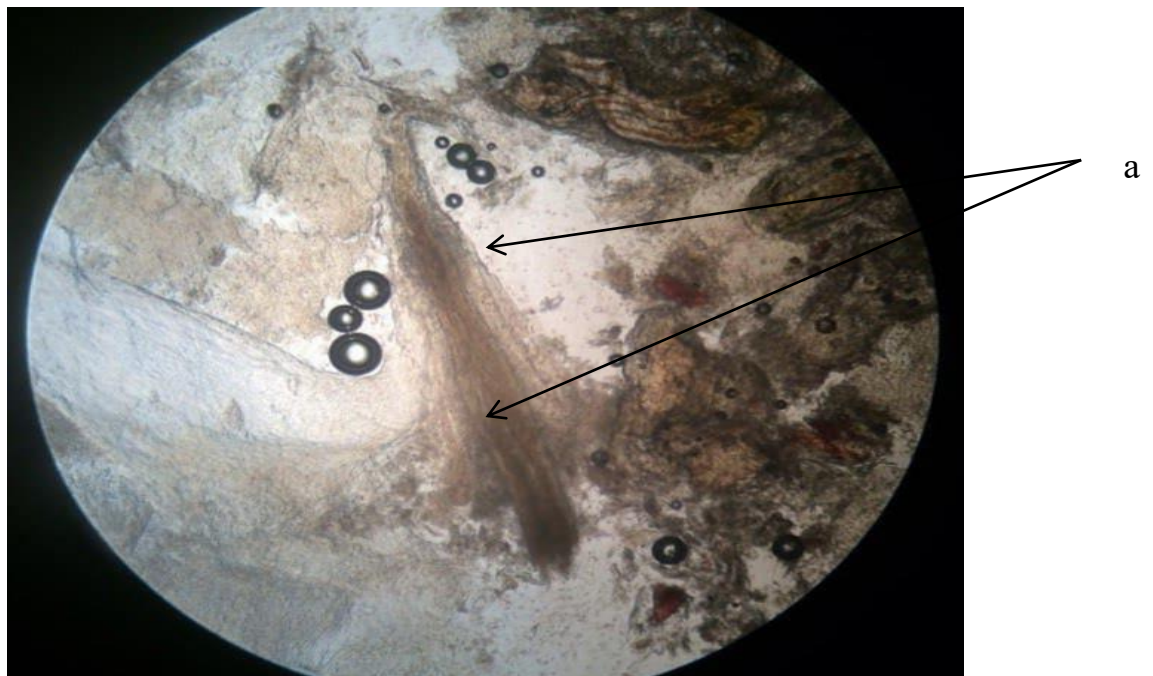


Рис. 3.1.1.1. Нативна мікроскопія
 а – спори гриба *Microsporium canis* навколо обламаного волосу.
 Імерсія 90x10.

Відібраний біоматеріал – лусочки поверхневого щару шкіри та шерсть з уражених ділянок шкіри культивували на селективному середовищі дерматофітів – «DERMAKIT» (рис. 3.1.1.2). Протягом періоду тестування (10 діб) при кімнатній температурі 22-25°C на третю добу відмічено ріст культури гриба *Microsporum canis*. Вже на 7-8 добу після початку культивування можна було ідентифікувати колонії гриба *Microsporum canis* за його макроскопічними морфологічними ознаками, які виростили у вигляді пухнастого міцелію сіро-білого кольору з чіткою демаркаційною лінією по периферії. До 10 дня культивування деякі колонії об'єдналися в конгломерати. При культивуванні відмічено відсутність зміни кольору живильного вередовища, що вказує на відсутність виділення лужних метаболітів збудником *Microsporum canis*.

На сусло-агарі та середовищі Сабуро при температурі 27°C спостерігався ріст на 3-5 добу після посіву у вигляді округлих сірувато-білих колоній з пухнастим міцелієм, що стелиться (рис. 3.1.1.3).



Рис. 3.1.1.2. Культура гриба *Microsporum canis* на селективному середовищі «DERMAKIT»

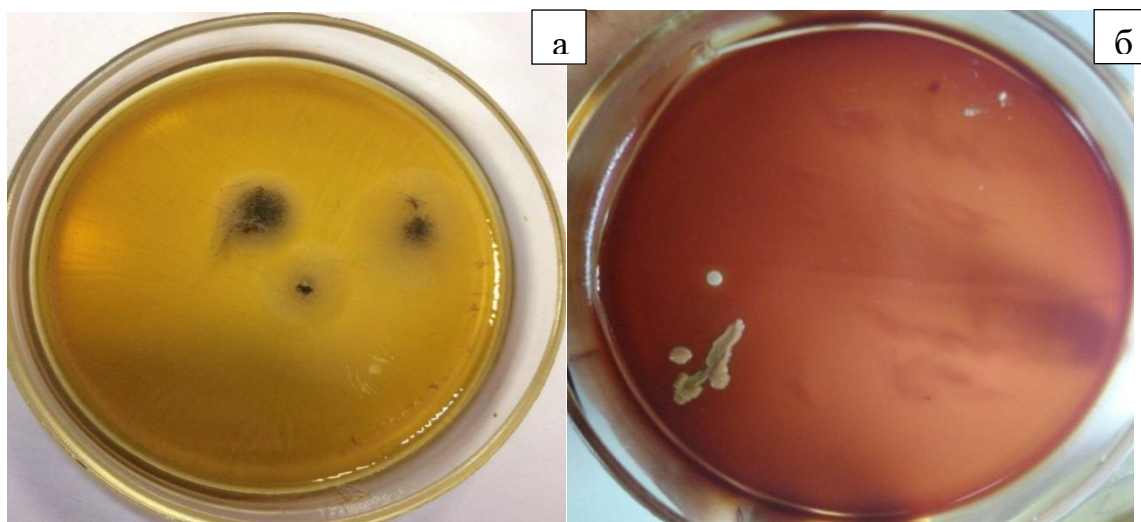


Рис. 3.1.1.3. Культивування збудника *Microsporium canis*
а. Середовище Сабуро. б. Сусло-агар.

При мікроскопії колоній виявили макроконідії (крупні екзоспори грибів), розміщені на нитках міцелію веретеноподібної форми з перегородками (рис. 3.1.1.4).



Рис. 3.1.1.4. *Microsporium canis*
1. Хламідоспори. 2. Макроконідії. 3. Міцелій.
Нативна мікроскопія збільшення S40/0,65.

Отриману чисту культуру використали в подальших дослідженнях для підбору концентрації клотримазолу та повідон-йоду.

3.1.2. Підбір концентрації клотримазолу та повідон-йоду як основних діючих речовин протигрибкового засобу «Мікромар»

Проведені дослідження по визначенню чутливості отриманої культури збудника *Microsporum canis* до клотримазолу та повідон йоду в різних концентраціях. Клотримазол та повідон-йод – основні діючі речовини протигрибкового засобу «Мікромар». Відштовхуючись від загальноприйнятих концентрацій клотримазолу як притигрибкового компоненту було досліджено його активність в різних розведеннях: 0,1%, 0,25%, 0,5% та 1%.

На селективне середовище Мюллера-Хінтона в чашці Петрі рівномірно внесли суспензію збудника *Microsporum canis*, поділили на 4 сектори відповідно концентрації клотримазолу (0,1%, 0,25%, 0,5% та 1%) внесений на паперові диски (Рис. 3.1.2.1.).



Рис.3.1.2.1. Радіус чутливості збудника *Microsporum canis* до клотримазолу на селективному середовищі Мюллера-Хінтона

Встановлена затримка росту культури навколо диска (радіус чутливості) свідчить про протигрибкову активність клотримазолу по відношенню щодо збудника *Microsporium canis*. Проведена оцінка величини мінімальної інгібуючої концентрації при підборі клотримазолу (таблиця 3.1.2.1.) засвідчила, що при концентрації клотримазолу 0,1% радіус чутливості 1 мм, критерій оцінки – помірно-стійкий; при концентрації клотримазолу 0,25% радіус чутливості 1,5 мм, критерій оцінки – чутливий; при концентрації клотримазолу 0,5% радіус чутливості 1,5 мм, критерій оцінки – чутливий; при концентрації клотримазолу 1% радіус чутливості 2 мм, критерій оцінки – чутливий.

Таблиця 3.1.2.1.

Оцінка величини МІК при підборі концентрації клотримазолу.

Середовище Мюллера-Хінтона для фунгіцидів

Концентрація клотримазолу (%)	Радіус чутливості (мм)	Критерії оцінки
0,1	1	Помірно-стійкий
0,25	1,5	Чутливий
0,5	1,5	Чутливий
1	2	Чутливий

МІК – мінімальна інгібуюча концентрація

Беручи до уваги, що ефективність при обох концентраціях 0,25 та 0,5% однакова і становить 1,5мм рекомендовано 0,25% клотримазол як компонент протигрибкового засобу «Мікромар».

Повідон-йод, як антисептичний компонент, має широкий спектр застосування від 1% до 10% розчину. Найменша концентрація повідон-йоду може використовуватися для знезараження слизових оболонок, а найбільша

при асептизації шкіри під час проведення хірургічних втручань. Враховуючи показання до використання повідон-йоду було проведено визначення його чутливості до збудника *Microsporium canis* в наступних концентраціях: 1%, 2,5%, 5%, 7,5% та 10%. Чашку Петрі поділили на 5 секторів в кожен з яких було внесено відповідну концентрацію повідон йоду (Рис.3.1.2.2).

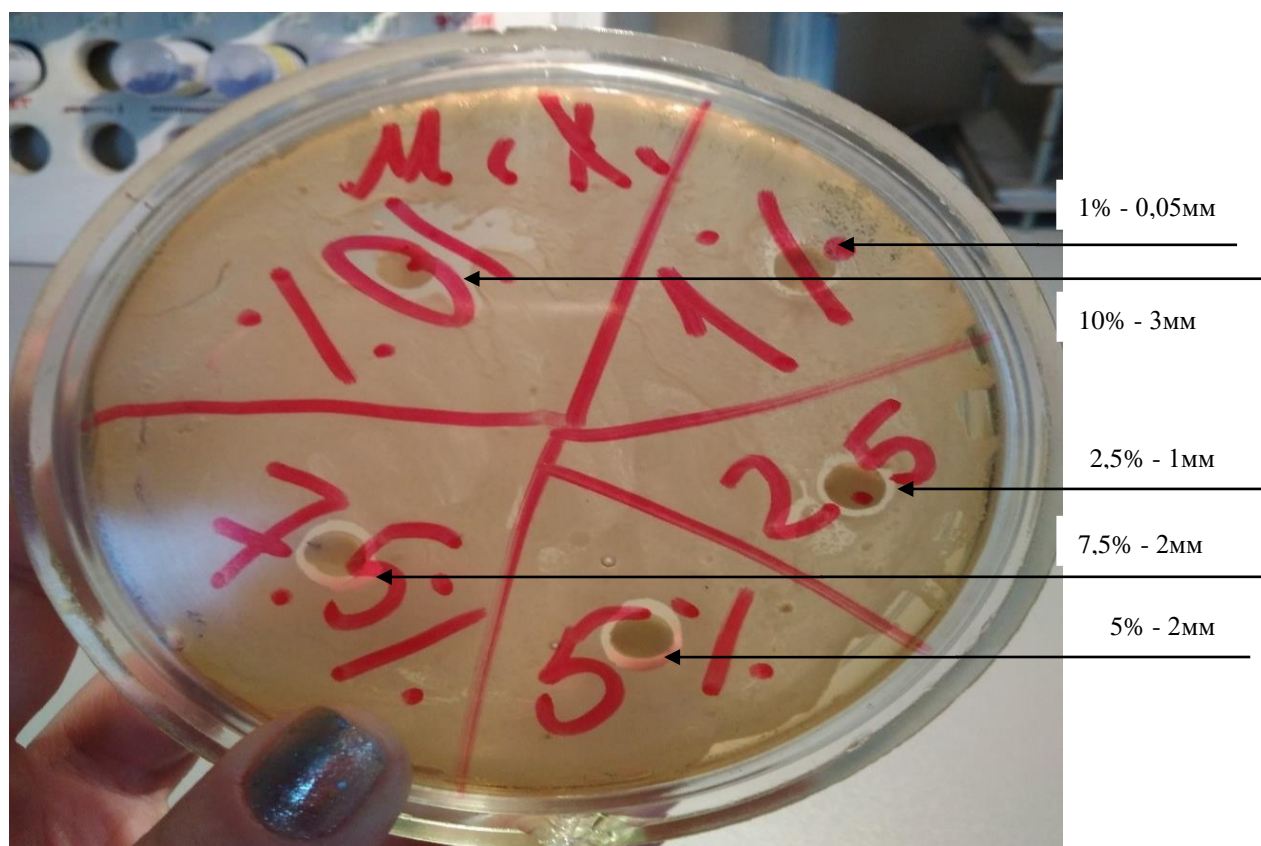


Рис. 3.1.2.2. Радіус чутливості збудника *Microsporium canis* до повідон-йоду на селективному середовищі Мюллера-Хінтона

Встановлена затримка росту культури навколо диска (радіус чутливості) свідчить про протигрибкову активність повідон-йоду по відношенню до збудника *Microsporium canis*. Проведена оцінка величини МІК при підборі концентрації повідон-йоду (таблиця 3.1.2.2.) засвідчила, що при концентрації 1% радіус чутливості 0,05 мм, критерій оцінки – помірно-стійкий; при концентрації 2,5% радіус чутливості 1,0 мм, критерій оцінки –

помірно-стійкий; при концентрації 5% радіус чутливості 2,0 мм, критерій оцінки – чутливий; при концентрації 7,5% радіус чутливості 2,0 мм, критерій оцінки – чутливий; при концентрації 10% радіус чутливості 3,0 мм, критерій оцінки – чутливий.

Таблиця 3.1.2.2

**Оцінка величини МІК при підборі концентрації повідон-йоду.
Средовище Мюллера-Хінтона для фунгіцидів**

Концентрація повідон-йоду (%)	Радіус чутливості (мм)	Критерії оцінки
1	0,05	Помірно-стійкий
2,5	1	Помірно-стійкий
5	2	Чутливий
7,5	2	Чутливий
10	3	Чутливий

Радіус чутливості при концентраціях 5% та 7,5% становить 2,0 мм. Беручи до уваги, що ефективність при обох концентраціях однакова рекомендовано 5% повідон-йод як компонент протигрибкового засобу «Мікромар».

Отже, за результатами вище описаних досліджень можна зробити висновок, що культура грибка *Microsporium canis* чутлива до клотримазолу та повідон-йоду, що підтверджено утворенням радіусу чутливості при внесенні різних концентрацій даних речовин при культивуванні збудника на агарі Мюллера-Хінтона [1, 152]. Чиста культура *Microsporium canis* виявляє чутливість до клотримазолу в концентрації 0,25% та повідон-йоду 5%, які взяті за основу для виготовлення протигрибкового засобу «Мікромар».

В комбінації клотримазол та повідон-йод як основні діючі речовини протигрибкового засобу «Мікромар» дадуть змогу проводити комплексну обробку шкіри котів, хворих мікроспорією. Поєднання цих діючих речовин забезпечить стійку фунгіцидну та пролонговану антибактеріостатичну дію, що попередить виникнення вторинних піодермій при мікроспорії у котів.

3.1.3. Дослідження параметрів гострої токсичності протигрибкового засобу «Мікромар»

Однією з обов'язкових умов у розробці лікарських засобів на етапі доклінічного дослідження є встановлення їхньої токсичності. Тому в нашому дослідженні увагу було акцентовано на вивчення токсичного впливу протигрибкового засобу «Мікромар» на організм тварин, а зокрема встановлення гострої токсичності препарату. Як видно з даних наведених у таблиці 3.1.3.1, внутрішньошлункове застосування препарату «Мікромар» білим щурам у дозі 500 мг/кг маси тіла не викликало захворювання чи загибелі тварин. Тоді як застосування препарату у дозах 600, 700, 800, 900 та 1000 мг/кг спричинило загибель, відповідно 1, 3, 4, 5 та 6 білих щурів, що у відсотках складало 16,7, 50, 66,6, 83,3 та 100%. щурів залучених у досліді.

Таблиця 3.1.3.1

Показники токсичності препарату «Мікромар» на білих щурах

Кількість тварин у групі	Доза препарату, мг/кг	Число загиблих тварин:	
		всього	%
6	500	0	0
6	600	1	16,7
6	700	3	50
6	800	4	66,6
6	900	5	83,3
6	1000	6	100

На основі отриманих результатів провели розрахунок середньосмертельної дози (LD_{50}) протигрибкового засобу «Мікромар» на білих щурах. Результати розрахунку наведено у таблиці 3.1.3.2.

LD_{50} розраховували за формулою (1):

$$LD_{50} = LD_{100} - \Sigma (zd) / m,$$

де: LD_{100} – доза, від якої загинули всі тварини;

Σ – символ суми;

z – половина загальної кількості тварин, які загинули від двох наступних доз;

d – різниця двох наступних доз;

m – кількість тварин у групі на кожну дозу

LD_{50} препарату складала:

$$LD_{50} = 1000 - (1600:6) = 1000 - 266,66 = 733,33 \text{ мг/кг.}$$

Таблиця 3.1.3.2

Середньосмертельна доза препарату «Мікромар» на білих щурах за внутрішньошлункового введення (n=6)

Доза, (мг/кг)	500	600	700	800	900	1000
Вижило	6	5	3	2	1	0
Загибло	0	1	3	4	5	6
Z	0,5	2	3,5	4,5	5,5	
d	100	100	100	100	100	
$z d$	50	200	350	450	550	

Отже, середньосмертельна доза досліджуваного препарату для білих щурів становить 733,34 мг/кг маси тіла. Тому згідно зі СОУ 85.2-37-736:2011 (ГОСТ 12.1.007-76), препарат «Мікромар» відноситься до малотоксичних речовин, що відповідає IV класу токсичності [177].

При визначенні гострої наскірної токсичності протигрибкового засобу «Мікромар» встановлено (таблиця 3.1.3.3), що дози 50, 500, 1500 та 2500

мг/кг не викликали загибелі та захворювань тварин. Поряд з тим відзначали, що застосування препарату «Мікромар» у дозах 1500 та 2500 мг/кг маси тіла викликало незначне почервоніння шкіри на місці нанесення досліджуваного засобу, яке у подальшому зникало. Слід зазначити, що у перші 3 години після застосування препарату «Мікромар» тварини були дещо пригніченими, апатичними, неохоче поїдали корм. Однак, у подальшому ознак інтоксикації не спостерігали. Тому згідно зі СОУ 85.2-37-736:2011 (ГОСТ 12.1.007-76), препарат «Мікромар» відноситься до IV класу токсичності (малотоксичні речовини).

Таблиця 3.1.3.3

**Показники нашкірної токсичності
протигрибкового засобу «Мікромар» на білих щурах**

Кількість тварин у групі	Доза препарату, мг/кг	Число загиблих тварин	
		всього	у %
3	50	0	0
3	500	0	0
3	1500	0	0
3	2500	0	0
6	1500	0	0
6	2500	0	0

Матеріали проведених досліджень висвітлені у працях [22, 42, 53].

3.2. Розробка імуностимулятора «Біоглюк»

При багатьох захворюваннях і патологічних станах організму раціональна медикаментозна корекція функціональної активності імунітету є необхідним заходом [151]. Найбільш доцільним і патогенетично обґрунтованим є використання засобів, що активують саме первинну ланку імунітету, тобто макрофаги. Активаторами макрофагів можуть виступати речовини різні за хімічною структурою та походженням, наприклад ендотоксини, віруси чи бактерії. Однак їхнє використання далеко не завжди є високоефективним і безпечним щодо ускладнень проведеної терапії, а з'єднання класу бета-1,3/1,6-глюкану і бета-1,3 (D)-глюкану, навпаки є безпечними, в тому числі і в токсикологічному значенні (клас *generally recognized as safe (GRAS)* відповідно до класифікації Food and Drug Administration (FDA), США, 2001) і їх можна використовувати як ентерально, так і парентерально. Ця фармакокінетична здатність бета-глюканів і зумовлює їх поширене застосування в медичній практиці. А їх здатність стимулювати процеси відновлення шляхом активації кератиноцитів і фібробластів є важливим місцевим ефектом [161, 171].

Бета-1,3/1,6-глюкани мають значний імуностимулюючий потенціал, оскільки вони здатні чинити широкого спектру дію на біологічну реактивність організму. Медикаменти виготовлені на основі цього полісахариду можна використовувати з ціллю лікування і профілактики інфекційних захворювань, а також різних патологічних станів.

3.2.1. Дослідження імуностимулюючої дії бета-глюкану за умови медикаментозної імуносупресії

Проведенні гематологічні дослідження показали, що у тварин 1-ї дослідної групи (табл.3.2.1.1), яким дворазово з інтервалом 7 днів підшкірно ввели Дексафорт, відмічено вірогідне зменшення кількості лейкоцитів до $4,02 \pm 0,31$ ($P < 0,05$) з $5,41 \pm 0,03$ Г/л у порівнянні з тваринами контрольної

групи. Кількість лімфоцитів знижується з $36,76 \pm 7,74$ % до $33,80 \pm 1,74$ % у тварин 1-ї дослідної групи ($P < 0,001$). Встановлено підвищення кількості сегментоядерних нейтрофілів до $8,20 \pm 0,20$ з $7,08 \pm 0,29$ % і паличкоядерних до $8,20 \pm 0,20$ з $35,52 \pm 0,15$ % у тварин контрольної групи відповідно.

У тварин 2-ї дослідної групи, яким задавали бета-глюкан відмічені зміни морфологічного складу крові в сторону збільшення кількості лейкоцитів та лімфоцитів, проте показники залишаються в межах фізіологічної норми (табл. 3.2.1.2). Це свідчить про підвищення опірної функції організму та підтверджує імуностимулюючу дію бета-глюкану. Кількість лейкоцитів у дослідній групі вірогідно зросла до $8,56 \pm 0,62$ Г/л ($P < 0,001$) в порівнянні з контрольною в якій показники становили $5,41 \pm 0,03$ Г/л. Лімфоцити відповідно до $51,60 \pm 0,51$ % ($P < 0,001$) з $36,76 \pm 7,74$ %. Спостерігається вірогідне зниження кількості сегментоядерних нейтрофілів з $35,52 \pm 0,15$ % ($P < 0,001$) до $26,80 \pm 1,02$ %.

Захисна функція лейкоцитів – забезпечення клітинного імунітету. Вони знищують клітини, що руйнуються та перероджені клітини власного організму, розпізнають і знешкоджують генетично чужорідні речовини, що потрапляють в організм.

Нейтрофіли виконують функцію фагоцитозу та цитотоксичності. Нейтрофіли ще інколи називають мікрофагами, оскільки вони можуть захоплювати тільки відносно малі об'єкти. За фагоцитарною здатністю вони значно поступаються макрофагам. Більш характерною властивістю цих клітин є виділення на зовні агресивних факторів до тканинної рідини з метою знищення вільних патогенів. Нейтрофіли першими надходять з крові до місця локалізації патогену. На початкових стадіях запалення виникнення гіперемії та токсикозу, а також утворення гнійного ексудату з демаркаційною лінією навколо запального вогнища пов'язано з роботою нейтрофілів.

Збільшення кількості лейкоцитів та лімфоцитів в крові, за умови збереження їх кількості в межах фізіологічної норми, свідчить про

поповнення резерву клітин імунної системи та підвищення ефективності імунної відповіді за дії патогену.

Таблиця 3.2.1.1

**Морфологічні показники крові мурчаків 1-ї дослідної групи
(імуносупресія – Дексафортон без імуностимулятора)
($M \pm m$, n= 5)**

Назва показників	Одиниця виміру	Контроль-на група	Порядковий номер забору 1-ї дослідної групи					
			1	2	3	4	5	
Еритроцити	Т/л	5,23± 0,04	5,38± 0,24	5,23± 0,21	5,13± 0,18	5,08± 0,10	5,06± 0,01	
Гемоглобін	г/л	135,02± 1,10	132,80± 6,49	135,6± 5,80	133,40± 6,20	136,60± 4,15	132,00± 3,77	
Гематокрит	%	43,56± 0,19	44,00± 2,22	43,80± 2,22	42,40± 2,14	42,00± 1,79	42,60± 1,80	
Тромбоцити	Г/л	204,00± 6,64	200,00± 13,70	199,40± 10,59	205,80± 11,13	201,00± 13,11	203,00± 11,52	
Лейкоцити	Г/л	5,41± 0,03	5,74± 0,32	3,88± 0,54	3,78± 0,47	4,12± 0,34	4,02± 0,31 *	
Нейтрофіли	П	%	7,08± 0,29	6,00± 0,77	7,80± 0,37	8,00± 0,45	8,20± 0,20	7,00± 0,45
	С	%	35,52± 0,15	37,00± 4,57	48,80± 1,96	45,60± 2,01	28,00± 1,52	44,4± 0,93
Еозинофіли	%	5,80± 0,06	6,00± 1,14	4,20± 0,37	6,00± 0,55	5,60± 0,51	5,8± 0,37	
Лімфоцити	%	36,76± 7,74	44,60± 4,89	32,20± 2,56	32,80± 1,71	34,20± 1,24	33,80± 1,74	
Моноцити	%	7,48± 0,29	6,60± 1,25	7,20± 1,11	7,40± 0,68	8,00± 0,45	9,00± 0,45	
Базофіли	%	0	0	0	0	0	0	
ШОЕ	мм/год	1,82± 0,19	2,20± 0,49	2,20± 0,20	2,60± 0,24	2,60± 0,24	2,60± 0,24	
Кольоровий показник		0,78± 0,05	0,75± 0,05	0,75± 0,04	0,75± 0,04	0,74± 0,03	0,75± 0,04	

Примітка: вірогідність різниць з контрольною групою: *- при $P < 0,05$;

***- при $P < 0,001$.

Таблиця 3.2.1.2

**Морфологічні показники крові мурчаків 2-ї дослідної групи
(без імуносупресії з імуностимулятором – Бета-глюкан)**

(M±m, n= 5)

Назва показників	Одиниця виміру	Контроль-на група	Порядковий номер забору 2-ї дослідної групи					
			1	2	3	4	5	
Еритроцити	Т/л	5,23± 0,04	4,97± 0,21	5,10± 0,16	5,36± 0,12	5,28± 0,15	5,32± 0,14	
Гемоглобін	г/л	135,02± 1,10	141,40± 4,27	139,60± 3,34	147,40± 1,86	145,60± 1,86	141,20± 4,41	
Гематокрит	%	43,56± 0,19	43,20± 0,93	42,8± 1,59	45,40± 1,72	45,00± 1,34	44,60± 1,50	
Тромбоцити	Г/л	204,00± 6,64	194,00± 16,97	192,80± 15,35	194,00± 20,60	193,60± 18,70	197,40± 19,79	
Лейкоцити	Г/л	5,41± 0,03	5,14± 0,30	5,52± 0,65	6,94± 0,75	8,52± 0,55***	8,56± 0,62***	
Нейтрофіли	П	%	7,08± 0,29	5,40± 0,24	6,00± 0,55	5,60± 0,51	6,20± 0,37	6,80± 0,37
	С	%	35,52± 0,15	40,60± 2,68	39,60± 1,86	32,00± 1,10	28,00± 1,52***	26,80± 1,02***
Еозинофіли	%	5,80± 0,06	5,20± 0,86	6,00± 0,55	5,60± 0,51	6,20± 0,37	6,80± 0,37	
Лімфоцити	%	36,76± 7,74	44,20± 2,01	43,80± 1,16	48,20± 0,86	51,80± 0,86***	51,60± 0,51***	
Моноцити	%	7,48± 0,29	4,60± 1,25	4,60± 1,08	7,60± 0,51	7,40± 0,51	7,8± 0,20	
Базофіли	%	0	0	0	0	0	0	
ШОЕ	мм/год	1,82± 0,19	2,00± 0,32	2,00± 0,32	2,00± 0,32	2,00± 0,32	2,00± 0,32	
Кольоровий показник		0,78± 0,05	0,82± 0,04	0,82± 0,04	0,83± 0,03	0,83± 0,03	0,84± 0,03	

Примітка: вірогідність різниць з контрольною групою:***- приP<0,001.

У тварин 3-ї дослідної групи (табл. 3.2.1.3), якій проводилася медикаментозна імуносупресія – Дексафортом та прийом бета-глюкану встановлено, що під дією Дексафарту тенденційно знижується кількість лейкоцитів до $4,02 \pm 0,50$ Г/л з $5,41 \pm 0,03$ Г/л, вміст лімфоцитів до $33,60 \pm 2,25$ % з $36,76 \pm 7,74$ %. Після прийому бета-глюкану відмічено вірогідне підвищення лейкоцитів до $8,60 \pm 0,60$ Г/л ($P < 0,001$) з $5,41 \pm 0,03$ Г/л, підвищення лімфоцитів до $49,40 \pm 2,70$ % з $36,76 \pm 7,74$ % і тромбоцитів до $253,00 \pm 22,63$ Г/л з $204,00 \pm 6,64$ Г/л у тварин контрольної групи. Частка еозинофілів вірогідно знижується як після введення Дексафарту до $2,40 \pm 0,60$ % ($P < 0,001$) так і бета-глюкану до $3,80 \pm 0,49$ % ($P < 0,001$) з $5,80 \pm 0,06$ % у контролі.

Еозинофіли, як і нейтрофіли, є фагоцитами й цитотоксичними клітинами. Функція еозинофілів є специфічною, оскільки тісно пов'язана з роботою імунної системи слизових оболонок. Провідним ефекторним імунним механізмом слизових оболонок є механізм, який опосередкований роботою тучних клітин. Еозинофіли регулюють даний механізм, запобігаючи його гіперактивації через пряму травматичну дію на патоген [20, 126].

Дексафорт, як імуносупресор викликає достовірне зниження кількості лейкоцитів, лімфоцитів і підвищення кількості сегментоядерних і паличкоядерних нейтрофілів. Бета-глюкан достовірно підвищує кількість лейкоцитів, лімфоцитів і знижує кількість сегментоядерних нейтрофілів.

Отже, за умови медикаментозної імуносупресії бета-глюкан виявляє активну імуностимулюючу дію, що підтверджено результатами проведених досліджень.

Таблиця 3.2.1.3

**Морфологічні показники крові мурчаків 3-ї дослідної групи
(імуносупресія – Дексафортон, з імуностимулятором – бета-глюканом)**

(M±m, n= 5)

Назва показника	Одиниця виміру	Контроль-на група	Порядковий номер забору 3-ї дослідної групи					
			1	2	3	4	5	
Еритроцити	Г/л	5,23± 0,04	4,74± 0,10	4,70± 0,10	4,87± 0,10	4,96± 0,08	5,04± 0,05	
Гемоглобін	г/л	135,02± 1,10	134,00± 2,32	131,60± 2,14	133,00± 1,95	131,20± 3,40	133,80± 3,31	
Гематокрит	%	43,56± 0,19	43,60± 1,72	42,60± 2,16	43,40± 1,36	43,20± 0,86	42,60± 0,75	
Тромбоцити	Г/л	204,00± 6,64	198,20± 20,91	245,40± 24,06	257,40± 24,26	256,00± 22,61	253,00± 22,63	
Лейкоцити	Г/л	5,41± 0,03	5,18± 0,58	4,02± 0,50	6,50± 0,73	8,60± 0,69***	8,60± 0,60***	
Нейтрофіли	П	%	7,08± 0,29	5,00± 0,41	7,00± 0,77	4,80± 0,49	5,50± 0,51	5,60± 0,60
	С	%	35,52± 0,15	38,80± 3,56	49,80± 2,67	43,20± 1,46	34,00± 2,47	33,80± 2,82
Еозинофіли	%	5,80± 0,06	3,4± 1,29	2,40± 0,60***	3,20± 0,37*	3,80± 0,49***	3,80± 0,37*	
Лімфоцити	%	36,76± 7,74	45,80± 1,66	33,60± 2,25	41,00± 1,30	49,20± 2,13	49,40± 2,70	
Моноцити	%	7,48± 0,29	6,40± 0,87	6,80± 0,58	7,20± 0,37	7,40± 0,51	7,40± 0,24	
Базофіли	%	0	0	0	0	0	0	
ШОЕ	мм/год	1,82± 0,19	2,60± 2,24	2,40± 0,24	2,40± 0,24	2,40± 0,24	2,40± 0,24	
Кольоровий показник		0,78± 0,05	0,83± 0,03	0,81± 0,01	0,80± 0,01	0,80± 0,01	0,80± 0,01	

Примітка: вірогідність різниць з контрольною групою: *- при P<0,05;

***- при P<0,001.

3.2.2. Підбір основних діючих речовин імуностимулятора «Біоглюк»

Фармакодинамічні ефекти бета-глюканів, які виявлені в клінічних та експериментальних умовах дають підставу рекомендувати їх використання як засобів, що профілактують та лікують бактеріальні, вірусні та грибкові інфекції при первинних та вторинних імунодефіцитах, які виникають з різних причин. Бета-глюкан має властивість комплексно впливати на імунні процеси в організмі. Завдяки дії бета-глюкану активується фагоцитарна функція макрофагів та починають посилено утворюватися і виділятися цитокіни, серед яких інтерлейкіни та інтерферон, що є стимулом для Т-лімфоцитів, фактора росту епідермальних клітин і фактору ангіогенезу [170]. Отже цей полісахарид має здатність впливати не лише на системний імунітет, але і місцево стимулювати регенераторні процеси в шкірі.

Тому його ефективність як основної діючої речовини імуностимулятора «Біоглюк» буде актуальна і раціональна для комплексного лікування мікроспорії, оскільки основною мішенню збудника *Microsporum canis* є епідермальний бар'єр. Відповідно аналізу проведених досліджень щодо дозування бета-глюкану описано, що побічних дій використання різних концентрацій цього полісахариду не виявлено [88, 141].

Відомо, що перебіг мікроспорії характеризується ураженням епідермісу та волосу на фоні імуносупресії організму. Збудник має епітеліотропну здатність і в комбінації з імуносупресією забезпечує порушення бар'єрної функції організму хворої тварини [104].

Враховуючи властивість бета-глюкану стимулювати імунну відповідь за медикаментозної імуносупресії його важливо було поєднати з компонентом, який безпосередньо впливає на якість шерсті та покращує трофіку у сосочковому та базальному шарах епідермісу.

Такими властивостями у повній мірі відповідає водорозчинний вітамін біотин, який за хімічним складом добре комбінується з полісахаридами та відповідає показанням до застосування при мікроспорії. Біотин сприяє стабілізації вмісту цукру в крові та забезпечує краще засвоєння не лише полісахариду бета-глюкану, але і глюкози як основного розчинника. Він забезпечує засвоєння та бере участь у синтезі цукрів в організмі. Біотин завдяки своїм властивостям є незамінним компонентом в процесі метаболізму, що відбувається в шарах шкіри за мікроспорії та дає можливість стимуляції регенерації ушкоджених тканин. Рекомендована згідно інструкції денна доза для котів складає 5 мікрограм на кілограм маси, яку ми і обрали за основу препарату «Біоглюк» [90]. В якості розчинника використано 5% розчин глюкози, яка повністю засвоюється організмом.

Комбінація вищезгаданих компонентів в комплексній терапії мікроспорії у котів дає можливість не лише стимулювати захисні функції організму, але і на місцевому рівні сприяти регенерації ушкоджених шарів шкіри та волосу, що є особливо актуально безпосередньо при дерматомікозах. Відповідно показанням до застосування концентрація діючих речовин в імуностимуляторі «Біоглюк» була підібрана у наступних співвідношеннях, %:

бета-глюкану – 3;

біотину – 0,0005;

5 % розчину глюкози – до 100.

3.2.3. Дослідження параметрів гострої токсичності імуностимулятора «Біоглюк»

Як видно з даних наведених у таблиці 3.2.3.1, внутрішньошлункове застосування імуностимулятора «Біоглюк» білим мишам у дозі 1000, 3000 та 5000 мг/кг не викликало загибелі чи захворювань тварин.

Таблиця 3.2.3.1

Показники токсичності препарату «Біоглюк» на білих мишах

Кількість тварин у групі	Доза препарату, мг/кг	Число загиблих тварин	
		всього	у %
3	500	0	0
3	1000	0	0
3	3000	0	0
3	5000	0	0
6	5000	0	0
12	5000	0	0

Результати визначення гострої токсичності на білих щурах за внутрішньошлункового введення імуностимулятора «Біоглюк» засвідчили (таблиця 3.2.3.2), що у дозах 1000, 3000 та 5000 мг/кг маси тіла не викликали загибелі чи захворювань тварин. При цьому, варто зазначити, що упродовж 14-добового періоду спостереження не виявлено поведінкових змін у досліджуваних тварин.

Таблиця 3.2.3.2

Показники токсичності препарату «Біоглюк» на білих щурах

Кількість тварин у групі	Доза препарату, мг/кг	Число загиблих тварин	
		всього	у %
3	1000	0	0
3	3000	0	0
3	5000	0	0
6	5000	0	0
12	5000	0	0

При вивченні шкірно-резорбтивної дії препарату встановили, що препарат, за експозиції чотири години, у тварин дослідної групи не викликав появи ерозій та ран, шкіра в ділянці хвоста була природнього світло рожевого кольору. За період 14-добового спостереження не було виявлено змін у поведінці та зовнішньому вигляді, тварини були активними, добре поїдали корм. Шкіра упродовж усього періоду експерименту була блідо-рожевого кольору, при цьому на місці нанесення досліджуваного засобу не виявляли ран, ерозій та набряків.

. Отже, відповідно до СОУ 85.2-37-736:2011 (ГОСТ 12.1.007-76), імуностимулятор «Біоглюк» відноситься до малотоксичних речовин, що відповідає IV класу токсичності.

Матеріали проведених досліджень висвітлені у працях [25, 43, 44, 53].

3.3. Морфологічні та імунологічні показники крові і гістоструктурні зміни шкіри у хворих мікроспорією мурчаків

З метою з'ясування імунної реактивності організму при мікроспорії проведені морфологічні дослідження крові та шкіри здорових і інфікованих збудником *Microsporium canis* мурчаків. Матеріал для досліджень (кров та зразки шкіри) відбирали у клінічно здорових тварин та у хворих на 21 та 42 день після зараження. Перші клінічні ознаки захворювання у дослідних тварин проявилися на 16-20 добу після початку експерименту. Тому перший забір крові проведено на 21 добу після інфікування.

Проведені гематологічні засвідчили, що у хворих мікроспорією мурчаків характерними є зміни морфологічного складу крові (табл.3.3.1).

На 21-й і 42-й день після зараження спостерігаються ознаки лейкоцитозу, лімфоцитозу. Кількість лейкоцитів вірогідно підвищується до $11,13 \pm 0,72$ Г/л з $5,77 \pm 0,37$ Г/л у здорових тварин. Вміст лімфоцитів підвищується з $46,00 \pm 0,89$ до $65,20 \pm 1,48$ % на 42-й день після зараження ($P < 0,001$). Встановлено вірогідне підвищення вмісту паличкоядерних нейтрофілів з $6,33 \pm 0,71$ до $15,76 \pm 1,29$, а сегментоядерних нейтрофілів знижується з $38,83 \pm 1,30$ до $12,17 \pm 1,47$ % на 42-й день після зараження ($P < 0,001$). Відмічено вірогідне підвищення ШОЕ з $1,67 \pm 0,21$ мм/год до $5,67 \pm 0,67$ мм/год на 42-й день після зараження.

Після зараження на 21-й і 42-й дні у мурчаків відмічається вірогідне підвищення Т-лімфоцитів з $53,00 \pm 1,53$ до $59,83 \pm 1,50$ % ($P < 0,05$) та тенденційне підвищення Т-супресорів з $20,83 \pm 0,91$ до $23,00 \pm 1,51$ %, зниження Т-хелперів з $40,17 \pm 1,17$ до $33,33 \pm 0,71$ % ($P < 0,001$) в порівнянні з здоровими тваринами, зростання Т-кілерів на 21 день після інфікування в порівнянні зі здоровими мурчачками (табл.3.3.2).

Таблиця 3.3.1

Морфологічні показники крові у мурчаків хворих мікроспорією

M ±m, n=6

Показники		Одиниці виміру	Здорові	Хворі	
				21 день	42 дні
Еритроцити		Т/л	5,65± 0,20	5,53± 0,24	5,25± 0,21
Гемоглобін		г/л	117,17± 2,86	117,17± 2,07	113,33± 4,51
Гематокрит		%	39,67± 1,15	38,83± 1,19	37,17± 7,60
Тромбоцити		Г/л	210,17± 0,37	223,83± 7,85	231,17± 7,60
Лейкоцити		Г/л	5,77± 0,37	8,19± 0,35***	11,13± 0,72***
Нейтрофіли	П	%	6,33± 0,71	13,67± 1,20**	15,76± 1,29***
	С	%	38,83± 1,30	14,50± 1,95***	12,17± 1,47***
Еозинофіли		%	3,17± 0,40	3,50± 0,43	2,70± 0,73
Базофіли		%	0	0	0
Моноцити		%	5,67± 0,49	8,67± 0,56	4,17± 0,83
Лімфоцити		%	46,00± 0,89	59,66± 0,88**	65,20± 1,48**
ШОЕ		мм/год	1,67± 0,21	4,17± 0,31***	5,67± 0,67***
Кольоровий показник			0,78± 0,01	0,78± 0,01	0,76± 0,02

Примітка: вірогідність різниць з клінічно здоровими тваринами:

** - при P<0,01; *** - при P<0,001.

Таблиця 3.3.2

Імунологічні показники крові у мурчаків хворих мікроспорією

M ±m, n=6

Показники	Одиниці виміру	Здорові	Хворі	
			21 день	42 дні
В-лімфоцити	%	21,50± 1,06	20,83± 1,11	22,33± 0,95
Т-лімфоцити	%	53,00± 1,53	59,83± 1,50**	53,83± 0,85
О-лімфоцити	%	23,50± 2,17	19,34± 1,41	23,84± 1,14
Натуральні кілери	%	17,50± 0,85	22,67± 1,50	19,33± 0,84
Т-хелпери	%	40,17± 1,17	35,00± 1,21*	33,33± 0,71***
Т-супресори	%	20,83± 0,91	21,50± 1,26	23,00± 1,51*

Примітка: вірогідність різниць з клінічно здоровими тваринами:

*- при $P < 0,05$; ** - при $P < 0,01$; *** - при $P < 0,001$.

Вказані зміни свідчать, що в організмі розвивається лейкоцитоз, який характерний при запальних та інфекційних хворобах, коли організм інтенсивно виробляє нові лейкоцити для боротьби з патологічним агентом. При мікробних інфекціях лімфоцитоз характерний у другій половині імунної відповіді, яка відбувається після ефективної трансляції інформації про антиген лімфоцитам від антиген-презентуючих клітин (дендритних клітин та макрофагів) [31]. При переході імунної відповіді в лімфоцитарну фазу в клінічному прояві відмічається пригнічення ознак запалення. Це відбувається на тлі збільшення рівня лімфоцитів, що пояснюється прямою функцією імунокомпетентних клітин [70, 76]. Відбувається нейтрофільне зрушення ядра вліво, яке спостерігається при перебігу хронічного запального процесу

та у виснажених тварин. Збільшення ШОЕ свідчить про запальний процес, уповільнену інфекцію.

Кількість Т-хелперів знижується при бактеріальних та грибкових інфекціях хронічного, довготривалого перебігу [6]. Т-хелпери розпізнають антиген, взаємодіють з В-лімфоцитами і сприяють їх перетворенню на плазматичні клітини [17]. Вони є головним двигуном в імунних реакціях; допомагають В-лімфоцитам в імунних реакціях до Т-клітинозалежних агентів. Кількість Т-лімфоцитів на початку захворювання може підвищуватися при імунній активації, яка викликана інфекцією [84].

Т-супресори забезпечують формування імунологічної толерантності та пригнічують надлишкову активність Т- і В-лімфоцитів, чим запобігають надмірній імунній відповіді [127].

Гістологічними дослідженнями встановлено, що у здорового мурчака епідерміс представлений багат шаровим плоским зроговілим епітелієм. Базальний шар збережений і складається з циліндричних клітин. Добре проглядається шипуватий, зернистий та роговий шар, останній утворений роговими лусочками. Дерма представлена пучками еластичних і колагенових волокон із наявністю гістіоцитів, фібробластів (рис. 3.3.1-3.3.3), побудована із сосочкового і сітчастого (ретикюлярного) шарів. Колагенові волокна зібрані в пучки різної форми та товщини. Окремими пучками розміщуються прошарки пухкої тонковолокнистої тканини. Гіподерміс представлений пухкою сполучною тканиною між пучками якої розміщуються фібробласти, гістіоцити та жирові клітини, які при фарбуванні визначаються у вигляді прозорих стільникоподібних структур.

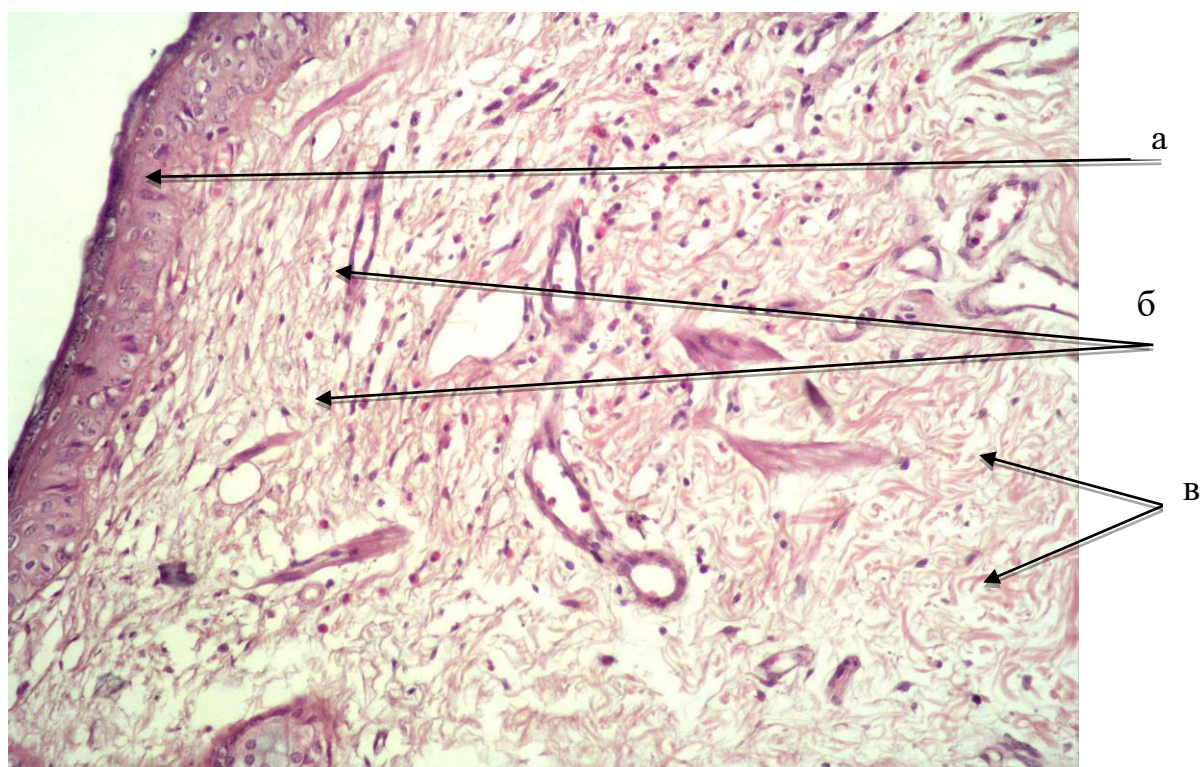


Рис. 3.3.1. Фрагмент шкіри здорового мурчачка:
 а - епідерміс; б –сосочковий шар дерми; в - кровоносні судини.
 Гематоксилін та еозин. Ок. 10, об. 10

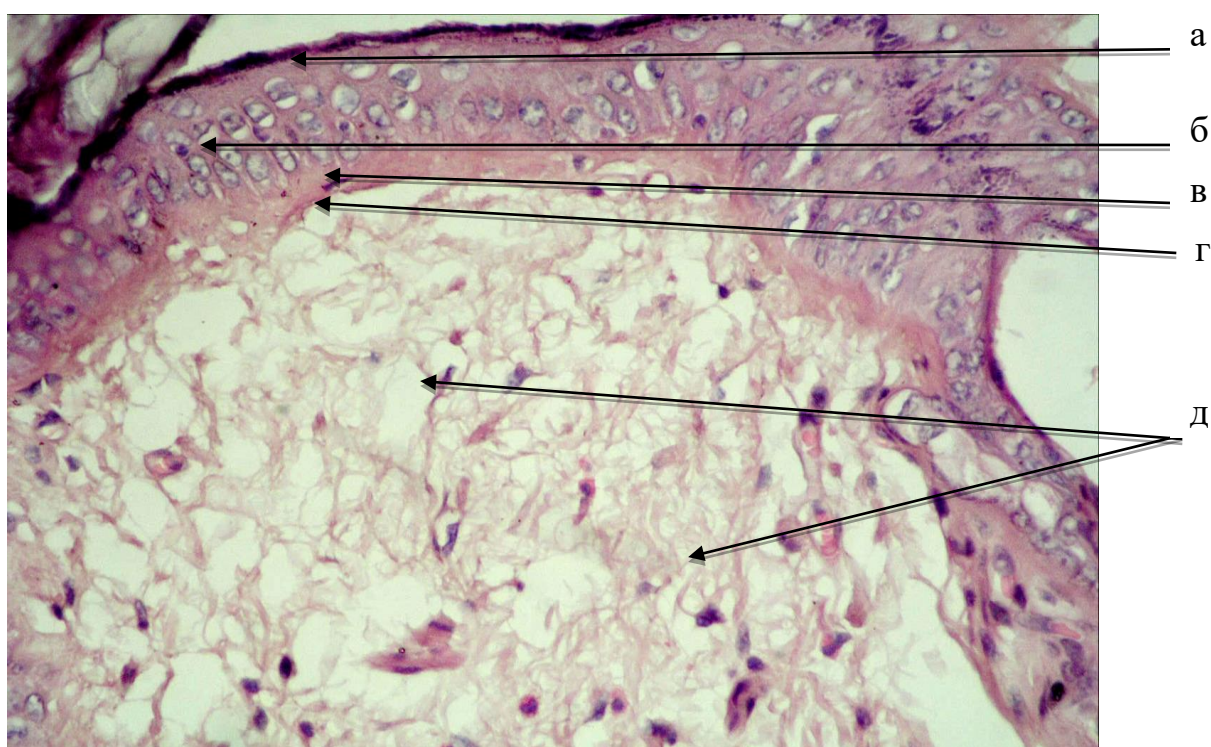


Рис. 3.3.2. Фрагмент шкіри здорового мурчачка. Шари епідермісу:
 а - роговий шар; б - зернистий шар; в - шипуватий шар;
 г - базальна мембрана; д – сосочковий шар дерми.
 Гематоксилін та еозин. Ок. 10, об. 40

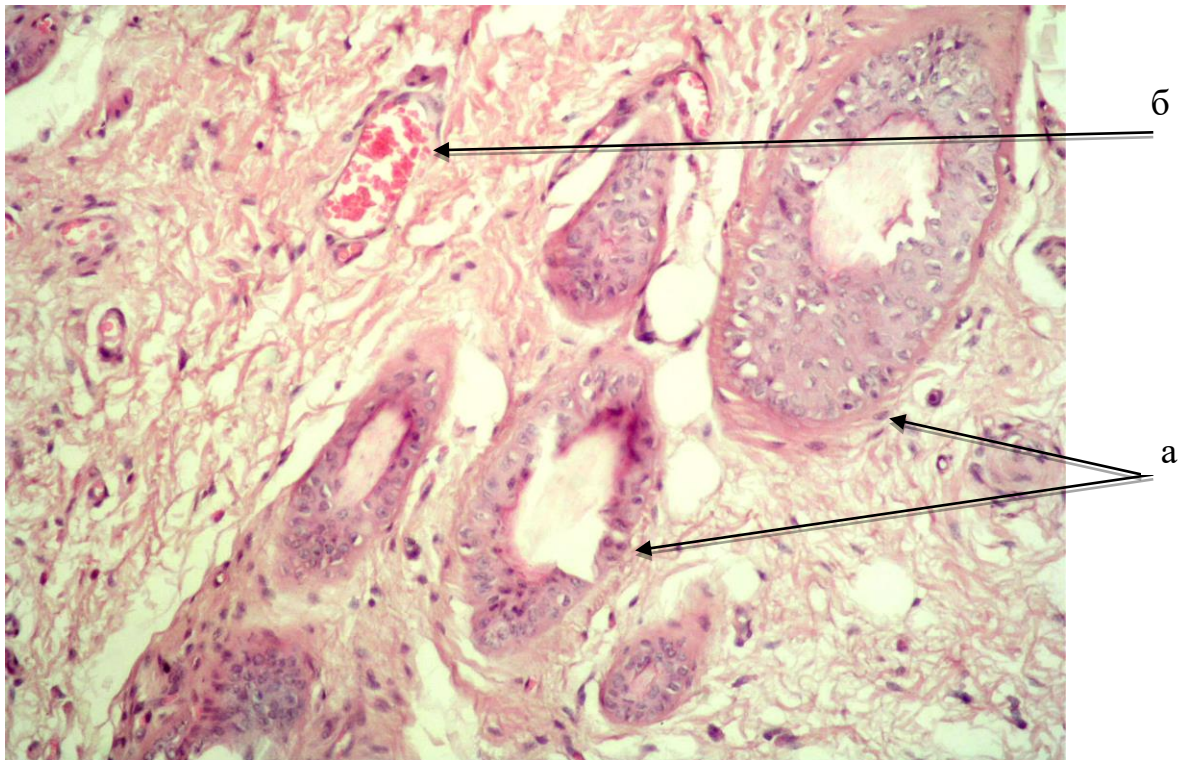


Рис. 3.3.3. Фрагмент шкіри здорового мурчака:
 а - волосяні фолікули; б - кровоносні судини.
 Гематоксилін та еозин. Ок. 10, об. 40

За перебігу мікроспорії структура шарів шкіри збережена (рис. 3.3.4), виникають запальні процеси у верхніх шарах.

На 21-у добу після зараження при гістологічному дослідженні шкіри виявлено наявність спор і гіфів збудника гриба *Microsporium canis* у роговому шарі шкіри та волосяних фолікулах (рис.3.3.5) [111]. Внаслідок перебігу запалення проходить розшарування волокон дерми появляються накопичення клітинних інфільтратів навколо волосяних фолікулів (рис. 3.3.6).

Секрозно-запальний набряк сітчастого та сосочкового шарів дерми провокує розшарування колагенових волокон на тлі застійної гіперемії (рис. 3.3.7), що макроскопічно проявляється у вигляді незначної припухлості та еритеми на поверхні шкіри у хворих тварин. Застійна гіперемія супроводжується розширенням кровоносних судин, сповільнення течії крові і призводить до порушення кровообігу в мікроциркуляторному руслі.

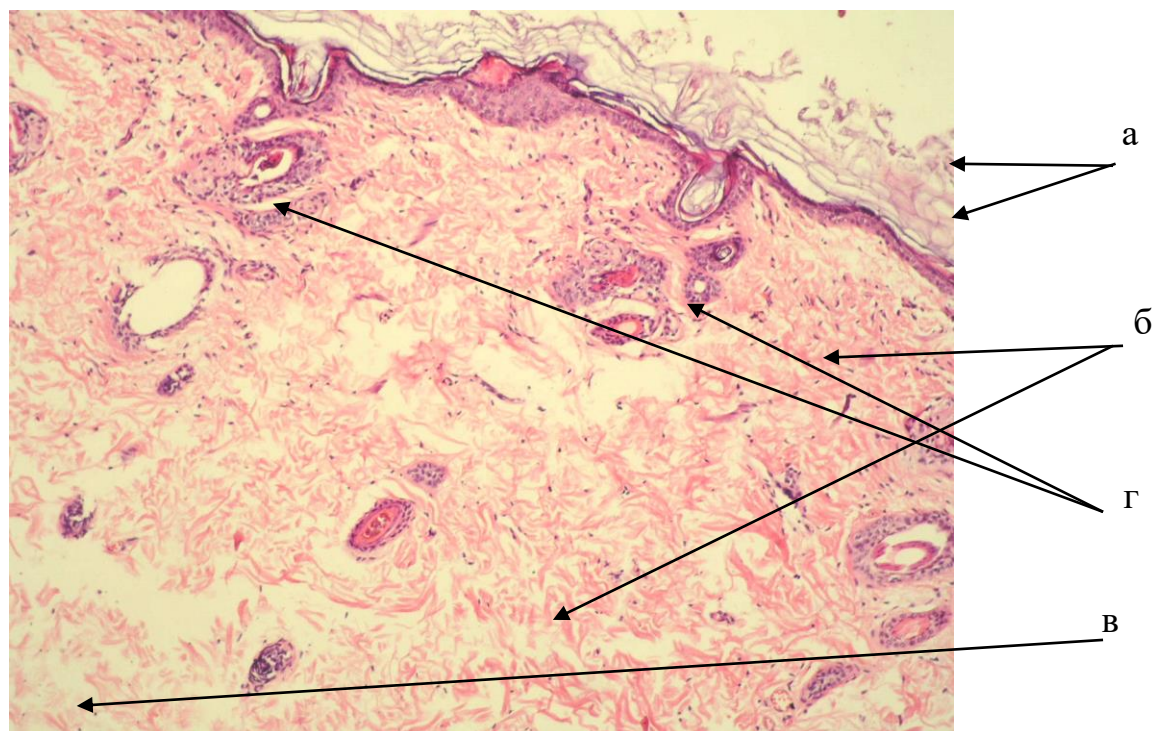


Рис. 3.3.4. Фрагмент шкіри мурчака на 21-у добу після зараження:
 а - зроговілий шар епідермісу; б - дерма; в - волосяні фолікули; г - помірна клітинна інфільтрація.

Гематоксилін та еозин. Ок. 10, об. 10

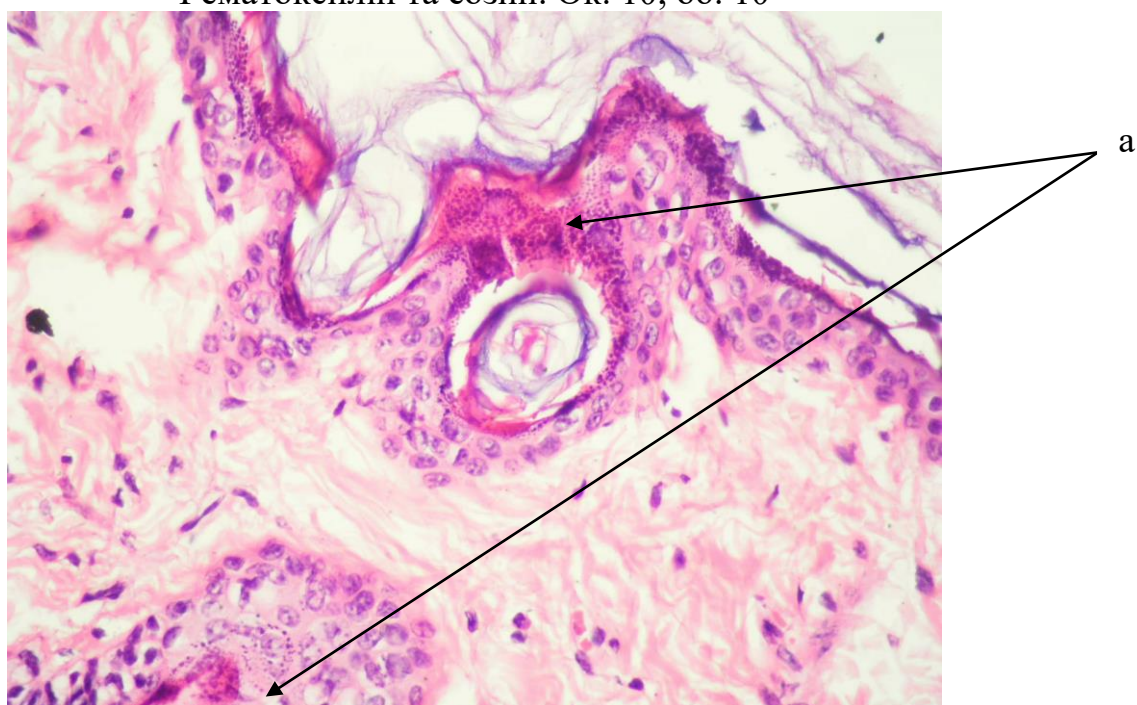


Рис. 3.3.5. Фрагмент дерми мурчака на 21-у добу після зараження:
 а - наявність спор і гіфів *Microsporum canis* навколо волосяних фолікулів.

Гематоксилін та еозин. Ок. 10, об. 40.

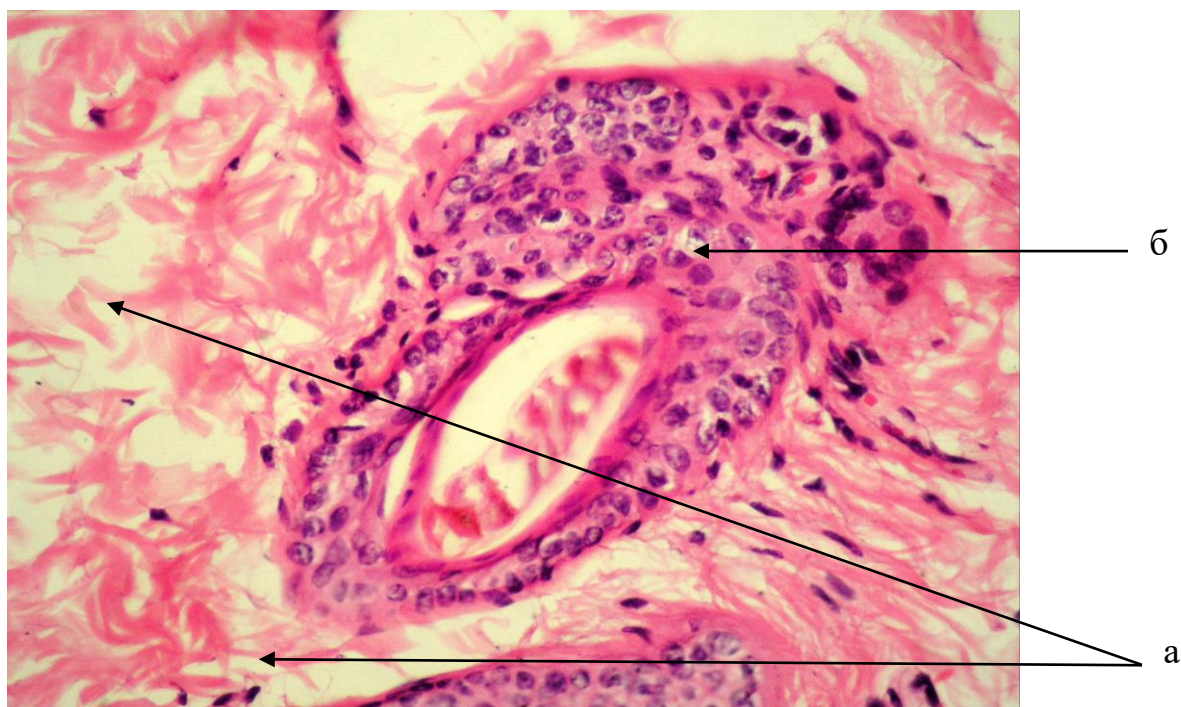


Рис. 3.3.6. Фрагмент дерми мурчака на 21-у добу після зараження:
 а - розшарування волокон дерми; б - клітинні інфільтрати навколо
 волосяного фолікула. Гематоксилін та еозин. Ок. 10, об. 40.

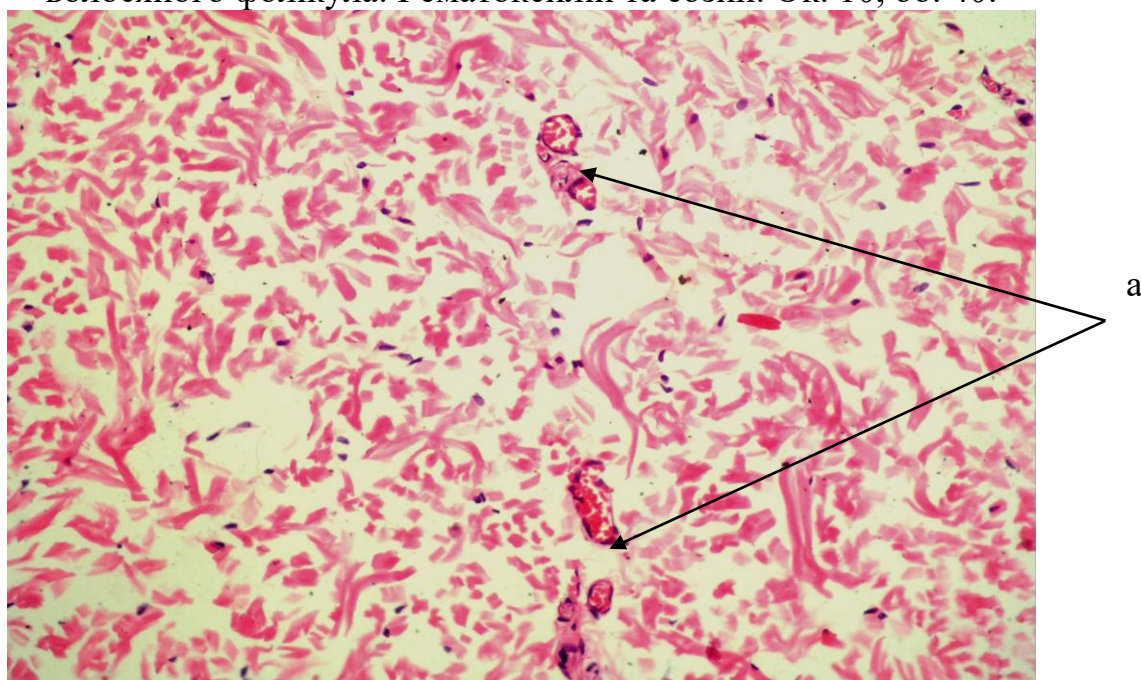


Рис. 3.3.7. Фрагмент дерми мурчака на 21-у добу після зараження:
 а - застійна гіперемія.
 Гематоксилін та еозин. Ок. 10, об. 20.

Наслідком цього процесу є порушення трофіки шкіри загалом та окремих її структур зокрема. Через порушення живлення, клітини епідермісу зазнають дистрофічних змін та надмірного зроговіння епітелію. Виникають

супутні патоморфологічні зміни, які проявляються у вигляді формування кістозних порожнин, які витоншують поверхню шкіри та як наслідок полегшують її травматизацію, що може спровокувати вторинне інфікування секундарною флорою та формуванням мікроабсцесів (рис. 3.3.8), що призводить до зниження або часткової втрати бар'єрної функції шкіри в ділянках ураження [11, 114].

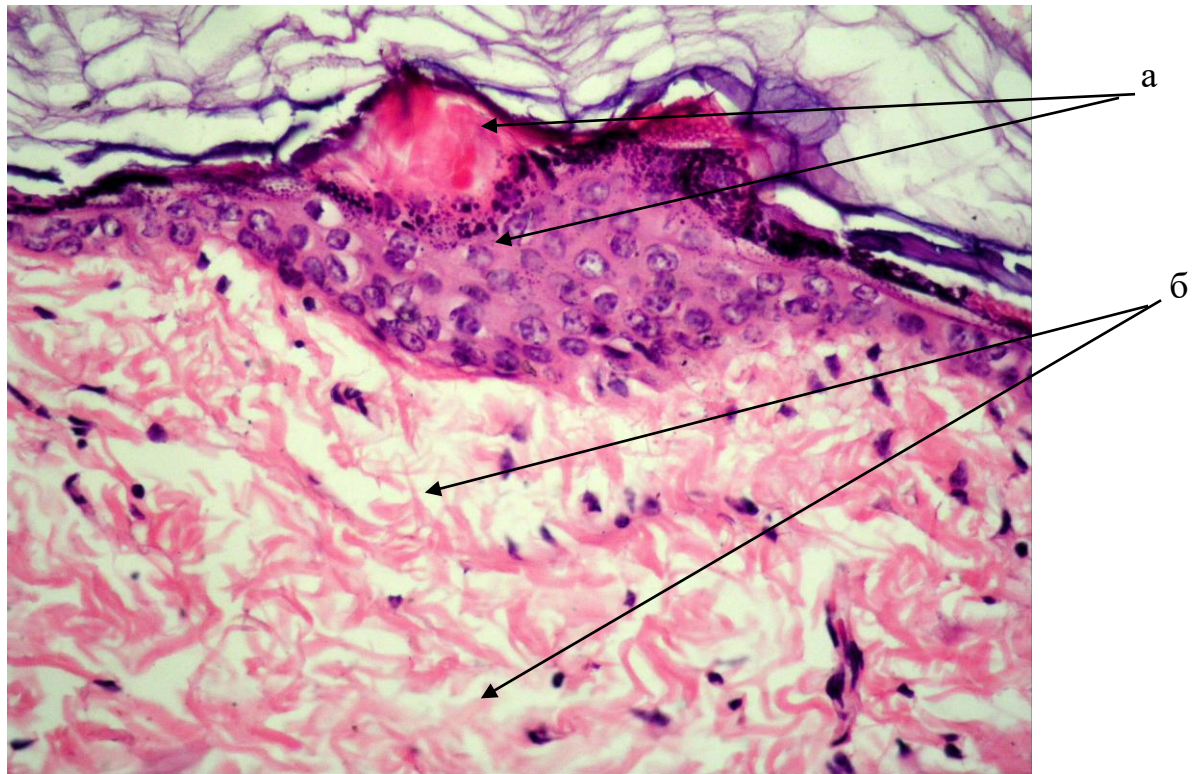


Рис. 3.3.8. Фрагмент шкіри мурчика на 21-у добу після зараження:
 а - гіперплазія епідермісу, утворення кістозної порожнини; б - набряк дерми.
 Гематоксилін та еозин. Ок. 10, об. 40.

На 42-й день після зараження наростає запальна інфільтрація, що проявляється нагромадженням серозного ексудату та клітинних елементів в товщі дерми навколо волосяних фолікулів (рис. 3.3.9). Сполучнотканинні елементи сосочкового і сітчатого шару помірно розпушені, просякнуті слобооксифільною рідиною. Навколо волосяних фолікулів спостерігається скупчення гістіоцитарних елементів (рис. 3.3.10).

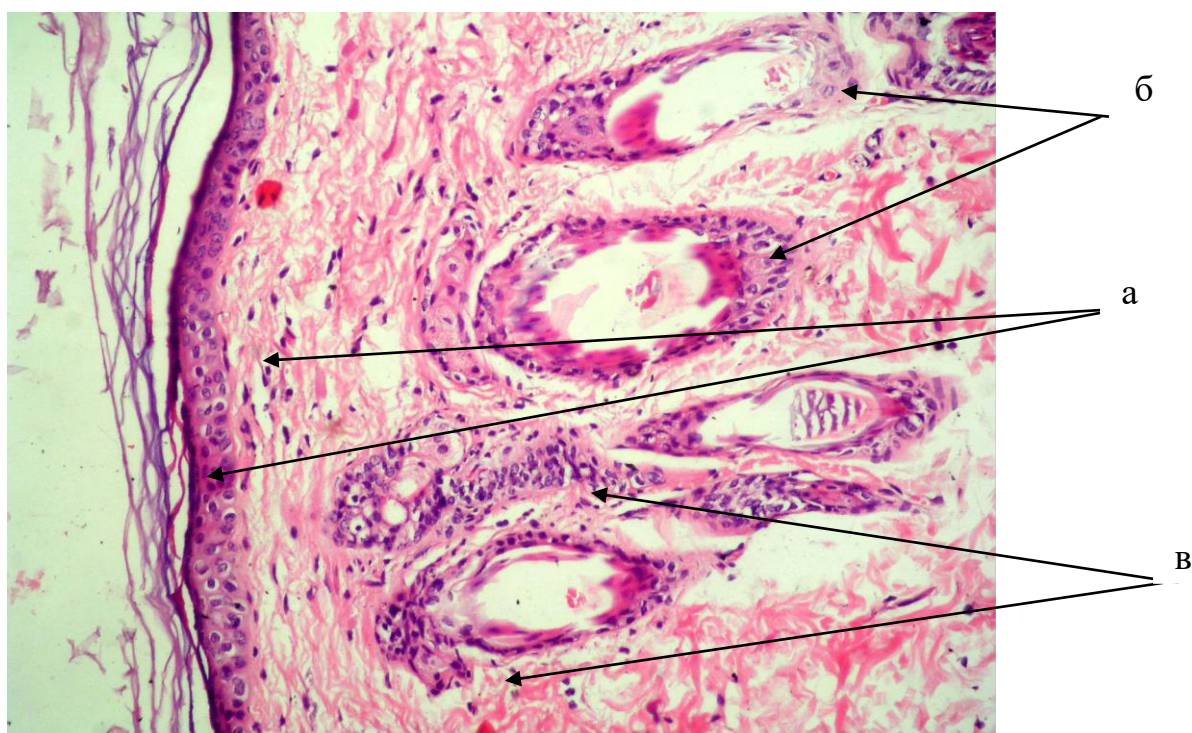


Рис. 3.3.9. Фрагмент шкіри мурчака на 42-у добу після зараження:
 а - епідерміс; б - волосяні фолікули;
 в - наявність клітинних інфільтратів навколо волосяних фолікулів.
 Гематоксилін та еозин. Ок. 10, об. 20

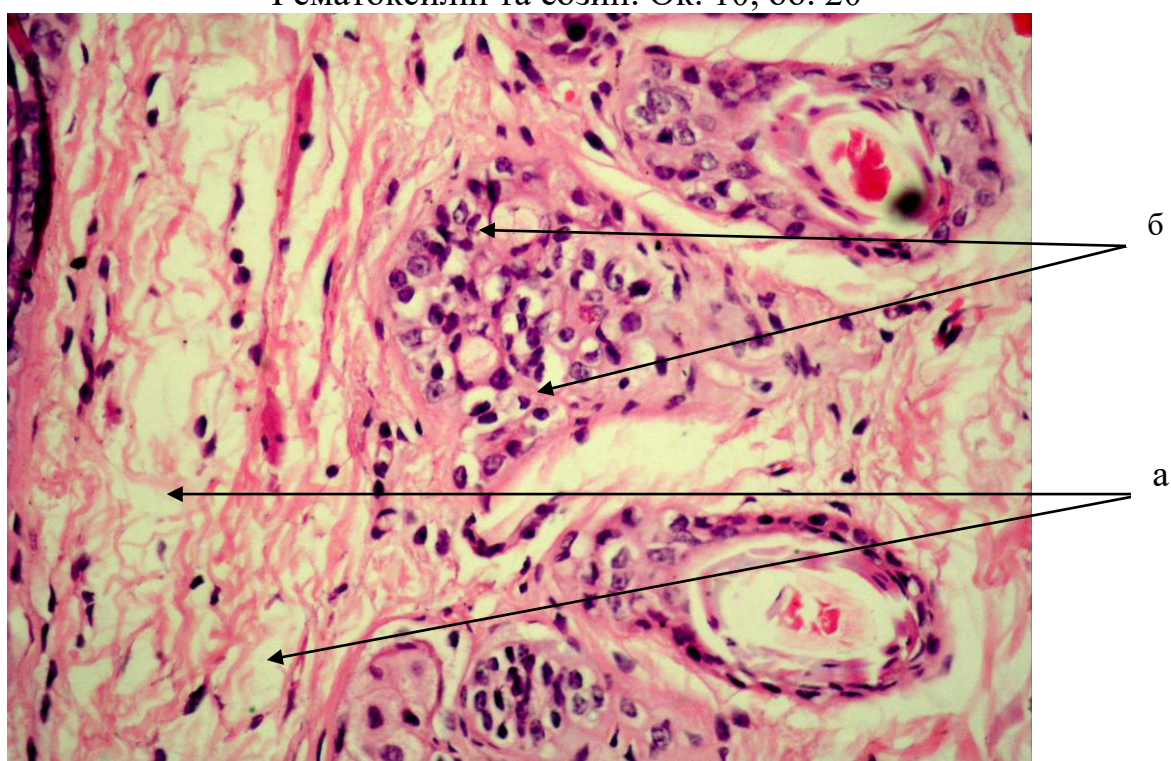


Рис. 3.3.10. Фрагмент шкіри мурчака на 42-у добу після зараження:
 а - набряк, б - лімфогістіоцитарні інфільтрати дерми.
 Гематоксилін та еозин. Ок. 10, об. 40

Відзначається надмірне утворення зроговілих клітин, що спричиняє потовщення епідермісу. Остисті клітини рогового шару епідермісу набухлі, з просвітленою цитоплазмою, ядра розміщені ектопічно. Відзначається білкова дистрофія базального шару епідермісу. Місцями виявляється проліферація клітин та збільшення кількості їх рядів, а також проникнення епітеліальних сосочків в сосочковий шар дерми, що є ознакою акантозу (рис. 3.3.11). Відбувається лущення рогових клітин епідермісу (десквамація), що макроскопічно проявляється у вигляді формування лусочок на поверхні шкіри [115].

В уражених ділянках шкіри розвивається серозно запальний набряк дерми, а на поверхні епідермісу – гіперкератоз (рис. 3.3.12). В епідермісі відмічається гіперплазія клітин базального шару, дистрофія остистих клітин (рис. 3.3.13). Ці зміни вказують на виникнення дистрофії внаслідок тривалого впливу патогенно агента при хронічному перебігу мікроспорії, що може призвести до виникнення склеродермії.

Отже, зміни морфологічного складу крові у хворих мікроспорією мурчаків на 21-й і 42-й день після зараження характеризуються лейкоцитозом, лімфоцитозом, нейтрофільним зрушенням ядра вліво. Імунна відповідь характеризується підвищенням Т-лімфоцитів, Т-хелперів та зниженням Т-супресорів. На 21-у добу після зараження в шкірі локалізуються гіфи та спори гриба *Microsporum canis*, які викликають виникнення запального процесу, що характеризується набряком дерми, розшаруванням колагенових волокон та накопиченням запальних інфільтратів навколо волосяних фолікулів. На 42-у добу інфільтрація поширюється та виникають дистрофічні зміни в шкірі у вигляді десквамації епідермісу та формування акантозу та гіперкератозу на поверхні дерми.

Такі зміни виникають внаслідок тривалого перебігу мікроспорії [40, 48].

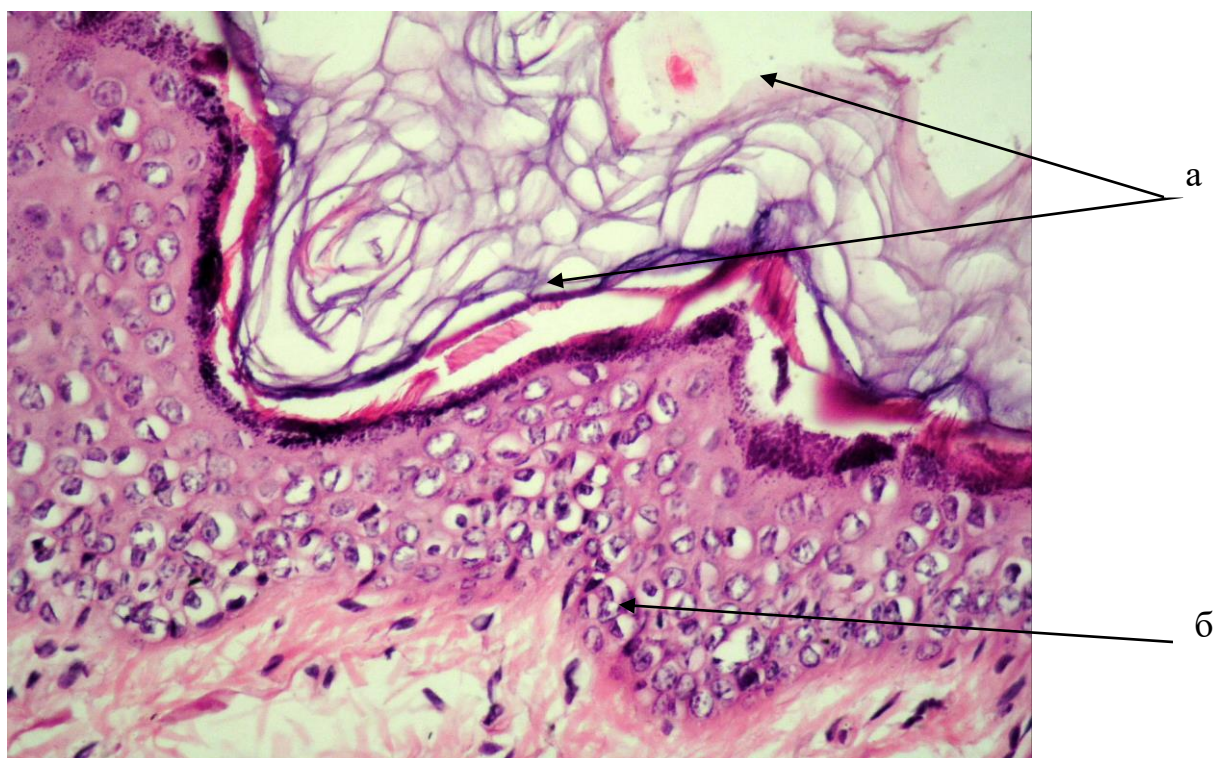


Рис. 3.3.11. Фрагмент шкіри мурчака на 42-у добу після зараження:

а - гіперкератоз, акантоз, потовщення рогового шару;

б - гіперплазія клітин базального шару.

Гематоксилін та еозин. Ок. 10, об. 40

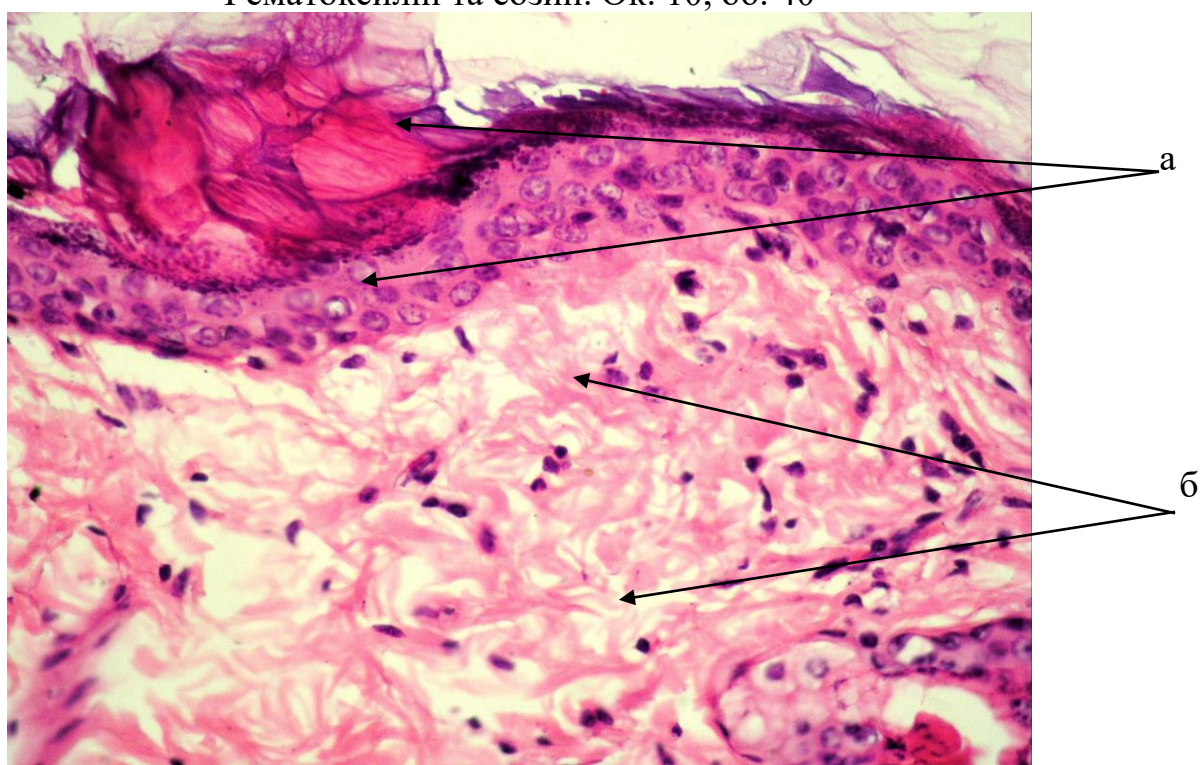


Рис. 3.3.12. Фрагмент шкіри мурчака на 42-у добу після зараження:
а - гіперкератоз, десквамація рогових клітин епідермісу, б - набряк дерми.

Гематоксилін та еозин. Ок. 10, об. 40.

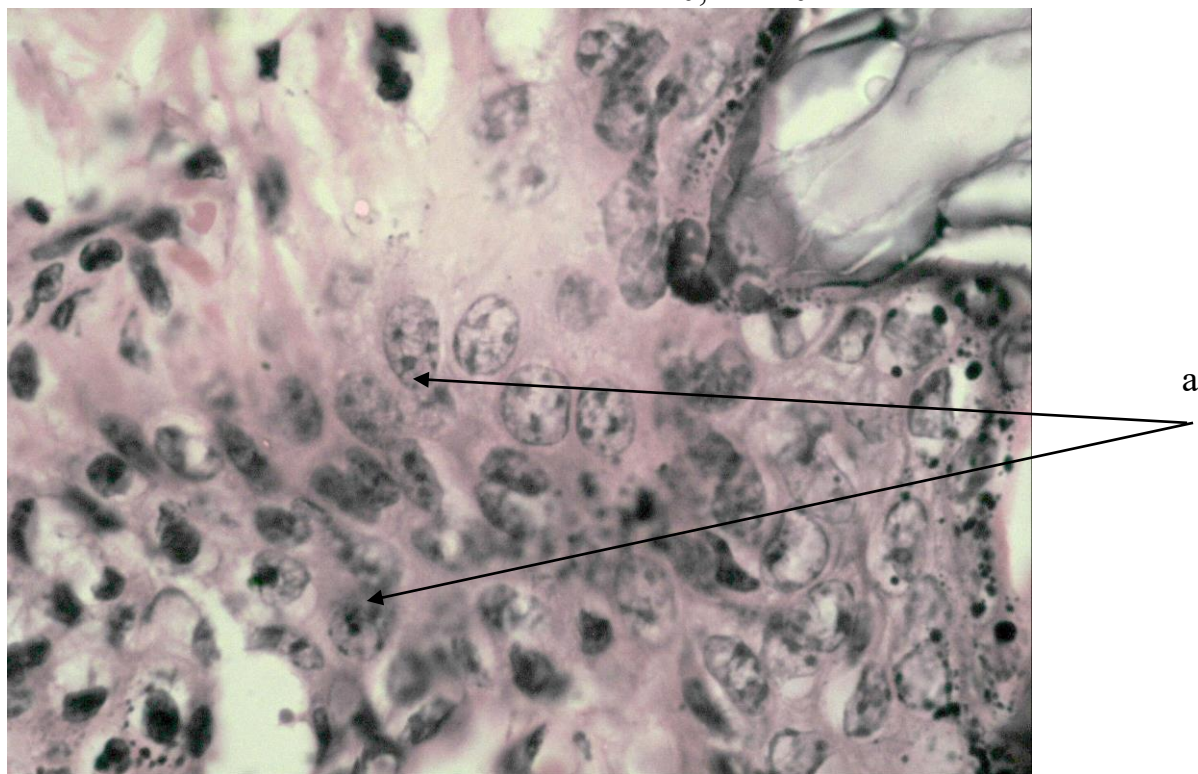


Рис. 3.3.13. Фрагмент шкіри мурчака на 42-у добу після зараження:
а - гіперплазія клітин базального шару, остистих клітин епідермісу
Гематоксилін та еозин. Ок. 10, об. 100.

Матеріали проведених досліджень висвітлені у працях [129, 130].

3.4. Дослідження крові та шкіри мурчаків при лікуванні препаратами «Мікромар» та «Біоглюк»

З метою з'ясування ефективності лікування мікроспорії препаратами «Мікромар» і «Біоглюк» були проведені дослідження на заражених мікроспорією мурчаках. Під час лікування для оцінки результатів проводилися дослідження крові та біопсія шкіри на 7,14 та 21 день після початку застосування препаратів. Хворим тваринам наносили препарат «Мікромар» 1 раз на день місцево протягом 21 дня та випоювали 1 раз на день препарат «Біоглюк» 21 день.

Проведені гематологічні дослідження засвідчили, що при лікуванні мікроспорії з використанням протигрибкового препарату «Мікромар» та імуностимулятора «Біоглюк» відбувається вірогідне зниження лейкоцитів з $11,13 \pm 0,72$ до $6,95 \pm 0,15$ Г/л, паличкоядерних нейтрофілів з $15,76 \pm 1,29$ до $6,17 \pm 0,65$ %, ШОЕ з $5,67 \pm 0,67$ до $2,17 \pm 0,31$ мм/год та вірогідне підвищення сегментоядерних нейтрофілів з $12,17 \pm 1,47$ до $22,00 \pm 0,86$ %, (табл. 3.4.1). Інші гематологічні показники характеризуються показниками у межах фізіологічної норми.

З досліджених імунологічних показників (табл. 3.4.2.2) нами відмічено поступове збільшення кількості Т-хелперів на 7-й, 14-й і 21-й день лікування. Кількість Т-хелперів збільшується при реакції організму на запальний процес і характеризує опірний статус імунної системи при боротьбі з хворобою. Відбувається активна імунна відповідь на запалення інфекційної етіології [29, 154, 156]. Вони допомагають активності інших імунних клітин, вивільняючи цитокіни, невеликі білкові медіатори, які змінюють поведінку клітин-мішеней, які експресують рецептори цих цитокінів. Ці клітини допомагають спрямувати імунну відповідь у відповідний вид залежно від природи імунологічного ураження. Зазвичай, вони вважаються важливими для активації та росту цитотоксичних Т-клітин,

а також для максимального підвищення бактерицидної активності фагоцитів, таких як макрофаги та нейтрофіли.

Результати наших досліджень узгоджуються із літературними даними.

Таблиця 3.4.1

Морфологічні показники крові у мурчаків при лікуванні мікроспорії препаратами «Мікромар» та «Біоглюк»

$M \pm m, n=6$

Показники	Одиниці виміру	Хворі	Лікування		
			7 день	14 день	21 день
Еритроцити	Т/л	5,25± 0,21	5,73± 0,11	5,84± 0,08	5,82± 0,15
Гемоглобін	г/л	113,33± 4,51	115,00± 3,81	115,83± 4,17	120,00± 3,44
Гематокрит	%	37,17± 7,60	36,83± 1,17	36,83± 0,83	35,83± 0,60
Тромбоцити	Г/л	231,17± 7,60	206,00± 5,16	213,50± 5,99	218,67± 6,95
Лейкоцити	Г/л	11,13± 0,72	9,57± 0,45	7,35± 0,28**	6,95± 0,15**
Нейтрофіли	П	15,76± 1,29	12,33± 0,80	8,83± 0,60***	6,17± 0,65***
	С	12,17± 1,47	19,01± 1,65**	21,33± 1,56***	22,00± 0,86***
Еозинофіли	%	2,70± 0,73	2,83± 0,54	2,83± 0,79	3,17± 0,48
Базофіли	%	0	0	0	0
Моноцити	%	4,17± 0,83	6,00± 0,58	5,18± 0,65	5,17± 0,75
Лімфоцити	%	65,20± 1,48	59,83± 1,04	61,83± 0,79	63,50± 0,67
ШОЕ	мм/год	5,67± 0,67	3,67± 0,42	2,00± 0,37**	2,17± 0,31**
Кольоровий показник		0,76± 0,02	0,78± 0,01	0,75± 0,01	0,76± 1,01

Примітка: вірогідність різниць з хворими тваринами:

** - при $P < 0,01$; *** - при $P < 0,001$.

Таблиця 3.4.2

**Імунологічні показники крові у мурчаків при лікуванні мікроспорії
препаратами «Мікромар» та «Біоглюк»**

$M \pm m, n=6$

Показники	Одиниці виміру	Хворі	Лікування		
			7 день	14 день	21 день
В-лімфоцити	%	22,33± 0,95	24,67± 0,88	26,33± 1,05	24,00± 0,58
Т-лімфоцити	%	53,83± 0,85	53,00± 0,89	50,33± 0,84	51,83± 1,01
О-лімфоцити	%	23,84± 1,14	22,33± 1,12	23,34± 1,36	24,17± 1,35
Натуральні кілери	%	19,33± 0,84	19,00± 1,39	18,83± 0,79	17,50± 1,18
Т-хелпери	%	33,33± 0,71	34,33± 0,67	36,50± 0,76	37,33± 0,49
Т-супресори	%	23,00± 1,51	22,17± 0,79	19,33± 0,49	21,00± 0,68

Результати гістологічного дослідження шкіри на 7 добу лікування характеризуються значним потоншенням рогового шару, базофільністю ядер шипуватого шару і структурованістю клітин епідермісу (рис. 3.4.1). У сосочковому шарі дерми ще відзначили помірне розпушення сполучно-тканинних волокон, розширення просвіту капілярів та венул, зменшення кількості клітин запального інфільтрату [153].

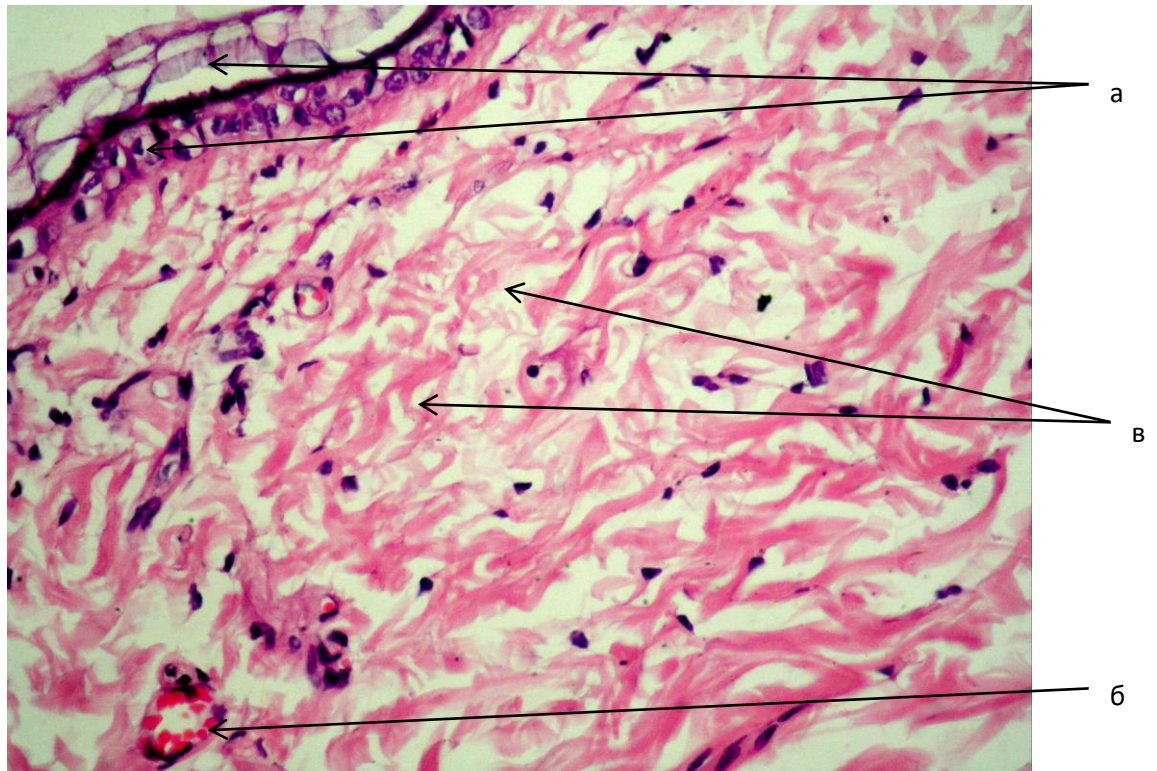


Рис. 3.4.1. Гістологічна структура фрагменту шкіри мурчача на 7 добу лікування:

а - епідерміс; б - розширення кровоносних капілярів; в - дерма.
Гематоксилін та еозин. Ок. 10, об. 20.

На 14 день відмічено чітке диференціювання шарів епідермісу, розрішення серозно-запального набряку дерми (рис. 3.4.2). Колагенові та еластичні волокна сосочкового шару дерми, порівняно з дермою на 7 добу лікування мурчаків, розміщуються компактніше. Серед волокон розміщені веретеноподібні фібробласти та округлої форми лімфоцити.

На 21 добу візуалізується зовнішня коренева піхва волосяних фолікулів (рис. 3.4.3), що свідчить про відновлення життєдіяльності волоса шляхом активації трофічних процесів в структурі епітелію волосяних цибулин та відновлення структур епідермісу та дерми [153, 156].

Лікування препаратами «Мікромар» та «Біоглюк» супроводжується зниженням кількості лейкоцитів, паличкоядерних нейтрофілів та ШОЕ, збільшенням кількості сегментоядерних нейтрофілів. Збільшення Т-хелперів протягом лікування характеризує захисну реакцію організму і його опірний статус. В шкірі проходять регенеративні процеси та активна трофіка волоса.

Матеріали проведених досліджень висвітлені у працях [53, 145].

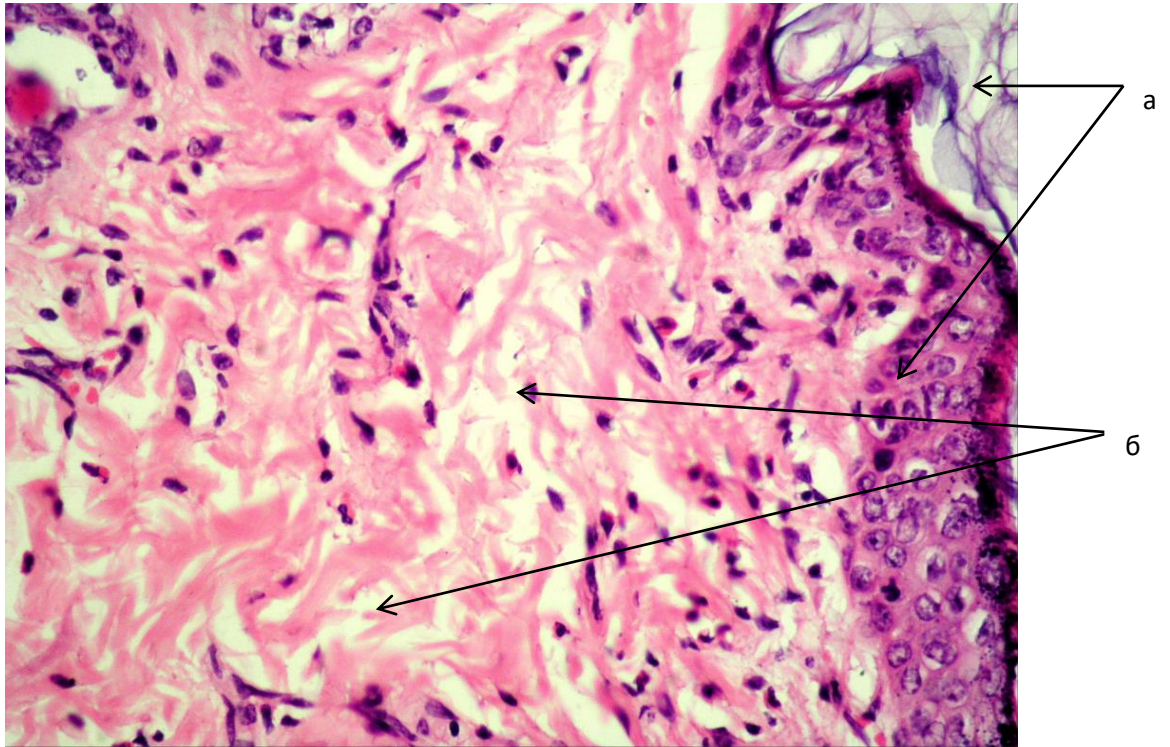


Рис. 3.4.2. Гістологічна структура фрагменту шкіри мурчака на 14 добу лікування:

а - епідерміс; б - дерма (поодинокі еритроцити в товщі).

Гематоксилін та еозин. Ок. 10, об. 20.

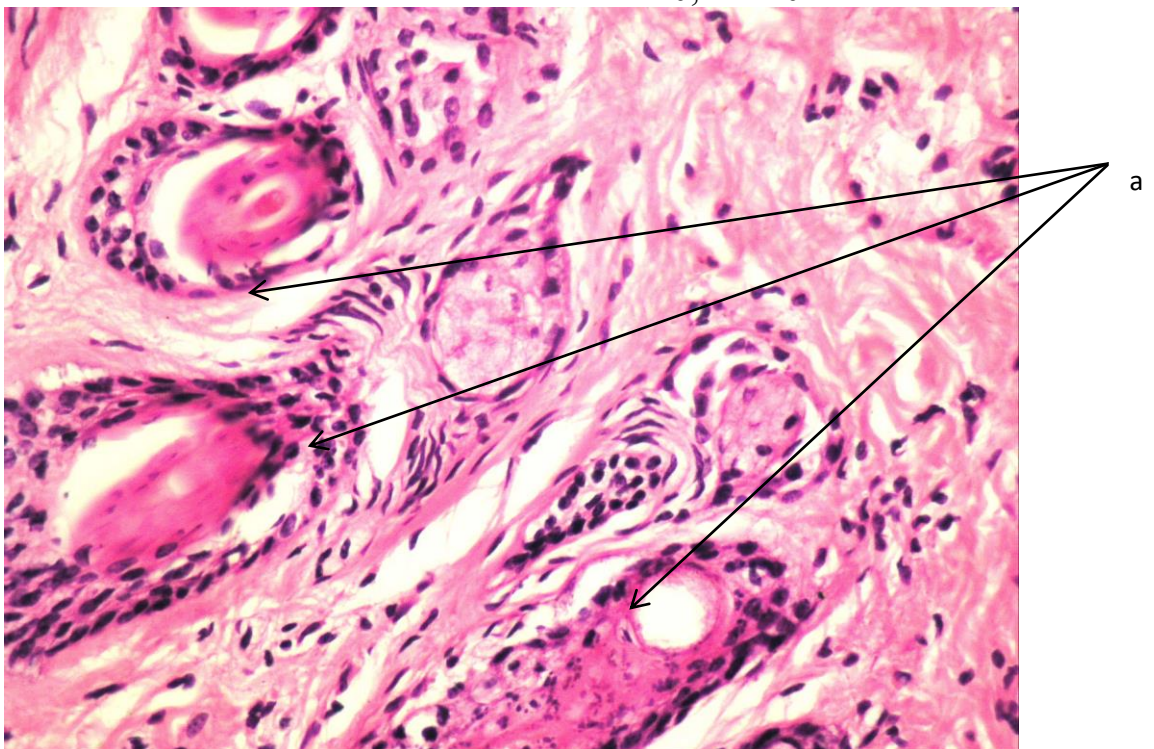


Рис. 3.4.3. Гістологічна структура фрагменту шкіри мурчака на 21 добу лікування:

а - епітелій волосяних фолікулів.

Гематоксилін та еозин. Ок. 10, об. 20.

3.5. Порівняльна характеристика різних схем лікування

мікроспорії у мурчаків

З метою з'ясування ефективності лікування мікроспорії препаратами «Мікромар» [24] і «Біоглюк» [25] були проведені дослідження на заражених мікроспорією мурчаках. За перебігу хвороби проводилися морфологічні дослідження крові та визначення вмісту Т- і В-лімфоцитів та їх субпопуляцій, гістологічні дослідження шкіри під час лікування та на стадії одужання.

Хворих тварин було поділено на 3 групи по 6 голів. Перша група отримувала терапію системним протигрибковим препаратом ітраконазол в дозі 5-10 мг/кг кожні 24 години на протязі 21 дня [112, 118]. Препарат задавали перорально. Також на ділянки ураження проводили місцеві обробки 1% розчином клотримазолу 1 раз на добу 21 день. Другій групі проводили місцеві обробки протигрибковим засобом (1% розчин клотримазолу) та вакцинацію протигрибковою вакциною «Вакдерм» 2- разово з інтервалом 10-14 діб [23, 169]. Третій групі наносили препарат «Мікромар» на уражені ділянки шкіри 1 раз на день місцево протягом 21 дня та випоювали 1 раз на день препарат «Біоглюк» 21 день. Були проведені забори крові у здорових тварин та у хворих на 21 та 42 добу після зараження. Під час лікування забори крові на дослідження проводили на 7, 14 та 21 добу, а біопсію шкіри на 7 та 14 день після початку застосування препаратів.

Отримані результати засвідчили (табл. 3.5.1), що при лікуванні мікроспорії ітраконазолом та клотримазолом відбулося вгамування запальної реакції організму на що вказує вірогідне зниження кількості лейкоцитів з $11,13 \pm 0,72$ до $7,13 \pm 0,22$ Г/л ($P < 0,01$), паличкоядерних нейтрофілів з $15,76 \pm 1,29$ до $5,50 \pm 0,76$ % ($P < 0,001$), і вірогідне підвищення кількості сегментоядерних з $12,17 \pm 1,47$ до $24,17 \pm 2,27$ % ($P < 0,001$), вірогідно знижується ШОЕ з $5,67 \pm 0,67$ до $2,33 \pm 0,42$ мм/год ($P < 0,01$).

**Морфологічні показники крові у мурчаків при лікуванні мікроспорії
ітраконазолом та клотримазолом**

M ±m,n=6

Показники	Одиниці виміру	Хворі на 42 день	Лікування			
			7 днів	14 днів	21 день	
Еритроцити	Т/л	5,25± 0,21	5,72± 0,14	5,77± 0,09	5,77± 0,17	
Гемоглобін	г/л	113,33± 4,51	118,83± 2,32	120,00± 1,51	118,17± 3,04	
Гематокрит	%	37,17± 7,60	36,83± 1,64	36,67± 0,95	36,07± 0,80	
Тромбоцити	Г/л	231,17± 7,60	183,17± 6,22**	166,00± 5,69***	184,33± 7,65**	
Лейкоцити	Г/л	11,13± 0,72	8,08± 0,52	7,05± 0,23**	7,13± 0,22**	
Нейтрофіли	П	%	15,76± 1,29	8,67± 0,88**	7,10± 0,70***	5,50± 0,76***
	С	%	12,17± 1,47	25,17± 1,87***	19,90± 1,78***	24,17± 2,27***
Еозинофіли	%	2,70± 0,73	9,0± 0,73***	10,80± 0,79***	7,33± 1,33***	
Базофіли	%	0	0	0	0	
Моноцити	%	4,10± 0,83	3,33± 0,49	3,70± 0,26	3,83± 0,54	
Лімфоцити	%	65,20± 1,48	53,83± 1,30	58,50± 2,53	59,17± 1,33	
ШОЕ	мм/год	5,67± 0,67	2,83± 0,31**	2,83± 0,31**	2,33± 0,42**	
Кольоровий показник		0,76± 0,02	0,76± 0,01	0,76± 0,01	0,76± 0,01	

Примітка: вірогідність різниць з хворими тваринами:**- при P<0,01;

*** - при P<0,001;

Також відмічається тромбоцитопенія (з 231,17±7,6 до 184,33±7,65 Г/л)

та еозинофілія (з $2,70 \pm 0,73$ до $7,33 \pm 1,33$ %). Причиною тромбоцитопенії найчастіше є алергічні реакції. Еозинофіли в крові збільшуються за умови сенсibilізації організму алергеном. Вони залучаються до реакції гіперчутливості негайного та уповільненого типу [58].

Еозинофілія є ознакою перебігу алергічної реакції, спричиненою алергеном. Беручи до уваги однакові умови утримання та годівлі дослідних груп тварин, а також присутність клотримазолу в усіх методах лікування можна припустити, що ітраконазол може провокувати виникнення явища алергізації організму. В процесі лікування виявлено незначне тенденційне підвищення кількості Т-хелперів та зниження Т-супресорів (табл. 3.5.2) як наслідок нормалізації імунної відповіді організму [127].

Таблиця 3.5.2

**Імунологічні показники крові у мурчаків при лікуванні мікроспорії
ітраконазолом та клотримазолом**

M \pm m, n=6

Показники	Одиниці виміру	Хворі на 42 день	Лікування		
			7 днів	14 днів	21 день
В-лімфоцити	%	$22,33 \pm 0,95$	$22,00 \pm 1,15$	$21,17 \pm 1,31$	$19,83 \pm 0,79$
Т-лімфоцити	%	$53,83 \pm 0,85$	$59,00 \pm 1,00$	$53,33 \pm 1,31$	$53,33 \pm 0,84$
О-лімфоцити	%	$23,84 \pm 1,14$	$19,00 \pm 1,36$	$25,50 \pm 1,41$	$26,84 \pm 0,70$
Натуральні кілери	%	$19,33 \pm 0,84$	$22,00 \pm 0,82$	$19,00 \pm 0,58$	$18,33 \pm 0,76$
Т-хелпери	%	$33,33 \pm 0,71$	$32,17 \pm 0,83$	$37,00 \pm 0,73$	$36,17 \pm 0,49$
Т-супресори	%	$23,00 \pm 1,51$	$20,83 \pm 0,70$	$19,50 \pm 0,96$	$19,33 \pm 0,49$

Проведені гістологічні дослідження на 7 добу лікування (рис. 3.5.1) засвідчили помірну клітинну інфільтрацію в дермі та незначне розшарування

колагенових волокон [71]. Розшарування колагенових волокон виникло внаслідок серозно-запального набряку дерми та утворенням лімфогістіоцитарних інфільтратів [106].

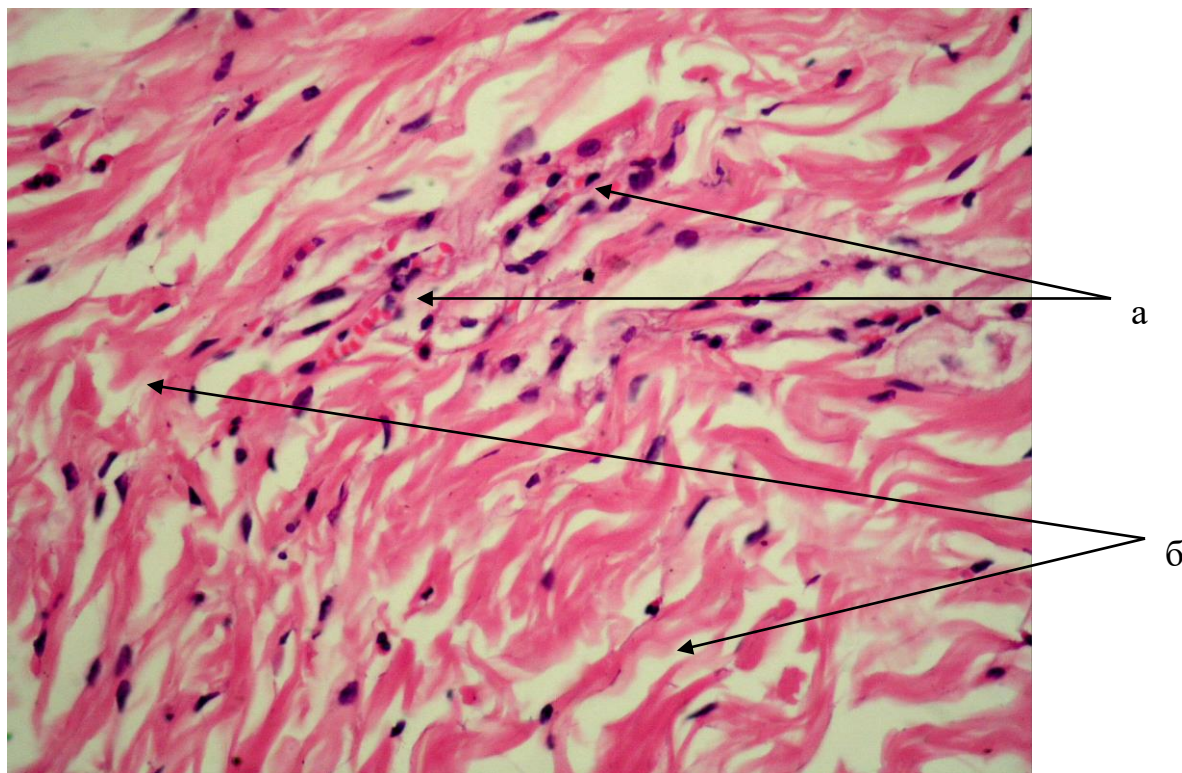


Рис. 3.5.1. Гістологічна структура фрагменту шкіри мурчака на 7 день лікування

мікроспорії ітраконазолом та клотримазолом:

а - помірна лімфогістіоцитарна інфільтрація в дермі;

б - незначне розшарування колагенових волокон.

Гематоксилін та еозин. Ок. 10, об. 20.

На 14 добу лікування ще зберігається інфільтрація дерми лімфогістіоцитарними компонентами з поодинокими еозинофілами, що вказує на подальший перебіг запальної реакції (рис. 3.5.2). Поява еозинофілів в інфільтраті є ознакою прояву алергії, алергізації шкірного покриву та безпосереднього впливу алергена на організм [7, 136]. Функція еозинофілів в таких випадках полягає у нейтралізації гістаміну як медіатора запалення в місці локалізації запального вогнища [159].

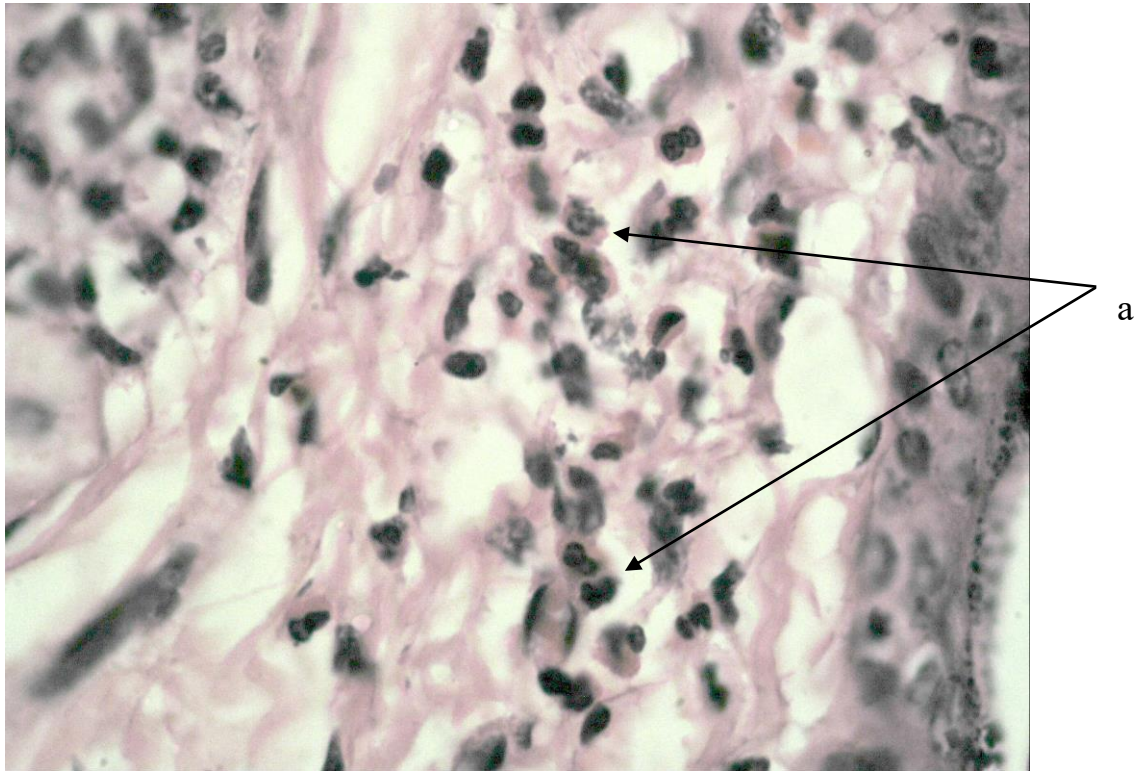


Рис. 3.5.2. Гістологічна структура фрагменту шкіри мурчака на 14 день лікування мікроспорії ітраконазолом та клотримазолом:

а - лімфогістіоцитарні інфільтрати в дермі.

Гематоксилін та еозин. Ок. 10, об. 100.

При лікуванні мікроспорії 1% розчином клотримазолу та вакциною «Вакдерм» отримані результати досліджень засвідчили (табл. 3.5.3), що кількість лейкоцитів знижується з $11,13 \pm 0,72$ до $5,35 \pm 0,31$ Г/л ($P < 0,01$), паличкоядерних нейтрофілів з $15,76 \pm 1,29$ до $7,67 \pm 0,56$ % ($P < 0,001$), а сегментоядерних підвищується з $12,17 \pm 1,47$ до $22,17 \pm 0,91$ % ($P < 0,001$), знижується ШОЕ з $5,67 \pm 0,67$ до $2,83 \pm 0,31$ мм/год ($P < 0,01$). Також відмічається незначне збільшення Т-хелперів та поступове зниження Т-супресорів (табл. 3.5.4), що свідчить про розвиток активної імунної відповіді на запалення інфекційної етіології [57].

Таблиця 3.5. 3

**Морфологічні показники крові у мурчаків при лікуванні мікроспорії
1% розчином клотримазолу та вакциною «Вакдерм»**

M ±m, n=6

Показники	Одиниці виміру	Хворі на 42 день	Лікування			
			7 днів	14 днів	21 день	
Еритроцити	Т/л	5,25± 0,21	5,38± 0,16	5,47± 0,13	5,63± 0,10	
Гемоглобін	г/л	113,33± 4,51	113,50± 2,62	115,17± 1,54	113,83± 3,66	
Гематокрит	%	37,17± 7,60	36,50± 0,67	36,67± 0,56	37,67± 0,76	
Тромбоцити	Г/л	231,17± 7,60	207,83± 8,51*	222,33± 6,59	220,17± 5,63	
Лейкоцити	Г/л	11,13± 0,72	9,57± 0,60	8,20± 0,50*	5,35± 0,31**	
Нейтрофіли	П	%	15,76± 1,29	24,00± 0,73**	10,83± 0,60	7,67± 0,56*
	С	%	12,17± 1,47	18,83± 1,49**	18,67± 1,15**	22,17± 0,91***
Еозинофіли	%	2,70± 0,73	3,33± 0,33	3,17± 0,48	2,33± 0,42	
Базофіли	%	0	0	0	0	
Моноцити	%	4,10± 0,83	5,83± 0,75	6,00± 0,73	6,17± 0,70	
Лімфоцити	%	65,20± 1,48	58,00± 1,18	61,33± 1,23	61,67± 1,09	
ШОЕ	мм/год	5,67± 0,67	4,67± 0,33	3,00± 0,37*	2,83± 0,31**	
Кольоровий показник		0,76± 0,02	0,76± 0,02	0,77± 0,01	0,75± 0,01	

Примітка: вірогідність різниць з хворими тваринами: * - при P<0,05;

** - при P<0,01; *** - при P<0,001.

Таблиця 3.5.4

Імунологічні показники крові у мурчаків при лікуванні мікроспорії

1% розчином клотримазолу та вакциною «Вакдерм»

M ±m, n=6

Показники	Одиниці виміру	Хворі на 42 день	Лікування		
			7 днів	14 днів	21 день
В-лімфоцити	%	22,33± 0,95	21,50± 0,76	20,83± 0,60	19,67± 0,67
Т-лімфоцити	%	53,83± 0,85	59,00± 1,00	57,17± 0,75	54,33± 0,67
0-лімфоцити	%	23,84± 1,14	19,50± 0,87	22,00± 0,74	26,00± 0,92
Натуральні кілери	%	19,33± 0,84	20,67± 0,88	19,83± 0,75	19,50± 0,62
Т-хелпери	%	33,33± 0,71	35,33± 0,88	36,67± 0,88	36,33± 0,76
Т-супресори	%	23,00± 1,51	21,17± 0,60	18,67± 0,67	19,17± 0,48

Гістологічними дослідженнями встановлено, що на 7 добу лікування роговий шар епідермісу потовщений (рис. 3.5.3). Відмічено ознаки лущення рогових клітин [40]. Ознаки гіперплазії базального шару відсутні. Дерма незначно потовщена. [156]. Проте встановлена чітка оконтурована пошаровість клітин епітелію, що є ознакою регенеративних процесів в структурі шкіри [7]. Виражених структурних змін в сосочковому шарі дерми не виявлено.

На 14 добу лікування (рис. 3.5.4) спостерігається помірна гіперемія в сосочковому шарі дерми, розширення сполучно-тканинних волокон і помірне просякнення слабооксифільно рідиною. Волосяні піхви структуровані [16].

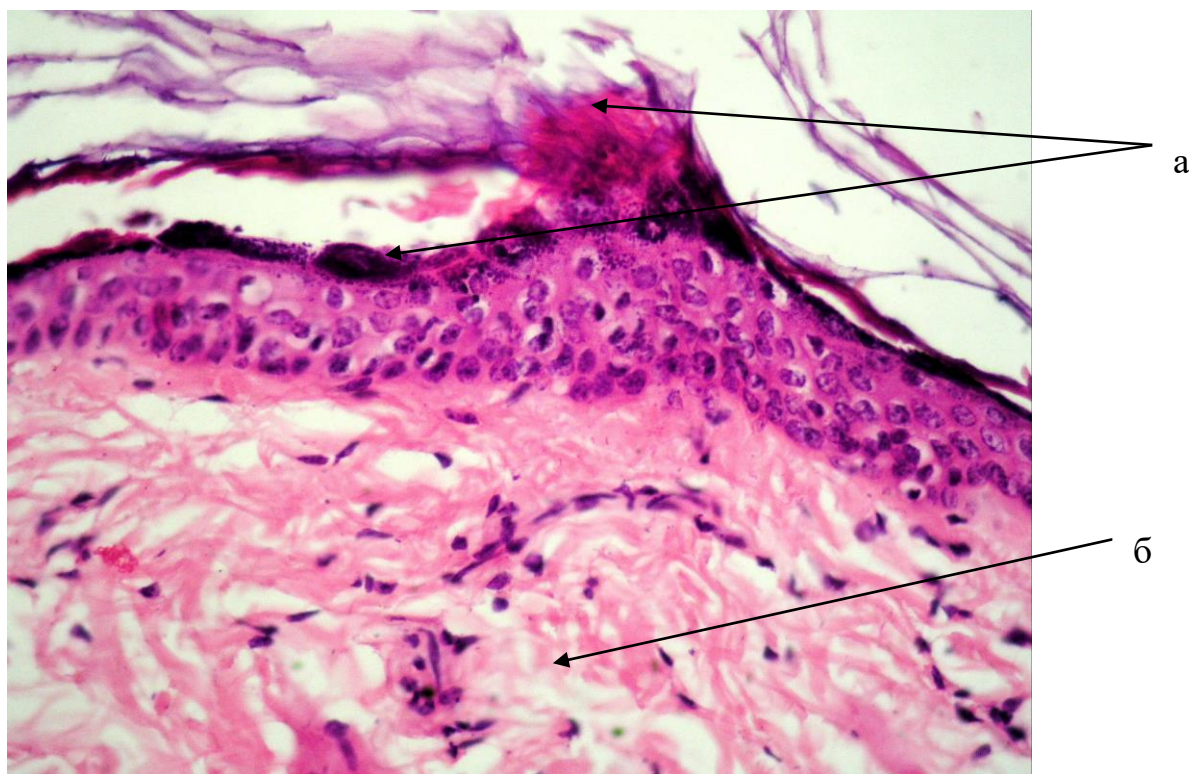


Рис. 3.5.3. Гістологічна структура фрагменту шкіри мурчака на 7 добу лікування мікроспорії клотримазолом та вакциною «Вакдерм»:
 а - потовщення рогового шару епідермісу; б - набряк дерми.
 Гематоксилін та еозин. Ок. 10, об. 20

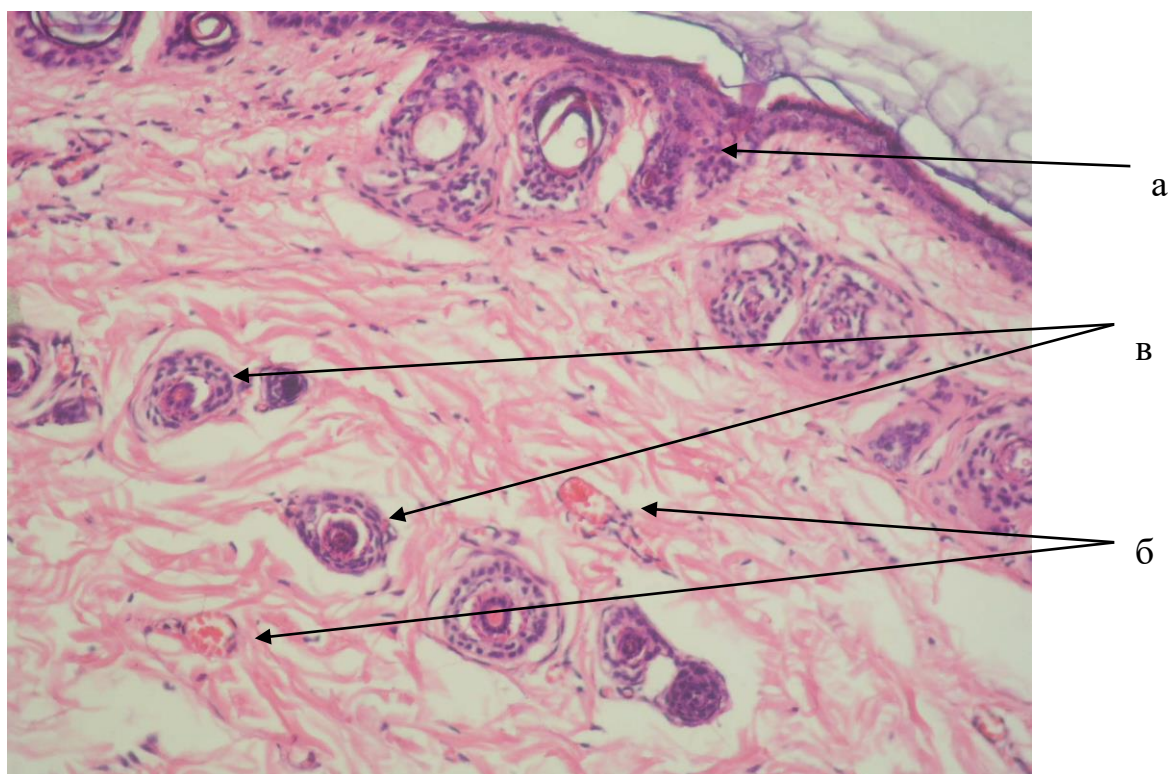


Рис. 3.5.4. Гістологічна структура фрагменту шкіри мурчака на 14 добу лікування мікроспорії клотримазолом та вакциною «Вакдерм»:
 а - активна гіперемія базального шару епідермісу; б - кровеносні судини в дермі;
 в - волосяні цибулини. Гематоксилін та еозин. Ок. 10, об. 10.

При лікуванні мікроспорії з використанням протигрибкового препарату «Мікромар» та імуностимулятора «Біоглюк» отримані результати досліджень засвідчили (табл. 3.5.5), що кількість лейкоцитів знижується з $11,13 \pm 0,72$ до $6,95 \pm 0,15$ Г/л ($P < 0,01$), паличкоядерних нейтрофілів з $15,76 \pm 1,29$ до $6,17 \pm 0,65$ % ($P < 0,001$), а кількість сегментоядерних підвищується з $12,17 \pm 1,47$ до $22,00 \pm 0,86$ % ($P < 0,001$), знижується ШОЕ з $5,67 \pm 0,67$ до $2,17 \pm 0,31$ мм/год ($P < 0,01$). Відмічено незначне тенденційне збільшення кількості Т-хелперів, що вказує на розвиток імунної відповіді при запаленні інфекційної етіології (табл. 3.5.6). Спостерігається поступове зменшення кількості натуральних кілерів та Т-супресорів, що є ознакою підвищення опірності імунної системи [31, 59].

Структурно природні кілери є типовими лімфоцитами, оскільки вони формуються в кістковому мозку та тимусі разом із Т-лімфоцитами з спільного попередника, але не виділяють антиген-специфічних рецепторів, тобто не впізнають антиген так як Т лімфоцити. Вони мають цитолітичний апарат, схожий до ЦТЛ (цитотоксичні Т-лімфоцити), і синтезують цитокіни, подібно до Т-хелперів. На відміну від Т-лімфоцитів, природні кілери здійснюють свої ефекторні функції при первинному контакті з чинником, тобто не потребують стадії проліферації.

Т-супресори пригнічують надмірну активність Т- і В-лімфоцитів, формування антитіл, чим запобігають надмірній відповіді імунної системи. Тим самим вони попереджують занадто активні імунні реакції. Т-супресори забезпечують формування імунологічної толерантності (ареактивності до власних антигенів і до тих, з якими вже був попередній контакт) та саморегуляцію системи імунітету. Кількість Т-супресорів за перебігу дерматологічних захворювань зменшується, але деякі автори відмічають загальну кількість Т-лімфоцитів та субпопуляцій Т-клітин в нормі. При тому зберігається їх звичайне співвідношення [80]. Ймовірно, що в таких випадках реактогенні властивості організму змінюються локально, безпосередньо в шкірі.

Таблиця 3.5.5

**Морфологічні показники крові у мурчаків при лікуванні мікроспорії
препаратами «Мікромар» та «Біоглюк»**

M ±m, n=6

Показники	Одиниці виміру	Хворі на 42 день	Лікування			
			7 днів	14 днів	21 день	
Еритроцити	Т/л	5,25± 0,21	5,73± 0,11	5,84± 0,08	5,82± 0,15	
Гемоглобін	г/л	113,33± 4,51	115,00± 3,81	115,83± 4,17	120,00± 3,44	
Гематокрит	%	37,17± 7,6	36,83± 1,17	36,83± 0,83	35,83± 0,60	
Тромбоцити	Г/л	231,17± 7,60	206,00± 5,16	213,50± 5,99	218,67± 6,95	
Лейкоцити	Г/л	11,13± 0,72	9,57± 0,45	7,35± 0,28**	6,95± 0,15**	
Нейтрофіли	П	%	15,76± 1,29	12,33± 0,80	8,83± 0,60***	6,17± 0,65***
	С	%	12,17± 1,47	19,01± 1,65**	21,33± 1,56***	22,00± 0,86***
Еозинофіли	%	2,70± 0,73	2,83± 0,54	2,83± 0,79	3,17± 0,48	
Базофіли	%	0	0	0	0	
Моноцити	%	4,17± 0,83	6,00± 0,58	5,18± 0,65	5,17± 0,75	
Лімфоцити	%	65,20± 1,48	59,83± 1,04	61,83± 0,79	63,50± 0,67	
ШОЕ	мм/год	5,67± 0,67	3,67± 0,42	2,00± 0,37**	2,17± 0,31**	
Кольоровий показник		0,76± 0,02	0,78± 0,01	0,75± 0,01	0,76± 1,01	

Примітка: вірогідність різниць з хворими тваринами:**- при P<0,01;

*** - при P<0,001.

Таблиця 3.5.6

**Імунологічні показники крові у мурчаків при лікуванні мікроспорії
препаратами «Мікромар» та «Біоглюк»**

M ±m,n=6

Показники	Одиниці виміру	Хворі на 42 день	Лікування		
			7 днів	14 днів	21 день
В-лімфоцити	%	22,33± 0,95	24,67± 0,88	26,33± 1,05	24,00± 0,58
Т-лімфоцити	%	53,83± 0,85	53,00± 0,89	50,33± 0,84	51,83± 1,01
0-лімфоцити	%	23,84± 1,14	22,33± 1,12	23,34± 1,36	24,17± 1,35
Натуральні кілери	%	19,33± 0,84	19,00± 1,39	18,83± 0,79	17,50± 1,18
Т-хелпери	%	33,33± 0,71	34,33± 0,67	36,50± 0,76	37,33± 0,49
Т-супресори	%	23,00± 1,51	22,17± 0,79	19,33± 0,49	21,00± 0,68

На 7 добу лікування гістологічна структура шкіри характеризується чіткою візуалізацією рогового, блискучого, зернистого та базального шарів епідермісу (рис. 3.5.5). Відсутні потовщення рогового та гіперплазія базального шарів епідермісу, які виникли внаслідок тривалого перебігу мікроспорії [153]. В дермі відмічається розширення кровоносних капілярів та незначні розрихлення, що може вказувати на залишкові запальні реакції, проте клітинна інфільтрація помірна [156].

На 14 добу чітко диференціюються усі шари епідермісу без ознак запалення та дистрофічних змін (рис. 3.5.6). Поодинокі еритроцити в товщі дерми є критерієм норми [153]. Дані зміни характерні на завершальних стадіях розрішення запального процесу в шкірі [145, 154].

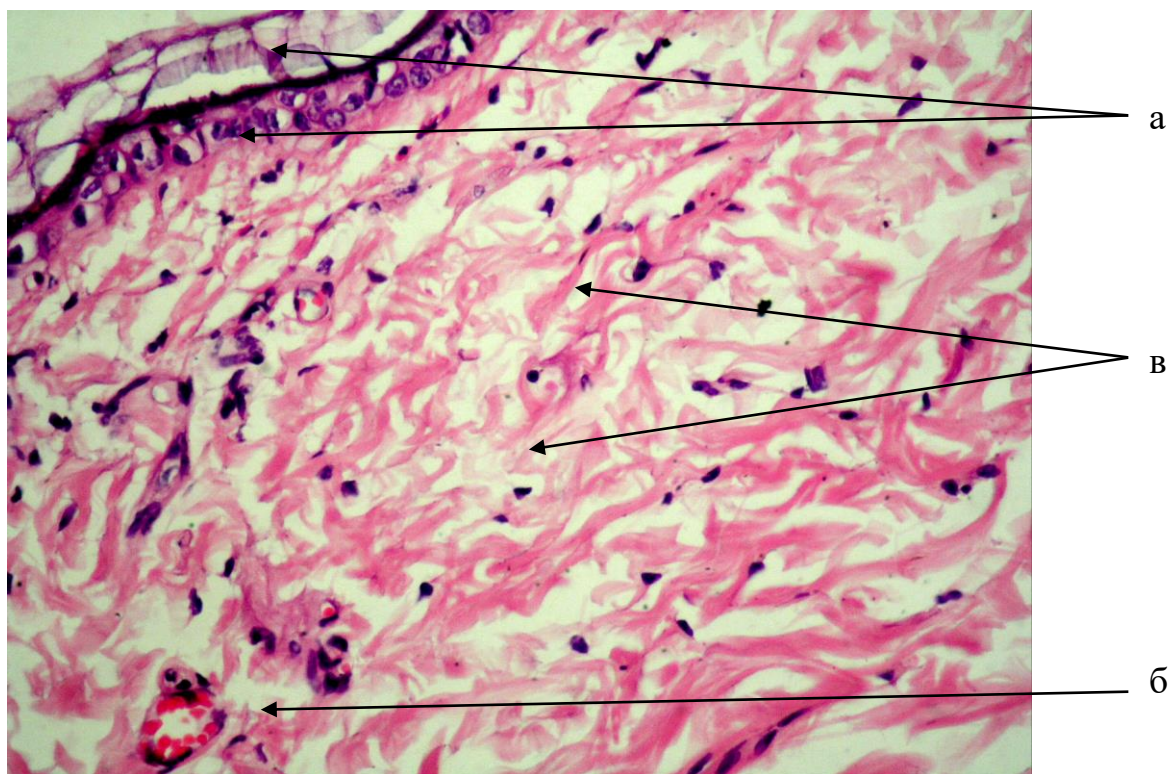


Рис. 3.5.5. Гістологічна структура фрагменту шкіри мурчака на 7 добу лікування мікроспорії препаратами «Мікромар» та «Біоглюк»:
 а - епідерміс; б - розширення кровоносних капілярів; в - дерма.
 Гематоксилін та еозин. Ок. 10, об. 10.

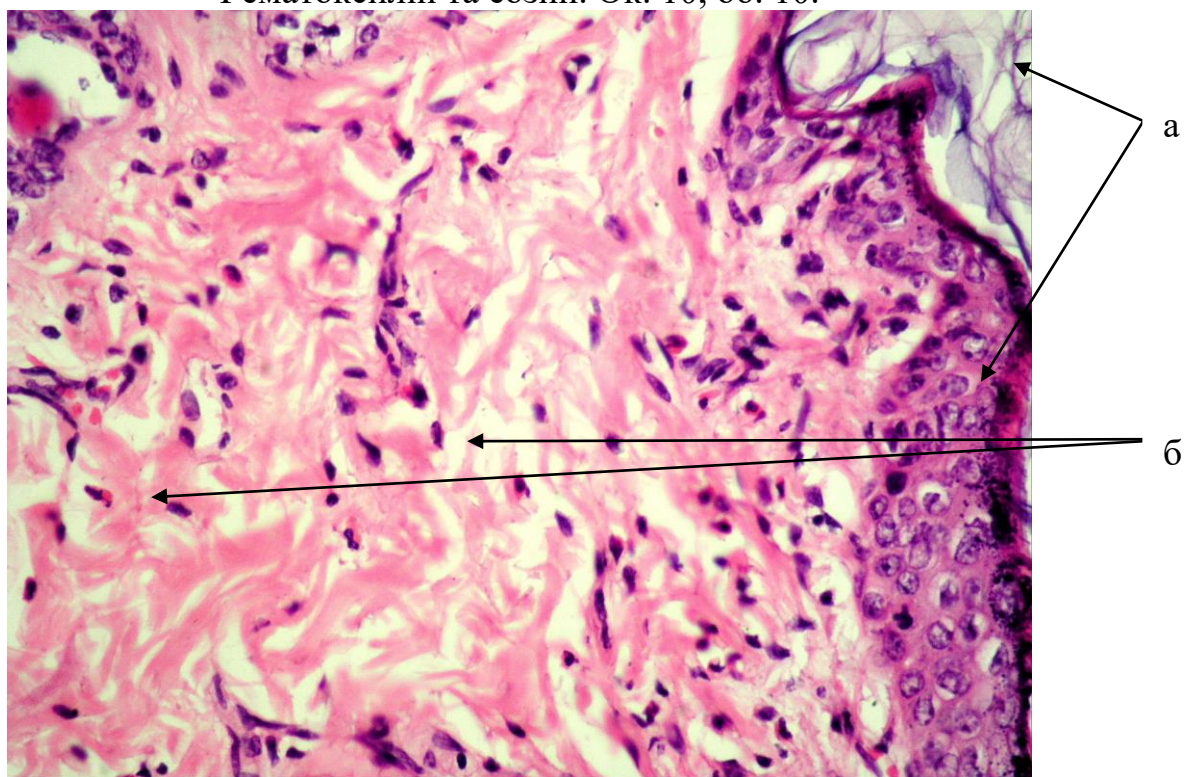


Рис. 3.5.6. Гістологічна структура фрагменту шкіри мурчака на 14 добу лікування мікроспорії препаратами «Мікромар» та «Біоглюк»:
 а - епідерміс; б - дерма.
 Гематоксилін та еозин. Ок. 10, об. 20.

Отже, при лікуванні мікроспорії інтраконазолом та клотримазолом проходить гальмування запального процесу, однак відмічені ознаки алергізації, які проявляються у вигляді підвищення еозинофілів, зниження тромбоцитів в крові, інфільтрацією товщі шкіри гістіоцитами та еозинофілами. Клотримазол в комбінації з вакциною «Вакдерм» знижує ступінь запального процесу, який характеризується зниженням кількості лейкоцитів, паличкоядерних нейтрофілів, збільшенням кількості Т-хелперів, однак зберігається тривала запальна реакція у верхніх шарах дерми. Протигрибковий засіб «Мікромар» з імуностимулятором «Біоглюк» при лікуванні мікроспорії формують активну імунну відповідь організму, не викликають побічних ефектів і забезпечують швидку регенерацію уражених ділянок шкіри.

Матеріали проведених досліджень висвітлені у працях [45, 53, 145].

3.6. Гематологічні дослідження крові у хворих мікроспорією котів

Робота виконувалась в умовах приватної ветеринарної клініки «Імпульс» м. Львова протягом 2018 року. Було сформовано 1-у контрольну і 1-у дослідну групи, по 9 котів в кожній. Контрольна група – клінічно здорові коти, дослідна група – хворі мікроспорією коти.

Проведенні гематологічні дослідження показали, що у тварин дослідної групи характерними є зміни морфологічного складу крові (табл. 3.6.1). У хворих тварин відзначили ознаки анемії, лейкопенії, лімфоцитопенії.

Таблиця 3.6.1

Морфологічні показники крові у котів хворих мікроспорією

$M \pm m, n=9$

Показники	Одиниці виміру	Контрольна група	Дослідна група	
Еритроцити	Т/л	8,17±0,24	5,7±0,28	
Гемоглобін	г/л	172±5,28	96,89±5,83***	
Гематокрит	%	37,67±1,83	37,26±2,44	
Тромбоцити	Г/л	315±17,88	292,11±28,53	
Лейкоцити	Г/л	10,47±0,33	3,93±0,42***	
Нейтрофіли	П	%	2,89±0,42	6,89±0,73***
	С	%	58,22±1,58	64,0±1,52
Еозинофіли	%	2,78±0,46	4,56±0,75**	
Базофіли	%	0	0	
Моноцити	%	2,67±0,37	2,0±0,27	
Лімфоцити	%	33,44±1,58	20,55±1,77**	
ШОЕ	мм/год	2,56±0,9	1,89±0,31	
Кольоровий показник		0,84±0,03	0,58±0,02	

Примітка: вірогідність різниць з клінічно здоровими тваринами:

** - при $P < 0,01$; *** - при $P < 0,001$.

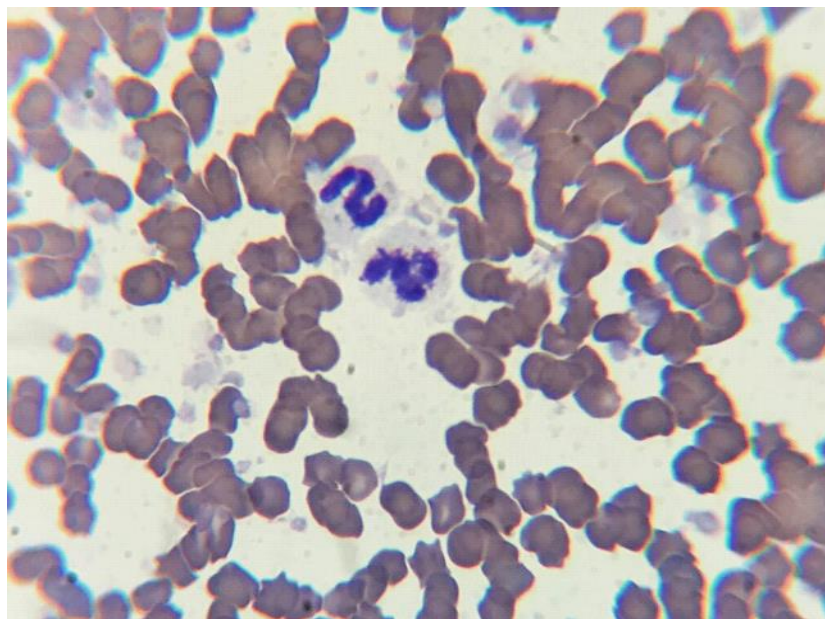
Зокрема, відмічено тенденційне зниження кількості еритроцитів до $5,7 \pm 0,28$ Т/л, при $8,17 \pm 0,24$ Т/л у тварин контрольної групи. Рівень гемоглобіну у крові тварин дослідної групи був нижчий на 43,7 % ніж у контролі. Кількість лейкоцитів вірогідно знижується до $3,93 \pm 0,42$ Г/л з $10,47 \pm 0,33$ Г/л у тварин контрольної групи. Вміст лімфоцитів знижується з $33,44 \pm 1,58$ % до $20,55 \pm 1,77$ % у тварин дослідної групи ($P < 0,01$). У тварин дослідної групи встановлено вірогідне підвищення паличкоядерних нейтрофілів, еозинофілів.

Захисна функція лейкоцитів – забезпечення клітинного імунітету. Вони розпізнають і знешкоджують генетично чужорідні мікроорганізми (протівірусний та протибактеріальний захист). Також знищують клітини, що руйнуються та перероджені клітини власного організму, розпізнають і знешкоджують генетично чужорідні речовини, що потрапляють в організм. Нейтрофільні гранулоцити один з видів лейкоцитів із гранулами всередині. Нейтрофіли беруть участь у захисних функціях організму. Вони містять лізосомні ферменти і головна їх функція – фагоцитоз. Нейтрофіли мають здатність активно пересуватися в тканинах до вогнища запалення і фагоцитувати мікроорганізми та інші дрібні частинки.

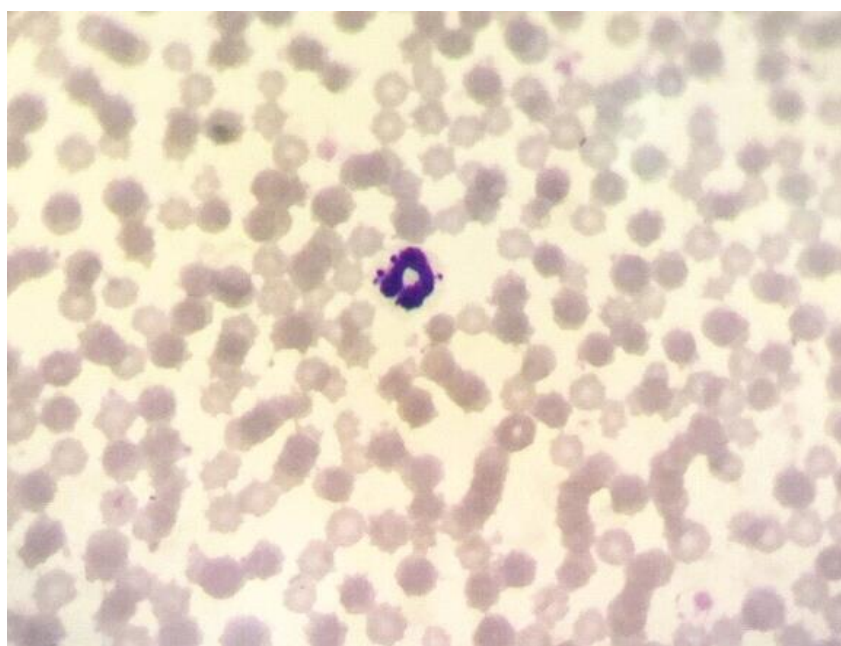
Лімфоцитопенія в поєднанні з лейкопенією свідчить про виснаження захисних сил організму [124].

У тварин дослідної групи виявлені зміни в структурі нейтрофілів по типу вакуолізації (рис. 3.6.1) та токсичної зернистості (рис. 3.6.2). Вакуолізація нейтрофілів вказує на виражену нейтрофільну токсичність.

Основними причинами появи гігантських нейтрофілів у котів можуть бути інфекції різної етіології та імунодефіцитний стан [96]. Токсигенна зернистість нейтрофілів відбувається всередині клітини в результаті фізико-хімічних змін білкової структури цитоплазми [49]. Такі клітини не можуть забезпечити фагоцитоз чужорідних агентів і таким чином знижується імунна активність організму у хворих на мікроспорію котів [166].

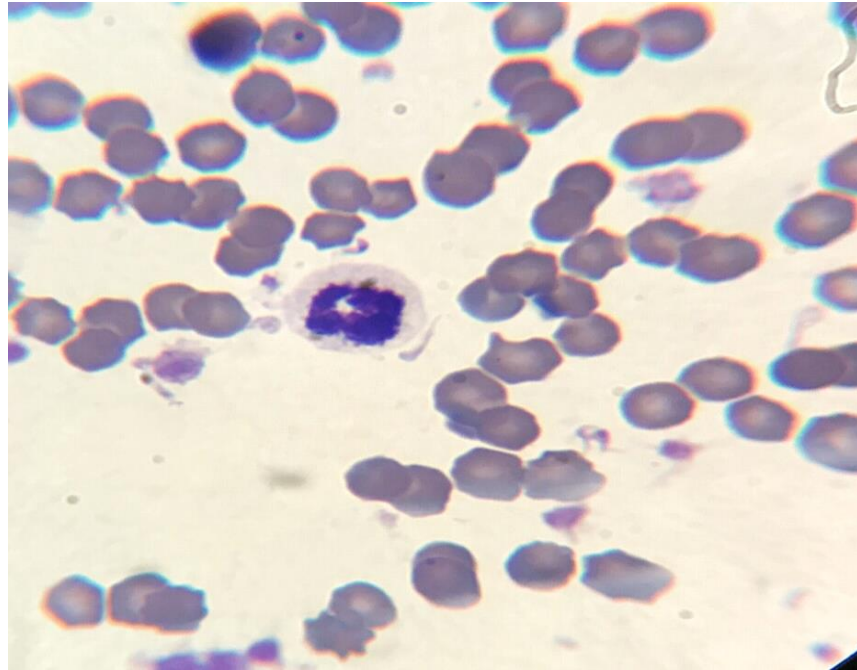


**Рис. 3.6.1. Хворі мікроспорією коти.
Вакуолізація нейтрофілів**



**Рис.3.6.2. Хворі мікроспорією коти.
Зернистість нейтрофілів**

Відмічена зміна форми еритроцитів у вигляді еритроцитів-окантоцитів з тільцями включення Жолі, яка характерна при анемії (рис 3.6.3). Тільця Жолі – залишки ядра, які збереглися в еритроцитах внаслідок порушення процесу змін ядра нормобластів [39].



**Рис.3.6.3. Хворі мікроспорією коти.
Еритроцити-окантоцити з тільцями включеннями Жолі**

Одержані результати узгоджуються з даними літератури [39, 49] і вказують, що на перебіг і прояв мікроспорії у котів впливає імунний статус організму.

Отже, вакуолізація та токсична зернистість нейтрофілів вказують на імуносупресивний стан організму. Наявність еритроцитів-окантоцитів з тільцями включеннями Жолі, свідчать про анемічний стан. Виникнення мікроспорії у котів залежить від резистентності імунної системи організму.

Матеріали проведених досліджень висвітлені у працях [41].

3.7. Апробація протигрибкового засобу «Мікромар» та імуностимулятора «Біоглюк» при лікуванні мікроспорії у котів

Для апробації препаратів було обрано котів, хворих мікроспорією з підтвердженим діагнозом. При лікуванні хворих мікроспорією 7 котів препарат «Мікромар» наносили 1 раз на день місцево та випоювали 1 раз на день препарат «Біоглюк» в дозі 1 мл на 1 кг маси тіла протягом 21 дня.

Проведені гематологічні і імунологічні дослідження засвідчили наступні зміни (табл. 3.7.1).

Таблиця 3.7.1

Гематологічні показники крові котів за використання протигрибкового засобу «Мікромар» та імуностимулятора «Біоглюк» при лікуванні мікроспорії

$M \pm m, n=7$

Показники	Одиниці виміру	Хворі		
		до лікування	на 21 день лікування	
Еритроцити	Т/л	4,23±0,35	5,45±0,23	
Гемоглобін	г/л	108,29±5,59	136,43±6,89	
Гематокрит	%	34,00±2,74	38,00±2,13	
Тромбоцити	Г/л	216,00±15,72	223,57±13,61	
Лейкоцити	Г/л	3,82±0,52	6,92±0,34***	
Нейтрофіли	П	%	13,57±1,81	6,00±0,82**
	С	%	53,43±2,32	59,57±1,19
Еозинофіли	%	4,83±1,01	4,14±0,70	
Базофіли	%	0	0	
Моноцити	%	4,43±0,72	4,86±0,51	
Лімфоцити	%	24,43±1,66	25,43±1,31	
ШОЕ	мм/год	8,86±1,39	4,57±0,72***	
Кольоровий показник		0,73±0,02	0,75±0,01	

Примітка: вірогідність різниць з хворими тваринами до лікування

** – при $P < 0,01$; *** – при $P < 0,001$.

Так на 21-й день після початку застосування препаратів відмічені зміни морфологічного складу крові, які проявлялися вірогідним збільшенням кількості лейкоцитів з $3,82 \pm 0,52$, до $6,92 \pm 0,34$ Г/л ($P < 0,001$); зниженням ШОЕ до $4,57 \pm 0,72$, з $8,86 \pm 1,39$ мм/год ($P < 0,01$). Кількість паличкоядерних нейтрофілів вірогідно знижується до $6,00 \pm 0,82$ з $13,57 \pm 1,81\%$ ($P < 0,01$), що вказує на активізацію імунної відповіді організму.

З досліджених імунологічних показників (табл. 3.7.2) відмічено вірогідне збільшення кількості Т-хелперів з $33,43 \pm 0,78$ до $41,57 \pm 0,48\%$ ($P < 0,05$). Кількість Т-хелперів підвищується при реакції організму на перебіг інфекційного процесу. Т-хелпери виявляють антиген, взаємодіють з В-лімфоцитами та сприяють їх перетворенню у плазматичні клітини. Вони є головним двигуном в імунних реакціях; допомагають В-лімфоцитам в імунних реакціях до Т-клітинозалежних агентів.

Таблиця 3.7.2

**Імунологічні показники крові котів за використання
протигрибкового засобу «Мікромар» та імуностимулятора «Біоглюк»
при лікуванні мікроспорії**

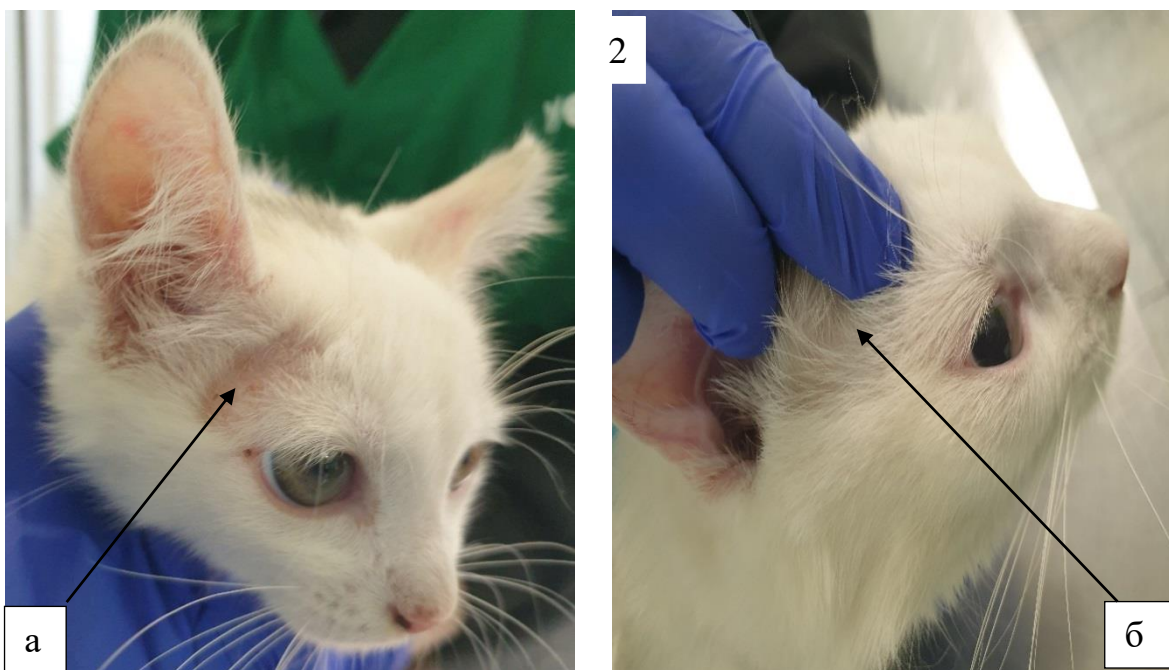
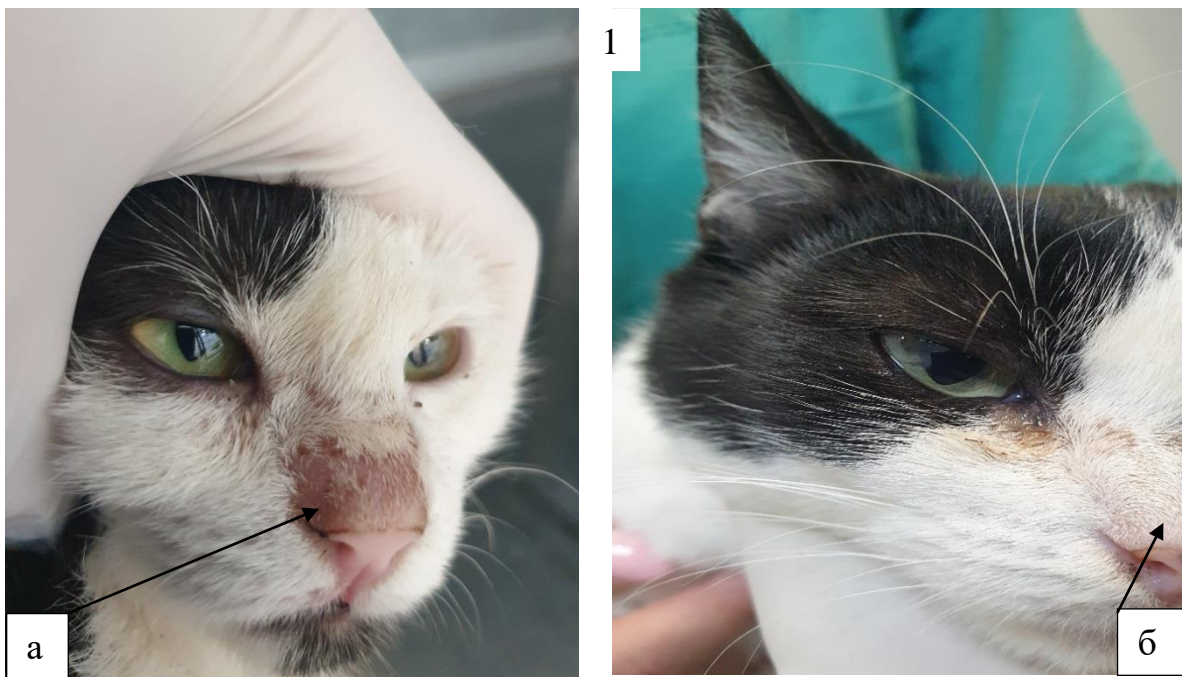
M \pm m, n=7

Показники	Одиниці виміру	Хворі	
		до лікування	на 21-й день лікування
В-лімфоцити	%	$19,71 \pm 0,52$	$21,29 \pm 0,57$
Т-лімфоцити	%	$59,00 \pm 0,90$	$53,43 \pm 0,75$
О-лімфоцити	%	$21,29 \pm 0,97$	$25,28 \pm 1,11$
Натуральні кілери	%	$21,43 \pm 0,48$	$16,57 \pm 0,53$
Т-хелпери	%	$33,43 \pm 0,78$	$41,57 \pm 0,48^*$
Т-супресори	%	$20,14 \pm 0,83$	$19,86 \pm 0,51$

Примітка: вірогідність різниць з хворими тваринами до лікування

* – при $P < 0,05$.

Візуальні зміни на шкірі та шерсті котів хворих мікроспорією після проведеної терапії представлені на рис. 3.7.1



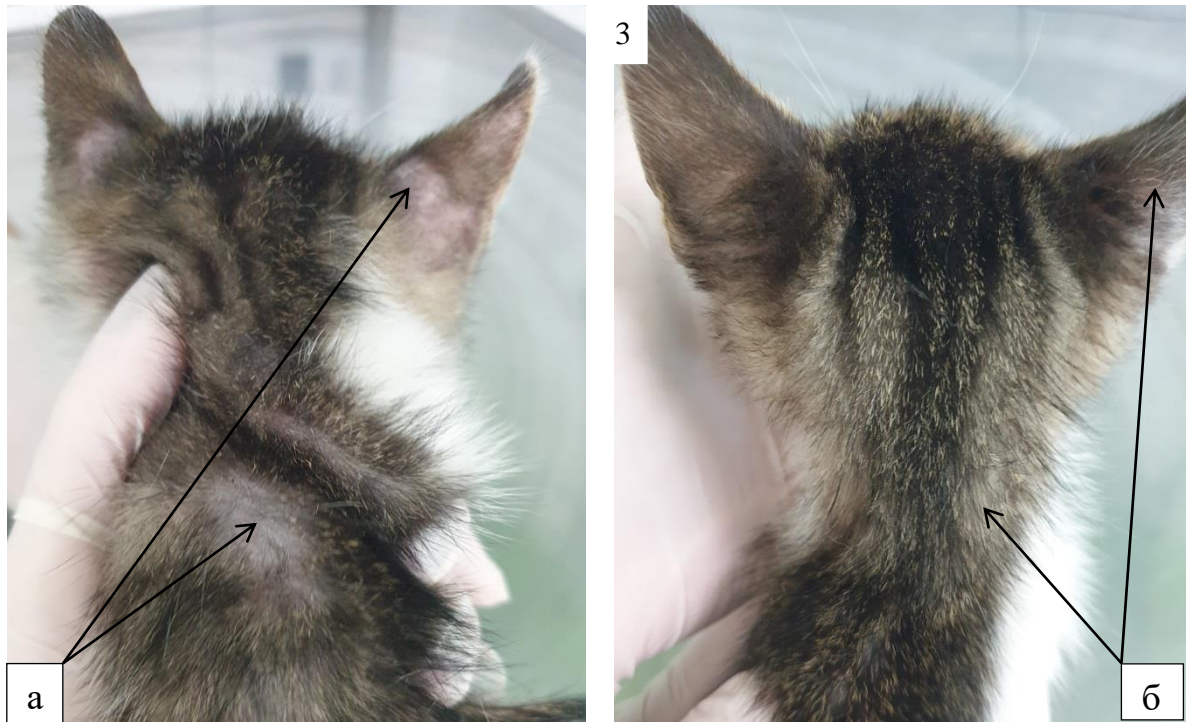


Рис. 3.7.1. Хворі мікроспорією коти:
а – до лікування; б – на 21 добу після лікування.

Хворі тварини, які піддавалися лікуванню препаратами «Мікромар» та «Біоглюк» мали поверхневу локалізовану форму мікроспорії, яка найчастіше спостерігається у котів, згідно з літературними даними. На поверхні шкіри уражені ділянки мали вигляд ізольованих алопецій з ознаками лущення та формуванням кірочок на поверхні епідермісу. В процесі лікування ступінь лущення зменшувався і поступово було видно відростання нових волосин.

Перебіг хвороби контролювали шляхом повторних клінічних оглядів, через кожних 7 днів після початку лікування та проведення повторних бакпосівів від 14 дня лікування двічі з інтервалом 10 днів. Критерієм видужання хворих тварин було одержання двох результатів посіву з відсутністю росту на поживному середовищі для дерматофітів DERMAKIT. У всіх котів, які піддавалися лікуванню після 14 днів прийому препаратів відмічено від'ємний результат при проведенні контрольних мікологічних досліджень, тобто збудник не виростав на середовищі при культивуванні протягом 10 діб.

Таким чином, одержані результати досліджень свідчать, що препарати «Мікромар» та «Біоглюк» при лікуванні мікроспорії у котів дають можливість проведення протигрибкової та антисептичної місцевої терапії та прискорити період одужання шляхом стимуляції активності імунної системи.

Матеріали проведених досліджень висвітлені у працях [24, 25, 42, 44, 53].

3.8. Ефективність лікування мікроспорії у котів розробленими препаратами «Мікромар» та «Біоглюк» в порівнянні з іншими схемами

Лікування хворих тварин має бути не лише ефективне та націлене на попередження розповсюдження збудника, але і економічно доступне та вигідне як спеціалістам ветеринарної медицини, так і для власників хворих котів, оскільки тривалість лікування складає приблизно 14-21 добу [83, 148].

З метою з'ясування економічної ефективності лікування мікроспорії котів розробленими нами протигрибковим засобом «Мікромар» та імуностимулятором «Біоглюк» в порівнянні з іншими схемами було проведено підрахунок коефіцієнта «витрати-ефективність» CER (cost-effectiveness ratio). Це дало змогу отримати точні та цілісні дані, оскільки враховувалися не лише затрати на лікування, але і кількість тварин, що одужали при проведенні комплексної терапії.

В умовах приватної ветеринарної клініки "Імпульс" м. Львова проведено лікування 15 хворих мікроспорією котів з використанням трьох різних схем лікування. Одній групі лікування проводили системним антимікотиком ітраконазолом та обробку ділянок ураження 1% розчином клотримазолу. Другій групі провели дворазову вакцинацію протигрибковою вакциною «Вакдерм» та щоденні обробки протигрибковим засобом місцевої дії (1% розчин клотримазолу). Для третьої групи застосовували протигрибковий засіб «Мікромар» та імуностимулятор «Біоглюк». В кожній групі було по 5 хворих мікроспорією котів.

При розрахунках економічної ефективності різних схем лікування мікроспорії котів враховували вартість препаратів та особливості їх задоволення протягом періоду лікування (21 доба).

Як видно з таблиці № 3.8.1 на весь курс лікування було витрачено 453 гривні 15 копійок на придбання препаратів і розхідних матеріалів для всіх схем лікування, в тому числі на інтраконазол – 202 гривні; вакцину «Вакдерм» – 170 гривень; 1% розчин клотримазолу – 14 гривень; Біоглюк – 24 гривні 78 копійок; Мікромар – 16 гривень 17 копійок; на розхідні матеріали – 26 гривень 20 копійок, в тому числі на шприц – 2 гривні 20 копійок, на бинт – 12 гривень і вату – 12 гривень.

Таблиця 3.8.1

Вартість препаратів та розхідних матеріалів

Препарат, розхідні матеріали	Ціна (грн)	
	За 1 одиницю товару	За курс лікування 1 kota
Ітраконазол, таблетки (250 мг) №10	202,00	202,00
1% клотримазол розчин, 50 мл флакон	14,00	14,00
Вакцина «Вакдерм», 1 доза	85,00	170,00
Мікромар, 100 мл флакон	16,17	16,17
Біоглюк, 100 мл флакон	24,78	24,78
Шприц 2 мл	1,10	2,20
Бинт нестерильний 7x14	6,00	12,00
Вата, 50 г	12,00	12,00
Всього	361,05	453,15

Прямі витрати при лікуванні хворих мікроспорією котів з використанням інтраконазолу і клотримазолу складають 216 гривень; вакцини Вакдерм і клотримазолу – 184 гривні і Мікромару з Біоглюком – 40 гривень 95 копійок (табл. 3.8.2). Вартість 1 дня лікування згідно протоколу: в

першій групі – 10,27 грн.; в другій групі – 8,75 грн.; в третій групі – 1,94 грн. Непрямі витрати на весь курс лікування у першій групі склали 24 гривні, у другій – 26 гривень 20 копійок, у третій – 24 гривні.

Прямі і непрямі витрати в сумі склали 240 гривень при лікуванні тварин 1-ї групи, 210 гривень 20 копійок – 2-ї групи і 64 гривні 95 копійок – 3-ї групи.

Таблиця 3.8.2

Розрахунок коефіцієнту CER

№	Показники	3 схеми лікування		
		1-а група – Інтраконазол +клотримазол	2-а група – Вакдерм+ клотримазол	3-я група – Мікромар+ Біоглюк
Прямі витрати в грн (DC)				
1.	Вартість ліків на 1 день згідно протоколу	10,27	8,75	1,94
2.	Всього на 1 день	11,41	9,90	3,08
3.	Вартість курсу лікування	216,00	184,00	40,95
Непрямі витрати в грн (IC)				
4.	Вартість витрат за 1 день	1,14	1,15	1,14
5.	Вартість витрат на курс лікування	24,00	26,20	24,0
Підсумкові розрахунки				
6.	Всього витрат (прямі + непрямі, DC + IC)	240,00	210,20	64,95
7.	Кількість хворих, що одужали (Ef)	5	5	5
8.	Витрати – ефективність $CER=(DC+IC):Ef$	48,00	42,00	13,00

Результати розрахунку показників економічної ефективності засвідчили, що проведене лікування котів хворих мікроспорією є ефективне у при всіх схемах, оскільки одужання наступило у кожного хворого kota. Проте затрати на проведення терапії є різними.

При застосуванні протигрибкових препаратів (інтраконазол та клотримазол) коефіцієнт «витрати-ефективність» CER складає 48 гривень.

При лікуванні мікроспорії обробками 1% розчином клотримазолу та проведенням вакцинації вакциною «Вакдерм» отримані результати підрахунку засвідчили значення коефіцієнту CER – 42 гривні.

При використанні протигрибкового препарату «Мікромар» та імуностимулятора «Біоглюк» коефіцієнт CER становить 13 гривень.

Отже, економічна ефективність препарату «Мікромар» та імуностимулятора «Біоглюк» є вищою по відношенню до інтраконазолу і клотримазолу у 3,7 рази, а до клотримазолу з проведенням вакцинації вакциною «Вакдерм» у 3,2 рази.

Матеріали проведених досліджень висвітлені у працях [45, 53, 131].

РОЗДІЛ 4

УЗАГАЛЬНЕННЯ ТА ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ

Щороку дерматофітози набувають все більш широке розповсюдження, що пов'язано з недостатністю проведення профілактичних заходів з метою попередження та запобігання джерел зараження, найпоширенішим з яких є мікроспорія. Основним джерелом зараження мікроспорією у 80,5% є коти, особливо котенята (70-80%). За останні роки в Україні спостерігається масова тенденція до утримання котів. Водночас зросла і частота їх захворювань. Проблема мікроспорії є актуальною не лише через високу контагіозність даного захворювання, але і через здатність збудника *Microsporum canis* уражати тварин і людини. При зараженні людей мікроспорією коти відіграють основну роль, оскільки це тварини-компаньйони, які найчастіше хворіють мікроспорією. До мікроспорії схильні усі породи та метиси котів незалежно як вони потрапили в домівки людей з вулиці чи розплідників [4, 26].

Збудниками мікроспорії є антропофільні, геофільні та зоофільні гриби роду *Microsporum*. Найпоширенішим збудником мікроспорії є зоофільний гриб *Microsporum canis*, на частку якого приходиться близько 95% усіх дерматофітозів котів. За ураження збудником *Microsporum canis* волосяних стержнів, інфіковані артроспори, можуть залишатися здатними до зараження в навколишньому середовищі протягом двох років [26, 67, 98, 116].

Аналіз літературних даних засвідчив, що більшість авторів акцентують увагу на висококонтагіозності збудника, поширенню його в докільлі та симптоматичному лікуванні хвороби різними методами (купання, нанесення місцевої та системної дії антимікотиків) та протигрибковими препаратами. Проте не слід забувати про основну причину прояву клінічних симптомів мікроспорії, яка полягає у зниженні імунної активності організму за умови носійства патогену на поверхні тіла тварини. Патогенез захворювання вказує на залежність роботи імунної системи як причину виникнення хвороби, інтенсивного розмноження збудника *Microsporum canis* в епідермальних

шарах шкіри та поширенні його в навколишньому середовищі. Саме тому лікування мікроспорії повинно включати комплексний підхід забезпечуючи якісний терапевтичний ефект не лише місцево в ділянках ураження, але і системно впливаючи на захисні функції організму в цілому [15, 64, 106, 158].

Пріоритетом сучасної ветеринарної медицини у лікуванні дерматологічних захворювань є розробка та впровадження нових малотоксичних та високоефективних лікарських засобів нового покоління. Зокрема, використання на практиці протигрибкових засобів з новими фармакологічними властивостями дозволяє оптимізувати лікування тварин з мікроспорією. При цьому, ефективність залежить від форми засобу, субстанції, що входить до її складу та розчинника чи основи.

В зв'язку з розвитком стійкості збудника до наявних лікарських препаратів виникла потреба в ефективних протигрибкових засобах, які володіють фунгіцидною та фунгістатичною дією. Протигрибкова терапія в поєднанні з раціональною медикаментозною корекцією функціональної активності імунної системи є необхідним заходом при мікроспорії у котів, оскільки застосування стимуляторів імунної відповіді спрямоване на посилення фізіологічних можливостей організму [4, 41, 57].

Від хворих мікроспорією котів було ідентифіковано збудник *Microsporum canis* та отримано його чисту культуру на різних живильних середовищах, що дало можливість провести дослідження підбору концентрації діючих речовин для протигрибкового засобу «Мікромар». Встановлено, що гриб *Microsporum canis* чутливий до клотримазолу та повідон-йоду у різних концентраціях при дослідженні диско-дифузійним методом чистої культури патогена. Це підтверджено утворенням затримки росту при внесенні різних концентрацій даних речовин при культивуванні збудника на агарі Мюллера-Хінтона. Чиста культура *Microsporum canis* виявляє чутливість до клотримазолу в концентрації 0,25% та повідон-йоду 5%, які взяті за основу для виготовлення протигрибкового засобу «Мікромар».

Розроблений протигрибковий засіб «Мікромар» має в своєму складі повідон-йод (5%) та клотримазол (0,5%), змішані із пропіленгліколем (до 100%). Технічний результат обумовлений тим, що застосовується новий препарат місцевої дії у формі розчину для лікування мікроспорії інфекційної етіології на основі повідон-йоду, клотримазолу та пропіленгліколю. При цьому, компоненти препарату підібрано в оптимальних співвідношеннях, у яких повідон-йод проявляє високу антисептичну активність та водночас повністю розчиняється в пропіленгліколі, не утворюючи осаду

Основною діючою речовиною запропонованого розчину – є повідон-йод, який володіє вираженою протимікробною, протигрибковою та противірусною дією [118].

Окрім того клотримазол є протигрибковим компонентом групи азолів, який додатково діє бактерицидно і володіє протизапальними властивостями і, що важливо, є малотоксичними або практично нетоксичними сполуками [28, 33, 77, 117].

В якості розчинника або основи для лініменту було використано пропіленгліколь, який є хорошим розчинником для різних лікарських форм і не викликає алергічних реакцій на шкірі. Він є не лише доброю дисперсною системою для діючих речовин, але й самостійно проявляє виражені мембраностабілізуювальні і ранозагоювальні властивості.

Таким чином, у запропонованому розчині оптимально поєднуються властивості основної діючої речовини як протибактеріального, протигрибкового та противірусного засобу із протизапальними властивостями і розчинника – пропіленгліколя, який сприяє регенерації уражених тканин шкіри [19, 22, 42].

Слід зазначити, що для якісного лікування мікроспорії лише антимікотичної терапії не достатньо. Важливо також підвищити імунну активність організму хворого kota. Найбільш доцільним і патогенетично обґрунтованим є використання засобів, що стимулюють саме первинну ланку імунітету – макрофаги. Активаторами макрофагів можуть бути речовини

різної хімічної структури і походження, наприклад ендотоксини, віруси, бактерії. Однак їх використання далеко не завжди є високоефективним і безпечним по відношенню до ускладнень проведеної терапії, а з'єднання класу бета-1,3/1,6-глюкану і бета-1,3 (D)-глюкану, навпаки – безпечні, також і в токсикологічному відношенні і їх можна використовувати як ентерально, так і парентерально. Ця фармакокінетична здатність бета-глюканів і обумовлює їх широке застосування в лікарській практиці. З місцевих ефектів бета-глюканів на особливу увагу заслуговує їх здатність стимулювати процеси відновлення шляхом активації кератиноцитів і фібробластів [161, 171].

Тому для розробки імуностимулюючого засобу «Біоглюк» було обрано за основу полісахарид натурального походження бета-глюкан, який не має побічних дій та добре комбінується з біотином, що є актуально при мікроспорії у котів, оскільки шкіра є головною мішенню збудника *Microsporum canis*. Імуностимулюючу дію бета-глюкану ми оцінювали створивши для організму лабораторних тварин (мурчаків) імуносупресію використавши з цією метою кортикостероїдний гормон дексаметазон у препараті пролонгованої дії Дексафорт в імуносупресивних дозах [43].

Було встановлено, що Дексафорт, як імуносупресор викликає зниження кількості клітин крові, які відіграють основну функцію в перебігу інфекційних захворювань: лейкоцитів та лімфоцитів, а також підвищення кількості сегментоядерних і паличкоядерних нейтрофілів. В той час, коли бета-глюкан підвищує кількість лейкоцитів, лімфоцитів і знижує сегментоядерних нейтрофілів [88]. Це означає, що за умови медикаментозної імуносупресії бета-глюкан виявляє активну імуностимулюючу дію

Бета глюкан як імуностимулятор в поєднанні з біотином, який має властивість покращувати якість шерсті та стимулювати відновлюючі процеси в дермі в імуностимулюючому засобі «Біоглюк» при лікуванні мікроспорії у котів буде сприяти прискоренню одужання хворих тварин [44, 53].

Наступним етапом проведених досліджень було вивчення комплексної реакції організму за перебігу мікроспорії. З цією метою були проведені гематологічні, імунологічні дослідження крові та гістологічні шкіри здорових і експериментально інфікованих мурчаків [129, 130].

Зміни морфологічного складу крові у інфікованих мурчаків на 21-й і 42-й день після зараження супроводжуються ознаками гострого запального процесу. Кількість лейкоцитів вірогідно підвищується до $11,13 \pm 0,72$ Г/л з $5,77 \pm 0,37$ Г/л у здорових тварин. Кількість лімфоцитів тенденційно підвищується з $46,00 \pm 0,89$ до $65,20 \pm 1,48$ % на 42-й день після зараження. Встановлено вірогідне підвищення вмісту паличкоядерних нейтрофілів з $6,33 \pm 0,71$ до $15,76 \pm 1,29$ %, а сегментоядерних нейтрофілів знижується з $38,83 \pm 1,30$ до $12,17 \pm 1,47$ % на 42-й день після зараження ($P < 0,001$). Відмічено вірогідне підвищення ШОЕ з $1,67 \pm 0,21$ мм/год до $5,67 \pm 0,67$ мм/год на 42-й добу після зараження.

Вказані зміни свідчать, що в організмі розвивається лейкоцитоз, який характерний при запальних та інфекційних хворобах, коли організм виробляє нові лейкоцити для боротьби з патологічним агентом. При мікробних інфекціях лімфоцитоз характерний для другої половини імунної відповіді, яка відбувається після передачі інформації про антиген лімфоцитам від антиген-презентуючих клітин (макрофагів, дендритних клітин) [31]. При переході імунної відповіді в лімфоцитарну фазу в клінічній картині відмічається пригнічення проявів запалення. Це відбувається на фоні збільшення рівня лімфоцитів, що пояснюється функціональним призначенням імунокомпетентних клітин [70, 76]. Відбувається нейтрофільне зрушення ядра вліво, яке спостерігається при хронічних запальних процесах та у виснажених тварин. Збільшення ШОЕ свідчить про запальний процес, уповільнену інфекцію.

В свою чергу імунна відповідь характеризується підвищенням кількості Т-лімфоцитів з $53,00 \pm 1,53$ до $59,83 \pm 1,50$ % ($P < 0,01$), Т-супресорів з $20,83 \pm 0,91$ до $23,00 \pm 1,51$ %, Т-кілерів з $17,50 \pm 0,85$ до $22,67 \pm 1,50$ %,

зниженням Т-хелперів з $40,17 \pm 1,17$ до $33,33 \pm 0,71$ % ($P < 0,001$) в порівнянні з здоровими тваринами.

Одержані дані узгоджуються з даними Будумян Т.М., Інькова А.Н., Barlov Y.T., Kindt T.J. Кількість Т-хелперів знижується при бактеріальних та грибкових інфекціях хронічного, довготривалого перебігу [6]. Т-хелпери розпізнають антиген, взаємодіють з В-лімфоцитами і сприяють їх перетворенню на плазматичні клітини [17]. Вони є головним двигуном в імунних реакціях; допомагають В-лімфоцитам в імунних реакціях до Т-клітинозалежних агентів. Кількість Т-лімфоцитів на початку захворювання може підвищуватися при імунній активації, яка викликана інфекцією [84]. Т-супресори забезпечують формування імунологічної толерантності та пригнічують надлишкову активність Т- і В-лімфоцитів, чим запобігають надмірній імунній відповіді [127].

Гістологічні дослідження засвідчили, що у інфікованих мурчаків структура шарів шкіри збережена, виникає запальний процес. На 21-у добу після зараження у роговому шарі шкіри та волосяних фолікулах наявні спори і гіфи гриба *Microsporium canis*, накопичення інфільтратів навколо волосяних фолікулів, набряк дерми та розшарування колагенових волокон, застійна гіперемія кровоносних судин.

Наслідком цього процесу є порушення трофіки шкіри загалом та окремих її структур зокрема. Через порушення живлення епідерміс зазнає дистрофічних змін у вигляді гіперплазії. Виникають супутні патоморфологічні зміни, які проявляються у вигляді формування кістозних порожнин, які витоншують поверхню шкіри та як наслідок полегшують її травматизацію, що може спровокувати вторинне інфікування секундарною флорою та формуванням мікроабсцесів, що призводить до зниження або часткової втрати бар'єрної функції шкіри в ділянках ураження [11, 111, 114].

На 42-й день після зараження відмічено збільшення об'єму накопичуваного інфільтрату в товщі шкіри навколо волосяних фолікулів,

потовщення дерми внаслідок набряку та її ураження гістіоцитарними інфільтратами. Появляються ознаки гіперкератозу і акантозу.

Дистрофічні зміни проявляються у вигляді гіперплазії клітин базального шару. Відбувається лущення рогових клітин епідермісу [115].

Ці зміни вказують на виникнення дистрофії внаслідок впливу патогенно агента при перебігу мікроспорії, що може призвести до виникнення склеродермії.

Ефективність лікування мікроспорії розробленими препаратами «Мікромар» та «Біоглюк» були визначені шляхом дослідження крові та шкіри хворих мурчаків на 7, 14 та 21 добу після початку застосування препаратів, що дало змогу охарактеризувати динамічні зміни в організмі за умови проведення терапії. Гематологічні дослідження показали зміни в клітинному складі крові, які характеризуються нормалізацією кількості лейкоцитів та відсоткового співвідношення паличкоядерних та сегментоядерних нейтрофілів. Відмічено зниження швидкості осідання еритроцитів, що узгоджується з літературними даними, та свідчить про зменшення ступеня запальної реакції організму внаслідок проведеної терапії [154, 156].

Результати гістологічних досліджень засвідчили, що на 7 день після початку лікування в шкірі відмічалось зменшення ексудації та послаблення запальної реакції. В динаміці на 14 та 21 добу бачимо ознаки активної регенерації шарів дерми, зменшення кількості клітин медіаторів запалення та відновлення нормальних фізіологічних процесів трофіки волосу в ділянці епітелію волосяних фолікулів. Слід відзначити також, що нормалізація живлення волосяного стержня призводить до прискорення відростання волосу та закриття дефекту алопецій, що виникають на шкірі як наслідок перебігу мікроспорії. Отже, при лікуванні мікроспорії протигрибковим засобом «Мікромар» та імуностимулятором «Біоглюк» є позитивна

динаміка, яка призводить до одужання хворої тварини за умови комплексної терапії.

Проведена порівняльна характеристика різних схем лікування мікроспорії у мурчаків. Для порівняльної оцінки обрали схеми лікування, які найчастіше використовують лікарі ветеринарної медицини для лікування мікроспорії у котів [169]. Враховували ефективність використання системних та місцевих антимікотиків та протигрибкової вакцини в порівнянні з протигрибковим засобом місцевої дії «Мікромар» та імуностимулятором «Біоглюк».

Отримані результати засвідчили, що при лікуванні за схемою, що включала системний антимікотик ітраконазол та місцеві обробки 1% розчином клотримазолу відбувається послаблення запальної реакції в структурі шкіри хворих тварин, що відображається і в гематологічних та імунологічних показниках крові. Проте, було виявлено вірогідне збільшення кількості клітин медіаторів алергічного запального процесу – еозинофілів, що на нашу думку є побічною реакцією при використанні системного антимікотика ітраконазолу. Відбулося гальмування запального процесу, але відмічено ознаки алергізації, які проявляються у вигляді підвищення еозинофілів та зниженні тромбоцитів в крові, інфільтрації товщі шкіри гістіоцитами та еозинофілами. Дані одержаних результатів дослідження узгоджуються з літературними джерелами та характеристиками побічних реакцій при використанні ітраконазолу [100]. Це підтверджено і гістологічними змінами, які характеризують алергічний процес у шкірі, а саме інфільтрація дерми лімфогістіоцитарними компонентами з поодинокими еозинофілами, що вказує на перебіг запальної реакції. Поява еозинофілів в інфільтраті є ознакою прояву алергії, алергізації шкірного покриву та безпосереднього впливу алергена на організм [7, 134]. Функція еозинофілів в таких випадках полягає у нейтралізації гістаміну як медіатора запалення в місці локалізації запального вогнища [159].

У тварин, що отримували терапію у вигляді місцевих обробок 1%

розчином клотримазолу та вакцинації протигрибковою вакциною «Вакдерм» в результаті гематологічних та імунологічних досліджень крові виявлені ознаки активної імунної відповіді організму на задане лікування. Клітинна ланка імунітету активно реагує на проведену терапію, про що вказує дані отримані починаючи з 7 дня від початку лікування. Проте гістологічна картина шкіри хворих тварин свідчить про присутність запальної реакції у верхніх шарах епідермісу на 14 день лікування.

Ефективність лікування мікроспорії препаратами «Мікромар» та «Біоглюк» підтверджується позитивними змінами в крові, які характеризуються вірогідним зниженням кількості лейкоцитів, паличкоядерних нейтрофілів та ШОЕ, а також збільшенням Т-хелперів. Гістологічно відмічається на 7 добу збереження запальної реакції в шкірі, а на 14 добу нормалізація структур шарів дерми про що свідчить відсутність розширення кровоносних капілярів, яке було відмічено на 7 добу. Відмічено активну імунну відповідь на лікування мікроспорії, чітку диференціацію шарів епідермісу та стадію розрішення запального процесу в шкірі. Препарати «Мікромар» та «Біоглюк» не викликають побічних ефектів і забезпечують швидку регенерацію уражених ділянок.

Проведенні гематологічні дослідження у хворих мікроспорією котів засвідчили ознаки анемії, лейкопенії, лімфоцитопенії. Зокрема, спостерігається зниження еритроцитів, гемоглобіну, що вказує на зміни насиченості еритроцитів гемоглобіном. Кількість лейкоцитів знижується з $10,47 \pm 0,33$ Г/л до $3,93 \pm 0,42$ Г/л ($P < 0,001$), кількість лімфоцитів з $33,44 \pm 1,58$ % до $20,55 \pm 1,77$ % ($P < 0,01$). Встановлено підвищення кількості паличкоядерних нейтрофілів з $2,89 \pm 0,42$ % до $6,89 \pm 0,73$ % ($P < 0,001$), еозинофілів з $2,78 \pm 0,46$ % до $4,56 \pm 0,75$ % ($P < 0,01$) [41].

Виявлені зміни в структурі нейтрофілів по типу вакуолізації та токсичної зернистості вказують на нейтрофільну токсичність. Основними причинами появи гігантських нейтрофілів у котів можуть бути інфекції різної етіології та імунодефіцитний стан. Токсигенна зернистість нейтрофілів

відбувається всередині клітини в результаті фізико-хімічних змін білкової структури цитоплазми [49]. Такі клітини не можуть забезпечити фагоцитоз чужорідних агентів і таким чином знижується імунна активність організму у хворих на мікроспорію котів. Відмічена зміна форми еритроцитів у вигляді еритроцитів-окантоцитів з тільцями включеннями Жолі, яка характерна при анемії [39].

Проведені дослідження під час апробації протигрибкового засобу «Мікромар» та імуностимулятора «Біоглюк» при лікуванні мікроспорії у котів показали, що на 21-й день після початку застосування препаратів підвищується кількість лейкоцитів з $3,82 \pm 0,52$, до $6,92 \pm 0,34$ Г/л ($P < 0,001$); знижується кількість паличкоядерних нейтрофілів до $6,00 \pm 0,82$ з $13,57 \pm 1,81$ % ($P < 0,01$); ШОЕ до $4,57 \pm 0,72$, з $8,86 \pm 1,39$ мм/год ($P < 0,01$).

Збільшення кількості Т-хелперів з $33,43 \pm 0,78$ до $41,57 \pm 0,48$ % ($P < 0,05$) свідчить про підвищення реакції організму на перебіг інфекційного процесу, що вказує на активізацію імунної відповіді організму. Т-хелпери розпізнають антиген та взаємодіють з В-лімфоцитами, сприяючи їх перетворенню у плазматичні клітини. Вони є головним двигуном в імунних реакціях, допомагають В-лімфоцитам в імунних реакціях до Т-клітинозалежних агентів [54, 76, 126],

З метою з'ясування економічної ефективності лікування мікроспорії котів протигрибковим засобом «Мікромар» та імуностимулятором «Біоглюк» в порівнянні з іншими схемами проведено підрахунок коефіцієнта «витрати-ефективність» CER (cost-effectiveness ratio). Результати розрахунку показників економічної ефективності засвідчили, що проведене лікування котів хворих мікроспорією є ефективне при всіх схемах. Проте затрати на проведення терапії є різними. При застосуванні протигрибкових препаратів (інтраконазол та клотримазол) коефіцієнт «витрати-ефективність» CER складає 48 гривень; при лікуванні обробками 1% розчином клотримазолу та проведенням вакцинації вакциною «Вакдерм» коефіцієнт CER – 42 гривні;

при використанні протигрибкового препарату «Мікромар» та імуностимулятора «Біоглюк» коефіцієнт CER – 13 гривень.

Одержані результати свідчать, що економічна ефективність препарату «Мікромар» та імуностимулятора «Біоглюк» є вищою по відношенню до інтраконазолу і клотримазолу у 3,7 раза., а до клотримазолу з проведенням вакцинації вакциною «Вакдерм» у 3,2 раза [131].

Підбиваючи підсумки проведеної роботи слід зазначити, що мікроспорія потребує комплексного підходу в лікуванні, яке має бути спрямоване не лише на ліквідацію клінічних симптомів хвороби, але і на підвищення імунних функцій організму хворих котів, оскільки від імунної системи залежить не лише виникнення, але і тривалість перебігу хвороби. Цього ефекту можна досягти використовуючи для лікування мікроспорії препарати «Мікромар» та «Біоглюк», оскільки вони поєднують в собі протигрибкову терапію та імуностимулюючий ефект, що було підтверджено отриманими результатами проведених досліджень. Це дає змогу прискорити одужання хворих котів та попередити розповсюдження мікроспорії.

Отже, аналіз отриманих даних, їх узагальнення та порівняння з наявними повідомленнями літератури, сучасні погляди на проблему дають нам підстави робити відповідні висновки та дати практичні пропозиції, які можуть знайти використання у ветеринарній медицині.

ВИСНОВКИ

У дисертації наведено теоретичне узагальнення та вирішення наукової проблеми, пов'язаної з розробкою протигрибкового засобу «Мікромар» на основі повідон-йоду і клотримазолу та імуностимулятора «Біоглюк» на основі бета-глюкану та біотину для комплексного лікування мікроспорії у котів. Підібрані складники та проведені лабораторні дослідження, апробація та порівняльна оцінка з іншими препаратами для лікування мікроспорії вказують на ефективність розроблених засобів щодо збудника *Microsporium canis*. Це дає змогу проводити лікування хворих мікроспорією котів попереджуючи розповсюдження збудника в навколишньому середовищі та пришвидшувати регенерацію ушкодженої шкіри.

За результатами проведеного дослідження обґрунтовано такі висновки:

1. Культура грибка *Microsporium canis* чутлива до клотримазолу та повідон-йоду, що підтверджено затримкою росту при внесенні різних концентрацій даних речовин під час культивування збудника на агарі Мюллера-Хінтона. Чиста культура *Microsporium canis* є чутливою до клотримазолу в концентрації 0,25% та повідон-йоду 5%, які взяті за основу для виготовлення протигрибкового засобу «Мікромар».

2. Підібрані складники імуностимулюючого засобу «Біоглюк» 3% бета-глюкан та 0,0005% біотин в комбінації забезпечують не лише стимулювати захисні функції організму, але і на місцевому рівні сприяти регенерації ушкоджених шарів шкіри та волосу, що є особливо актуально безпосередньо за дерматомікозах.

3. Зміни морфологічного складу крові у хворих мікроспорією мурчаків на 21-й і 42-й день після зараження характеризуються лейкоцитозом, лімфоцитозом, нейтрофільним зрушенням ядра вліво. Імунна відповідь характеризується підвищенням Т-лімфоцитів, Т-хелперів та зниженням Т-

супресорів. На 21-у добу в шкірі локалізуються гіфи та спори гриба *Microsporum canis*, які викликають запальний процес, що характеризується набряком дерми, розшаруванням колагенових волокон та накопиченням запальних інфільтратів навколо волосяних фолікулів. На 42-у добу інфільтрація поширюється та виникають дистрофічні зміни в шкірі, які проявлялися ознаками гіперкератозу і акантозу, гіперплазія клітин базального шару, десквамація рогового шару епідермісу.

4. При лікуванні хворих мікроспорією мурчаків препаратами «Мікромар» та «Біоглюк» ефективність проведеної терапії характеризується зниженням кількості лейкоцитів з $11,13 \pm 0,72$ до $6,95 \pm 0,15$ Г/л, паличкоядерних нейтрофілів з $15,76 \pm 1,29$ до $6,17 \pm 0,65\%$, ШОЕ з $5,67 \pm 0,67$ до $2,17 \pm 0,31$ мм/год.; підвищенням кількості сегментоядерних нейтрофілів з $12,17 \pm 1,47$ до $22,00 \pm 0,86\%$ та збільшенням Т-хелперів. В шкірі візуалізується зовнішня коренева піхва волосяних фолікулів, що свідчить про відновлення життєдіяльності волоса шляхом активації трофічних процесів в структурі епітелію волосяних цибулин.

5. У хворих мікроспорією котів відмічена вакуолізація та токсична зернистість нейтрофілів які є ознакою імуносупресивного стану організму, а зміна форми еритроцитів у вигляді еритроцитів-окантоцитів з тільцями включеннями Жолі, свідчать про анемічний стан і є ознакою залежності виникнення мікроспорії у котів від резистентності імунної системи організму.

6. Порівняльна оцінка різних схем лікування мікроспорії засвідчила їх ефективність, однак при лікуванні інтраконазолом та клотримазолом проходить гальмування запального процесу, відмічені ознаки алергізації, які проявляються у вигляді підвищення кількості еозинофілів, зниження кількості тромбоцитів в крові, інфільтрацією товщі шкіри гістіоцитами та еозинофілами. Клотримазол в комбінації з вакциною «Вакдерм» знижує ступінь запального процесу, який характеризується зниженням кількості лейкоцитів, паличкоядерних нейтрофілів, збільшенням кількості Т-хелперів,

однак зберігається тривала запальна реакція у верхніх шарах епідермісу. Протигрибковий засіб «Мікромар» з імуностимулятором «Біоглюк» формують активну імунну відповідь організму, не викликають побічних ефектів і забезпечують швидку регенерацію уражених ділянок шкіри.

7. Економічна ефективність протигрибкового препарату «Мікромар» та імуностимулятора «Біоглюк» при лікуванні хворих мікроспорією котів є вищою по відношенню до інтраконазолу і клотримазолу у 3,7 рази, а до клотримазолу з проведенням вакцинації вакциною «Вакдерм» у 3,2 рази.

ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ

Для застосування у ветеринарній практиці пропонуються:

1. Протигрибковий препарат «Мікромар», призначення якого – лікування дерматофітних інфекцій (Технічні умови України: ТУ У 21.2 – 00492990-024:2020 від 24.12.2020.) та нормативна документація, що регламентує його виготовлення, контролювання та застосування.

2. Ветеринарний імуностимулюючий препарат «Біоглюк», призначення якого – підвищення захисних реакцій організму при мікроспорії котів (Технічні умови України: ТУ У 21.2 – 00492990-025:2020 від 24.12.2020.) та нормативна документація, що регламентує його виготовлення, контролювання та застосування.

3. Методичні рекомендації щодо діагностики, лікування, профілактики мікроспорії котів розглянуто та схвалено на засіданні кафедри епізоотології Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького (протокол № 15 від 2 червня 2021 р.), навчально-методичною комісією факультету ветеринарної медицини ЛНУВМтаБТ імені С.З. Гжицького (протокол № 7 від 14 червня 2021 р.).

4. Одержані результати і теоретичні узагальнення можуть бути використані в курсі лекцій з епізоотології, мікробіології, імунології та нормальної і патологічної морфології дрібних домашніх тварин у вищих навчальних закладах України.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Абидова З.М. (2002). Особенности эпидемиологии дерматомикозов и разработка методов патогенетической терапии. *Новости дерматологии и венерологии* №2. 8-9.
2. Антонова С. Б. (2015). Атипическая микроспория: Трансформированный вариант. Случай из практики. *Современные проблемы науки и образования*. №5 – 102-107.
3. Атаман О. В.(2007). Патологічна фізіологія в запитаннях і відповідях, 512с.
4. Безлущенко О. В. (2017). Микроспория у кошек. *Мир ветеринарии*, 5, 26-28.
5. Биць Ю. В. (2015). Патофізіологія. *ВСВ «Медицина»*, 752с.
6. Будумян Т. М. (2003). Этиология и лечение зооантропоной микроспории /Т.М. Будумян, Е.О. Панова // *Российский журнал кожных и венерических болезней*. – №6. – С. 33-35.
7. Вавилов А.М.(2000). Иммунологические исследования Т-лимфоцитов в коже /А.М. Вавилов, В.А. Самсонов, Л.Е.Димант и др. // *Вестн. Дерматол.* – 2000. № 4. – С.4-5.
8. Ватутин Н. Т. (2012). Гематология. *Донецк: Капитан*, 346с.
9. Влізло В. В. Лабораторна діагностика у ветеринарній медицині // В.В. Влізло, Л.Г. Слівінська, І.А. Максимович, М.І. Леньо, В.Л. Галяс. *Довідник*. – 2-ге видання. – Львів. – 2014. – 152 с.
10. Галактионов В. Г. (2004). Иммунология. *ACADEMA*, 480.
11. Горальський Л. П. (2005). Основи гістологічної техніки і морфофункціональні методи досліджень у нормі та при патології / Л.П. Горальський, В.Т. Хомич, О.І. Кононський // *Навчальний посібник*. – Житомир: Полісся, 288с.

12. Горицкий В. М. (1996). Запалення – типовий патологічний процес. *Проблеми патології в експерименті та клініці, XVII*, 155-180.
13. Дранник Г. Н. (1999). Клиническая иммунология и аллергология, 604.
14. Жила М. І. (2011). Лабораторні дослідження при клінічному випробуванні ветеринарних лікарських засобів. *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького, 13 №4 (50) – Ч. 1*, 128-134.
15. Задора И. С. (2018). Особенности эпидемиологического процесса микроспории в городе Минске. *Инновации в медицине и фармации БГМУ. – С. 596-599.*
16. Імунотоксикологічний контроль ветеринарних препаратів та кормових добавок: *Методичні рекомендації* /Л. Я. Коцюмбас, М. І. Жила, О. М. Пятничко [та ін.] За ред. І. Я. Коцюмбаса. – Львів, 2014. – 116 с.
17. Иньков А. Н. (2000). О чем говорят анализы. *Ростов на Дону*, 213.
18. Исследовани системы крови в клинической практике //под ред. Г. И. Козинца и В. А. Макарова. – М.: *Триада-Х*, 1997. – 480 с.
19. Ёин С. Полный справочник по ветеринарной медицине мелких домашних животных. – М.: *Аквариум-Принт*, 2008. – 1024 с.]
20. Казмірчук В. Є. (2006). Клінічна імунологія та алергологія / В.Є. Казмірчук, Л.В. Ковальчук. – Вінниця: *Нова книга*, 526 с.
21. Кашкин П.Н. (1983). Практическое руководство по медицинской микологии. *Ленинград*. 167.
22. Кісера Я. В.(2019) Підбір концентрації клотримазолу та повідон-йоду як основних діючих речовин протигрибкового засобу "Мікромар" /Я.В. Кісера, Ю.В. Мартинів //ISSN 2518-7554 print ISSN 2518-1327 online *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій ім. С.З. Гжицького. Серія: Ветеринарні науки – Львів, Т. 21. – № 95. – С. 27-31.*
23. Кісера Я. В. (2020) Імунобіологічні препарати /Я.В. Кісера, Л.Я.

Божик, Ю.В. Мартинів, Т.С. Матвіїшин, Т.О. Пундяк // *Навчальний посібник з грифом ЛНУВМБ імені С.З. Гжицького*. – Львів: В-во «Сполом». – 358с.

24. Кісера Я. В., Мартинів Ю. В., Курилас Л. В. Розчин «Мікромар» для лікування дерматофітних інфекцій: ТУ У 21.2 – 00492990-024:2020 [Чинний від 2020 – 24 – 12]. Львів, 2020. 23 с.

25. Кісера Я. В., Мартинів Ю. В., Курилас Л. В. Імуностимулюючий препарат «Біоглюк»: ТУ У 21.2 – 00492990-025:2020. [Чинний від 2020 – 24 – 12]. Львів, 2020. 23 с.].

26. Климко Н. Н. (2007) Микозы: диагностика и лечение: Руководство для врачей. – М.: Премьер МТ – 336 с.

27. Кобина С. А. (1999). Экономика здравоохранения. Введение в фармакоэкономику. *Ремедиум*. – №4 – 38-44с.

28. Коваленко, А. П. (2011). Лекарственные препараты. *Компендиум*, 2270.

29. Кондрахин И. П. (2004). Методы ветеринарной клинической лабораторной диагностики: Справочник //И.П. Кондрахин, А.В. Архипов, В.И. Левченко и др.; под ред. проф. И.П. Кондрахина. – М.: Колос. – 520 с.

30. Корсунская И. М. (2001). Микроспория: *Учебное пособие*. – М.: РМАПО. 31с.

31. Кохан І. (1994). Імунологія: підручник імунності, серології, імунохімії, імунобіології, імуногенетики. *УКСП «Кобза»*, 444.

32. Кришталь М. В.(2010). Запалення як переважно місцевий патологічний процес. *Загальна патологія та патологічна фізіологія*, 5 (2), 23-44.

33. Крылов Ю. Ф. (2001). Энциклопедия лекарств, 1504.

34. Курасова В. В. (1971). Методы исследования в ветеринарной микологии. *Колос*, 119.

35. Кутасевич Я.Ф. (2003). Микроспория сегодня: эпидемиология, особенности клиники, диагностики, лечения. *Дерматологія та венерологія*. 2. 43-47.

36. Лаповець Л. Є. (2002). Посібник із лабораторної імунології, 173.
37. Лебедева К. А. (1996). Иммунология в клинической практике. *ЦПИ «ИЭМК»*, 354.
38. Мазанкова, Л. Н. (2006). Особенности течения микроспории у детей. *Практика педиатра, 1 (5)*, 39-42.
39. Мазуркевич А. Й. Фізіологія тварин. *Київ: Нова книга*. – 2012– 424с.
40. Макуріна Г. І. (2016). Стан епідермісу та епідермальньо-дермального з'єднання шкіри хворих на псоріаз і гіпертонічну хворобу. *Патологія, 1 (36)*, 73-78.
41. Мартинів Ю. В. Зміни гематологічних показників крові у хворих на мікроспорию котів /Ю.В. Мартинів, Я.В. Кісера //ISSN 2518-7554 print ISSN 2518-1327 online *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій ім. С.З. Гжицького*. – Львів, 2019. – Т. 21. – № 93. – С. 70-73.
42. Мартинів Ю. В., Кісера Я. В. Розчин «Мікрмар» для лікування дерматофітних інфекцій: пат.144019 України, МПК (2006.01) А61К 9/08; А61Р 31/10 (2006.01). № у 2020 01885; заявл. 17.03.2020, опубл. 25.08.2020, бюл. № 16, 5 с.
43. Мартинів Ю. В. Імуностимулююча дія бета-глюкану за медикаментозної імуносупресії /Ю.В. Мартинів, Я.В. Кісера //Біологія тварин. – 2020. – Т. 22. – № 1. – С. 15-19.
44. Мартинів Ю. В., Кісера Я. В. Ветеринарний імуностимулюючий препарат «Біоглюк»: пат. 146754 України, МПК (2006.01) А61К 31/716; А61Р 37/04 (2006.01). № у 2020 04664; заявл. 22.07.2020, опубл. 17.03.2021, бюл. № 11, 5 с.
45. Мартинів Ю. В. Порівняльна характеристика різних методів лікування мікроспорії /Ю.В. Мартинів, Я.В. Кісера //Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій ім. С.З. Гжицького. – Львів, 2021. – Т. 23. – № 104. – С. 3-10.
46. Маслянюк Р. П. (1999). Основи імунобіології. *Вертикаль*. 472.

47. Медведева Т. В. (2007). Особенности течения микроспорийной инфекции (микроспороза) у новорожденных: описание клинического случая. *Российский Журнал кожных и венерических болезней*, 4, 54-57.
48. Медведева Е. А. (2002). Современные проблемы изучения зооантропонозных дерматомикозов. *Проблемы медицинской микологии*, 4 (2), 89.
49. Мейер Д. Ветеринарная лабораторная медицина. Интерпретация и диагностика //Д. Мейер, Д. Харви. – Москва: Софион. – 2007. – 456 с.
50. Метод приготування агару Мюллера-Хінтона для фунгіцидів – ТУ У 24.4-37219230-001:2011.
51. Метод приготування кров'яного агару – ТУ У 37 219230-001: 2011.
52. Метод приготування агару Сабуро – ТУ У 24.6-24367290-015: 2012.
53. Мікроспорія котів (Діагностика, лікування, профілактика та заходи боротьби). *Методичні рекомендації* /Я.В. Кісера, Ю.В. Мартинів. – Львів – 2021. – 34 с.
54. Москалев А. В. (2006). Инфекционная иммунология. *СПб: ООО Фишант*, 175.
55. Новиков Д.К. (2002). Противобактериальный иммунитет. *Имунопатология, аллергология, инфектология*, 2, 7-18.
56. Новоселов В.С. (2004). Новые аспекты в проблеме выбора современного антимикотика. *РМЖ*, 12 (18), 1-7.
57. Петерсон С. (2008). Кожные болезни кошек. *Аквариум-Принт*.168.
58. Попов Н. Н. (2004). Новые горизонты медицинской микологии //Клиническая иммунология и аллергология. – Москва: Реинфор, 56-81.
59. Потекаев Н. Н. (2000). К клинике и терапии микроспории. *Вестник дерматологии и венерологии*, 5, 69-72.
60. Потоцький М. К. (2000). Дерматомикози. *Ветеринарна медицина України*, 11, 20.
61. Реброва О. Ю. (2006). Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ Statistica, 312.

62. Регеда М. С. (2013). Запалення – типовий патологічний процес. *Видання друге, доповнене та перероблене*, 148.
63. Саркисов Д. И. (1992). Новые данные о функции морфологии лейкоцитов при гнойно-септических процессах. *Архив патологии*, 54 (1), 3-8.
64. С. Б. Антонова (2016). Заболеваемость микроспорией: клинические аспекты, современные особенности течения. *Педиатрия. Том 95. №2. С.* 142-145.
65. Сергеев А.Ю. (2003). Грибковые инфекции: руководство для врачей, 604.
66. Спесивцева Н. А. (1960). Микозы и микотоксикозы животных. Сельхозиздат, 517с.
67. Справочник по инфекционным болезням собак и кошек. /Р. Гаскелл, М. Беннет. – М.: Аквариум, 2005. – 223с.
68. Справочник по инфекционным болезням собак и кошек. /Р. Гаскелл, М. Беннет. – М.: Аквариум, 2015. – 318с.
69. Федотов В.П. (2000). Актуальные вопросы дерматофитий. *Дерматология*, 2 (4), 7-10.
70. Хаитов Р. М. (2000). Физиология иммунной системы. *Российский физиологический журнал им И.М. Сеченов*, 86 (3), 252-267.
71. Хамаде Луай Мустафа (2016). Роль соотношения клеточных маркеров дифференцировки CD8+: CD3+ в лимфоцитарных инфильтратах кожи при грибковидном микозе. *CLINICAL MEDICINE/КЛІНІЧНА МЕДИЦИНА № 4 (98)*, 72-74.
72. Харченко С. М. (2008). Специфічна профілактика та лікування дерматомікозів собак і котів. *Матеріали конференції Навчально-наукового інституту ветеринарної медицини та якості і безпеки продукції тваринництва 11-12 березня 2008 р. Київ: НАУ*, 145-146.
73. Чеснокова Н. П. (2015). Лейкопении: общая характеристика, этиология, патогенез, особенности гематологических сдвигов. *Международный журнал экспериментального образования*, 7, 178-180.

74. Чеснокова Н. П. (2015). Физиологические и патологические лейкоцитозы. Гематологическая характеристика отдельных видов лейкоцитозов. *Международный журнал экспериментального образования*, 7, 183-186.
75. Шмелькова Е. С. (2010). Современное комплексное лечение при атипичных формах микроsporии. *Микология №3 (38)*, 99-102.
76. Якобисяк М. (2004). Імунологія. [пер. з польської за ред. проф. В.В. Чоп'як]. *Вінниця: Нова книга*, 672.
77. Яремчук А.А. (2010). Сравнительное изучение противогрибковой активности лекарственных средств. Вестник фармации. *Витебский государственный медицинский университет (Витебск)*, 56-60.
78. Aiziatulov, R. F. (2015). Klinicheskie proiavleniia i printsiipy lecheniia gribkovykh boleznei kozhi. *Zhurnal dermatologii i kosmetologii im. M.O.Torsueva*, 1-2 (34), 7-11.
79. Alexis M.E. (1997). Itraconazole pulse therapy is effective in the treatment of tinea capitis in children: an open multicenter study. *Dermatology*, 137(2),251-254.
80. Andriole V. T. (1999). Current and future antifungal therapy: new targets for antifungal agents. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 44(2), 151-162.
81. Aneke CI, (2021). Virulence and Antifungal Susceptibility of *Microsporum canis* Strains from Animals and Humans. *Antibiotics (Basel)*. Mar 12; 10(3), 296.
82. Ascioğlu S., Rex J. (2002). Defining opportunistic invasive fungal infections in immunocompromised patients with cancer and hematopoietic stem cell transplants: an international consensus. *Clinical Infectious Diseases*, (34),7-14.
83. Baldo. (2012). Mechanisms of skin adherence and invasion by dermatophytes. *Mycoses*; 55, 218-223.
84. Barlov Y. T. (1994). Lymphocytes and immunosuppression in the burned patient a review. *Burns*, 20(6), 487-490.

85. Bohn J.A. (1995). (1→3)- β -dGlucans as biological response modifiers: a review of structure-functional activity relationships. *Carbohydrate Polymers*, 28(1), 3-14.
86. Breitenbach M. (2002). Fungal Allergy and Pathogenicity. *Chemical Immunology and Allergy*. 310.
87. Brown J. P. (1999). The current and future market for veterinarians and veterinary medical services in the United States. *JAVMA*, 215(2), 161-183.
88. Brown G. D. (2001). Immune recognition. A new receptor for beta-glucans. *Nature*, 413(6851), 36-37.
89. Brown G.D. (2002). Dectin-1 is a major beta-glucan receptor on macrophages. *J. Exp. Med.*, 196(3), 407-410.
90. Brown G. D. (2007). Immunology of Fungal Infections. *Springer*, 500.
91. Carlotti D. N. (2009): Eradication of feline dermatophytosis in a shelter: a field study. *Vet Dermatol* 21, 259-266.
92. Castelino D. J. (1997). Lymphocytopenia in a hospital population – What does it signify? *Aust NZJ*, 27(2), 170-174.
93. Chen S. C. (2007). Antifungal agents. *Medical Journal of Australia*, 187(7), 404.
94. Chermette R. (2008): Dermatophytoses in animals. *Mycopathologia* 166, 385-405.
95. Daniel Asz-Sigal (2020). Infections and Infestations, Hair and Scalp Treatments, 10.1007/978-3-030-21555-2, 197-216.
96. DeBoer D.J. (1994) Development of an experimental model of *Microsporum canis* infection in cats. *Vet Microbiol* 1994; 42: 289-295.
97. DeBoer D. J. (2003). Effects of lufenuron treatment in cats on the establishment and course of *Microsporum canis* infection following exposure to infected cats. *JAVMA*, 222,1216-1220.
98. D. N. Carlotti (1997). Canine and feline superficial fungal skin infections. *Veterinary Quarterly*, 19, 45-46.

99. Domnitskii I. Iu. (2009) Patologicheskaiia diagnostika vistseralnogo mikoza. *Saratov*, 43 (3), 34-37.
100. Donald C. (2015). *Plumb` Veterinary Drug Handbook* – 1228.
101. Donnik, I. M. (2009). Monitoringovyie issledovaniia mikotoksinov v kormakh i kormovom syre v Uralskom regione. *Agrarnyi vesnik Urala*, 8, 87-89.
102. Favrot C. (2015) Incidence, immunity and treatment of feline dermatophytosis. *Schweiz. Arch. Tierheilkd. Bd. 147, №5*, 205-212.
103. Filimonkova, N. N. (2005). Morfo-biologicheskie osobennosti vzbuditelei mikrosporiii klinicheskoe techenie zabolevaniia (analiticheskii obzor). *Uralskii meditsinskii zhurnal*, 3, 29-43.
104. Foust A.L. (2007): Evaluation of persistence of terbinafine in the hair of normal cats after 14 days of daily therapy. *Vet Dermatol* 18, 246-251.
105. Fulcher D.A. (2009). Invariant natural killer (iNK) T cell deficiency. *Clin. Exp. Immunol.*, 157(3), 365-369.
106. Fumiko Dekio (2015). Positive Impact of Fungal Histopathology on Immunocompromised Pediatric Patients With Histology-Proven Invasive Fungal Infection. *American Journal of Clinical Pathology, Volume 144, Issue 1, July 2015*, Pages 61–67, <https://doi.org/10.1309/AJCPEMVYT88AVFKG>).
107. Gao Y. (2014). Common variable immunodeficiency is associated with a functional deficiency of invariant natural killer T cells. *Allergy Clin. Immunol.*, 133(5), 1420-1428.
108. Genicheva, N. I. (2013). Klinicheskoe proiavlenie zigomikoza verbliudov pri vskrytii. *Agrarnyi vesnik Urala*, 12, 29-31.
109. Greene C. E. (2013). *Infectious Diseases of the Dog and Cat*, 4th ed., Elsevier *Health Sciences, Philadelphia*. 1354.
110. G. S. de Hoog. (2000). Atlas of clinical fungi. 2nd edition. *Universitet Rovire I Virgili, Reus*, 298.
111. G. S. deHoog (2000). Figueras. Atlas of clinical fungi. 2nd edition. *Universitet Rovire I Virgili, Reus*, 1201.

112. Gupta A. K.(1997). Itraconazole pulse therapy is effective in the treatment of tinea capitis in children: an open multicenter study. *Br. J. Dermatol*; *137* (2), 251-254.
113. HamidM. Said (2011),Biotin: Biochemical, Physiological and Clinical Aspects.Water Soluble Vitamins; *volume 56*, 1-19.DOI: 10.1007/978-94-007-2199-9_1
114. <https://dermnetnz.org/topics/tinea-corporis-pathology/>.
115. <https://www.pathologyoutlines.com/topic/skinnontumorfungisuperficialinfections.html>.
116. <https://www.veterinars.com/dokladu/%d0%b4%d0%b5%d1%80%d0%bc%d0%b0% d1%82%d0%be%d1%84%d0%b8%d1%82%d0%b8%d1%8f.html>.
117. https://www.rishet.ru/fg_index_id_250.htm 2018-09-02 03:16:09 Europe/ Moscow.
118. Ian Ramsey (2007). Small animal formulary. BSAVA. 6th edition. *Reprinted with corrections*, 415.
119. Iovenko, A. (2019). Monitoring of contagious skin diseases of dogs and cats in Odessa. Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: *Veterinary Sciences*, *21*(93), 160-163.
120. Itoi S., Kano R. (2012). In vitro activities of antifungal agents against clinical isolates of dermatophytes from animals. *J. Vet. Med. Sci.* *74*: 1067-1069.
121. JacobsonL. S.(2018): Comparisonofreal-time PCR with fungal culture for the diagnosis of *Microsporum canis* dermatophytosis in shelter cats: afieldstudy. *JFelineMedSurg.* *20*(2), 103-107. doi:10.1177/1098612X17695899.
122. Josemara Neves Cavalcanti (2003). Histopathologic and mycologic aspects of experimental infection of guinea pigs with *Microsporum canis*.*Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, *10* (2), 45-48.
123. Kano R. (2001). *Microsporum gypseum* isolated from a feline case of dermatophytosis. *Mycoses*; *44*, 338-341.

124. Karen A. Moriello et al. (2017). Diagnosis and Treatment of Dermatophytosis in Dogs and Cats. *Veterinary Dermatology* 28, no. 3 (June 1): 266-268, <https://doi.org/10.1111/vde.12440>.
125. Karput Y. M. (1986). Hematological atlas of farm animals. *Minsk: Uradzhai*, 183.
126. Kazmirchuk V. I. (2007). Interpretation of leukograms and immunograms according to current positions. *Magazine «Vnutrishnia medytsyna»*, 4, 32-37.
127. Kindt T. J. (2006). Immunology, 6th ed., W.H. Freeman, 574.
128. Kirk, R., (2014). Sovremennyi kurs veterinarnoi meditsyny. *Moscow: Akvarium- Print*, 1376.
129. Kiser Ya. Pathomorphological changes in the skin of the guinea pigs in the course of microspores /Ya. Kiser, Yu. Martyniv, I. Klishch //«EUREKA: Health Sciences». Volume 2 (26). – P. 76-84.
130. Kiser Ya. V. Dynamics of morphological, immunological and histological changes in microsporia in guinea pigs /Ya.V. Kiser, Y.V. Martyniv, B.V. Gutyj //Regulatory Mechanisms in Biosystems. Volume 12, № 2. P. 206-211.
131. Kiser Ya. V., Martyniv Yu. V. (2021). Economic efficiency of different treatment schemes of cats microsporia. *Ukrainian Journal of Veterinary and Agricultural Sciences*, 4(3), 58-61.
132. Klymko N.N. (2007) Mycoses: diagnosis and treatment: A guide for doctors. *Premier MT*, 336.
133. Kontoyiannis D. P., Lewis R. E. (2002). Antifungal drug resistance of pathogenic fungi. *The Lancet*, 359 (9312), 1135-1144.
134. Kostner, L. (2017). Allergic contact dermatitis. *Immunology and Allergy Clinics*, 37(1), 141-152.
135. Kotsiumbas, H. I. (2010). Morfolohichni osoblyvosti shkiry ta volosa riznykh vydiv tvaryn ta liudyny v aspekti sudovo-veterynarnoi medytsyny. *Lviv: Afisha*, 134.

136. Koumantaki Mathioudaki E. (2015). Is itraconazole the treatment of choice in *Microsporum canis* tinea capitis. *Drugs Exp. Clin. Res. Vol. 31 (suppl.)*. P. 11-15.
137. Kozinc, G. I. (1997). Issledovanisistemykrovi. *Klinicheskaja praktika*, 3, 37-44.
138. Kuhar, E. V. (2014). Kulturalno-morfologicheskie, biohimicheskie svoystva i molekulyarno-geneticheskaya harakteristika *Microsporum canis*. *Journal of Small Animal Practice*, 5, 21-24.
139. Kulko, A. B. (2010). Yeasts and mycelial fungi in lung cavities of tuberculosis patients. 20th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases Vienna, Austria. 10-13 April 2010. *Abstracts on CD-ROM. Clinical Microbiology and Infection*, 16 (2).
140. Kulko A. B. (2012). Spektr vzbuditelei glubokikh mikofov cheloveka. *Redkie bolezni i sovremennye vozmozhnosti terapii*, 3, 55-61.
141. Lehne G., Haneberg B., Gaustad P. et al. (2006). Oral administration of a new soluble branched beta-1,3-D-glucan is well tolerated and can lead to increased salivary concentrations of immunoglobulin A in healthy volunteers. *Clin. Exp. Immunol.*, 143(1): 65–69.
142. Lewis R. E. (2011). Current concepts in antifungal pharmacology. *Mayo Clinic Proceedings. Elsevier*, 86(8), 805-817.
143. Makarova V. A. (1997). Research of the blood system in clinical practice. *Tryada*, 480 p.
144. Mancianti F. (2003). Environmental detection of *Microsporum canis* arthrospores in the households of infected cats and dogs. *J Feline Med Surg*; 5, 323-328.
145. Martyniv Y. V. Hematological, immunological and histological changes in guinea pigs in the treatment of microsporia with drugs “Micromar” and “Biogluk” /Y. V. Martyniv, Ya. V. Kisera // *Ukrainian Journal of Veterinary and Agricultural Sciences*. 4(1). P. 29-32.

146. Medleau L. (1992). Treating and preventing the various forms of dermatophytosis. *Veterinary Medicine*, 87, 1096-1100.
147. Mignon B. R. (1997): Prevalence and characterization of *Microsporum canis* carriage in cats. *J Med Vet Mycol* 35, 249-256.
148. Moriello K. A. (2013). Changes in serum chemistry values in shelter cats treated with 21 consecutive days of oral itraconazole for dermatophytosis. *Vet Dermatol*; 24: 557-558.
149. Moriello K.A. (2013). Dermatophytosis. In: Kirk's Current Veterinary Therapy XV. St. Louis, MO: Elsevier Health Sciences, 449-451.
150. Piliero L. M. (2004). T-cell homeostasis in humans with thymic hypoplasia due to chromosome 22q11.2 deletion syndrome. *Blood*, 103(3), 1020-1025.
151. Ramadinha R.R. (2010). Lufenuron no tratamento da dermatofitose em gatos? *Pesqui Vet Bras* 30. 132-138.
152. Rippon, J. W. (1988). Dermatophytosis and dermatomycosis. In: *Medical Mycology*, 3rd edn, p. 169-175.
153. Robin A. Cooke (2012). Histopathology of some fungal infections. *Pathology Volume 44, Supplement 1*, P. S47. [https://doi.org/10.1016/S0031-3025\(16\)32714-3](https://doi.org/10.1016/S0031-3025(16)32714-3).
154. Sangoi A. R. (2009). Challenges and pitfalls of morphologic identification of fungal infections in histologic and cytologic specimens: a ten-year retrospective review at a single institution. *Am. J. Clin. Pathol.* 131, 364-375.
155. Schmid M. H. (1995). The concept of the acid mantle of the skin: its relevance for the choice of skin cleansers. *Dermatology*, 191, 276-280.
156. Scott D. W. (2001). Fungal skin diseases. In: Muller & Kirk's small animal dermatology. 6th ed. Philadelphia: WB Saunders, 336-422.
157. Sheehan D. J. (1999). Current and emerging azole antifungal agents. *Clinical microbiology reviews*, 12(1), 40-79.
158. Skerlev M. (2010). The changing face of *Microsporum* spp infections. *Clinics in Dermatology – Vol. 28. – P. 146-150.*

159. Silvia Colombo (2012). Dermatophytosis and urticar eosinophilic/mastocytic dermatitis (urticarial pigmentosa-like dermatitis) in three Devon Rex cats. P. 498-502. <https://doi.org/10.1177/1098612X12440761>).
160. Steven I. (2008). *Fundamental veterinary clinical pathology*. Second Edition. *Blackwell Publishing*, 934.
161. Sugiyama A. (2010). Oral administration of paramylon, a beta-1,3-D-glucan isolated from *Euglenagracilis* Zinhibits development of atopic dermatitis-like skin lesions in NC/Ngamice. /A. Sugiyama, S. Hata, K. Suzuki // *J. Vet. Med. Sci.* 72(6). – P. 755-763.
162. Sybren de Hoog (2021). Introduction to Dermatophytes, Dermatophytes and Dermatophytoses, 10.1007/978-3-030-67421-2. 3-12.
163. Sykes, J. M. IV & E. C. Ramsay, (2007). Attempted treatment of tigers (*Panthera tigris*) infected with *Microsporum canis*. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 38, 252-257/
164. Tang Q. (2008). Bluestone J.A. The Regulatory T-cell: a jack of all trades, master of regulation. *Nat Immunol.*, 9(3), 239-244.
165. Taplin D. (1969). Isolation and recognition of dermatophytes on a new medium (DTM). *Arch Dermatol.* 99, 203-209.
166. Turner D.C. (2000). The human-cat relationship. *The Domestic Cat: The Biology of its Behaviour*, 2nd edition. Cambridge: *Cambridge University Press*. 194-206.
167. Urbanovych, P. P. (2008). Patolohichna anatomiiia tvaryn. *Vetinform*, 896.
168. Ward P. (1990). Mechanism of neutrophil-mediated killing of endothelial cells. *J. Leuk. Biol.*, 48, 97-116.
169. Westhoff D.K. (2010): Treatment of feline dermatophytosis with an inactivated fungal vaccine. *Open Mycology J* 4, 10-17.
170. Williams D.L. (1997). Overview of (1→3)-beta-D-glucan immunobiology. *Mediators Inflamm.*, 6(4): 247–250.

171. Woo Y.I. (2010). The biological activities of(1,3)-(1,6)-beta-d-glucan and porous electrospun PLGA membranes containing beta-glucan in human dermal fibroblasts and adipose tissue-derived stem cells. /Y.I. Woo, B.J. Park, H.L. Kim // *Biomed. Mater.* 5(4). – P. 104-109.

172. Yoo S.D. (2002). Interspecies comparison of the oral absorption of itraconazole in laboratory animals. *Arch Pharm Res* 25, 387-391.

173. Yun Hsia Hsiao. (2018).The first report of terbinafine resistance *Microsporium canis* from a cat. *J Vet Med Sci*2018 Jun 6;80(6). 898-900.

174. Zhenikhova N. I. (2014). Klinicheskie i posmertnye osobennosti endogennykh gribkovykh infektsii u ekzoticheskikh zhivotnykh, ptits i reptilii, 124.

175. Коцюмбас . І. Я. (2006). Доклінічні дослідження ветеринарних лікарських засобів Львів: *Триада плюс*. 360 с.

176. Саноцкий И. В. (1975). Критерии вредности в гигиене и токсикологии при оценке опасности химических соединений /И. В. Саноцкий, И. П. Уланова. – М.: *Медицина*, 328 с.

177. СОУ85.2-37-736:2011“Препарати ветеринарні. Визначання гострої токсичності”. – К: *Мінагрополітики*, 2011. – 16 с.)

178. Косенко М. В. (1997). Токсикологічний контроль нових засобів захисту тварин (Методичні рекомендації//Розглянуті та схвалені Науково-технічною Радою (секція «Ветеринарна медицина» Мінсільгосппроду України у грудні1996р.). –*Київ*,1997. – 34 с.

ДОДАТКИ



Проректор з наукової роботи Кліщ І.М.

Тернопільський національний медичний університет імені І.Я.Горбачевського

Лабораторія УНДЛ

ПРОТОКОЛИ
експериментальних досліджень

Виконавець асистент Мартинів Ю.Б.

Державний науково-дослідний контрольний інститут
ветеринарних препаратів та кормових добавок
(79019, м. Львів, вул. Донецька, 11)

ЗАТВЕРДЖУЮ:

Директор ДНДКІ ветпрепаратів та
кормових добавок, д. вет. н., академік НААН

І. Я. Коцюмбас

2020 р.




З В І Т

**Проведення гістологічного дослідження зразків шкіри мурчаків
за умов експериментальної мікроспорії та при застосуванні
препаратів протигрибкової, імуностимулюючої дії**

Виконавці:

Зав. лаб. клініко-біологічних досліджень,
д. вет. н.  М. І. Жила

Аспірант каф. епізоотології
ЛНУВМ і БТ ім. С.З. Гжицького

 Ю. Мартинів

Львів – 2020

Державний науково-дослідний контрольний інститут
ветеринарних препаратів та кормових добавок
(79019, м. Львів, вул. Донецька, 11)

ЗАТВЕРДЖУЮ:

Директор ДНДКІ ветпрепаратів та
кормових добавок, д. вет. н., академік НААН

І. Я. Коцюмбас

2020 р.



З В І Т

**Проведення гістологічного дослідження зразків шкіри мурчаків
за умов експериментальної мікроспорії та при застосуванні
препаратів протигрибкової, імуностимулюючої дії**

Виконавці:

Зав. лаб. клініко-біологічних досліджень,
д. вет. н. М. І. Жила

Аспірант каф. епізоотології
ЛНУВМ і БТ ім. С.З. Гжицького

Ю. Мартинів

Львів – 2020



**ДЕРЖАВНА СЛУЖБА УКРАЇНИ
З ПИТАНЬ БЕЗПЕЧНОСТІ ХАРЧОВИХ ПРОДУКТІВ
ТА ЗАХИСТУ СПОЖИВАЧІВ**

вул. Б. Грінченка, 1, м. Київ, 01001, тел. 279-12-70, факс 279-48-83
e-mail: info@vet.gov.ua, код ЄДРПОУ 39924774

Район (місто) М.КИЇВ
Область 17 Вересня 2019 року



ФОРМА № 1

ВЕТЕРИНАРНЕ СВДОЦТВО

ІА № **525824**

Видане 80*****00 ПП Біомодельсервіс, М.КИЇВ, ШЕВЧЕНКІВСЬКИЙ, Антона Цедіка, 14
(кому – найменування юридичної особи та її місцезнаходження або прізвище, ім'я та по батькові фізичної особи та місце її проживання)

у тому, що серед тварин Екзотичні тварини мурчак
(указати вид тварин)
у кількості тридцять(30)гол. голів, що пред'явлені для ветеринарного
(словами)
отгляду і підлягають відправленню, хворих і підозрюваних на захворювання на заразні хвороби не
виявлено, вони виходять (вивозяться) із Київ
(назва населеного пункту,
господарства або власника)
благополучного щодо заразних хвороб тварин. Тварини перед відправленням клінічно здорова(и);
Відхилень від фізіологічної норми не виявлено.
(указати строки і місце профілактичного карантину, яким піддавалися дослідженням,
щепленням або іншим обробкам і дату)

Тварини направляються Львів Львів
(пункт, станція призначення та одержувач)
для утримання
(забою, відгодівлі, пролажу, розведення тощо)
і прямують: залізницею, водним, автомобільним, повітряним транспортом (потрібне
підкреслити) за маршрутом Київ-Львів
(указати основні пункти транспортування: станція, порт навантаження)
Специфікація (гуртова відомість, товарно-транспортна накладна) № _____ від « _____ » _____ року.
Особливі відмітки: Згідно списку МЕБ, захворювань із груп А і Б - немає.
(дата та номер погодження на вивіз за межі адміністративної території)

(ідентифікаційний номер тварини, серія та номер паспорта, серія та номер ветеринарної картки)

(необхідні відмітки, які заповнюються при відправленні тварин, що перехворіли на заразні хвороби)

Провідний лікар вет. медицини -
епізоотолог

(підпис, прізвище, ініціали та посяда особи, що видала свідоцтво)

Тупчій О. М.

<http://vd.foodcontrol.gov.ua>



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Ректор ЛНУВМБ
імені С.З. Гжицького
проф. Стибель В.В.

2021р.

«ПОГОДЖУЮ»

Фізична особа-підприємець
Віктор
Дмитрієв В.С.
керівник ветеринарної
клініки «Імпульс»

«20» лютого 2021 р.

АКТ

про проведення науково-дослідної роботи (НДР)

Між підписаними, представниками ветеринарної клініки «Імпульс» міста Львова – керівник клініки Дмитрієв Віктор Сергійович та директор клініки Дмитрієва Ірина Віталіївна з однієї сторони і представники Львівського національного університету ветеринарної медицини імені С.З. Гжицького – Кісера Ярослав Васильович, професор кафедри епізоотології, Божик Людмила Ярославівна, доцент кафедри епізоотології, Мартинів Юлія Василівна аспірант кафедри епізоотології ЛНУВМБ імені С.З. Гжицького з іншої сторони склали цей АКТ про те, що у 2021 році проведені дослідження з вивчення ефективності лікувального протигрибкового засобу «Мікромар» та імуностимулятора «Біоглюк» в умовах клініки «Імпульс» міста Львова.

В результаті проведених досліджень встановлено, що лікування мікроспорії котів з використанням протигрибкового засобу «Мікромар» та імуностимулятора «Біоглюк» є ефективним.

Відповідальні виконавці:

від ЛНУВМБ

імені С.З.Гжицького

Кісера Ярослав Васильович

Божик Людмила Ярославівна

Мартинів Юлія Василівна.

від Ветеринарної клініки «Імпульс»

Дмитрієв Віктор Сергійович

Дмитрієва Ірина Віталіївна

УКРАЇНА

Копія



ПАТЕНТ

НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

№ 144019

РОЗЧИН "МІКРОМАР" ДЛЯ ЛІКУВАННЯ ДЕРМАТОФІТНИХ
ІНФЕКЦІЙВидано відповідно до Закону України "Про охорону прав на винаходи
і корисні моделі".Зареєстровано в Державному реєстрі патентів України на корисні
моделі 25.08.2020.Заступник Міністра розвитку
економіки, торгівлі та сільського
господарства України

Д.О. Романович



(11) 144019

(19) UA

(51) МПК

A61K 9/08 (2006.01)
A61P 31/10 (2006.01)

-
- | | | | |
|-----------------------------------------------------------------------------|--------------------------|-------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| (21) Номер заявки: | u 2020 01885 | (72) Винахідники: | Мартинів Юлія Василівна,
UA,
Кісера Ярослав Васильович,
UA |
| (22) Дата подання заявки: | 17.03.2020 | | |
| (24) Дата, з якої є чинними
права на корисну модель: | 25.08.2020 | | |
| (46) Дата публікації відомостей
про видачу патенту та
номер бюлетеня: | 25.08.2020,
Бюл. № 16 | (73) Власник: | ЛЬВІВСЬКИЙ
НАЦІОНАЛЬНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ
ВЕТЕРИНАРНОЇ МЕДИЦИНИ
ТА БІОТЕХНОЛОГІЙ ІМЕНІ
С.З. ГЖИЦЬКОГО,
вул. Пекарська, 50, м. Львів,
79010, UA |
-

(54) Назва корисної моделі:

РОЗЧИН "МІКРОМАР" ДЛЯ ЛІКУВАННЯ ДЕРМАТОФІТНИХ ІНФЕКЦІЙ

(57) Формула корисної моделі:

Розчин для лікування дерматофітних інфекцій, що включає субстанції з вираженими фунгіцидною та антибактеріальною активністю, який відрізняється тим, що як діючі речовини використовують в комбінації клотримазол (0,25 %) та повідон-йод (5 %), та як розчинник - пропіленгліколь (до 100 %).

УКРАЇНА



ПАТЕНТ

НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

№ 146754

ВЕТЕРИНАРНИЙ ІМУНОСТИМУЛЮЮЧИЙ ПРЕПАРАТ
"БІОГЛЮК"

Видано відповідно до Закону України "Про охорону прав на винаходи і корисні моделі".

Зареєстровано в Державному реєстрі України корисних моделей
17.03.2021.

Генеральний директор
Державного підприємства
«Український інститут
інтелектуальної власності»

 А.В. Кудін





УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **146754** (13) **U**

(51) МПК

A61K 31/716 (2006.01)**A61P 37/04** (2006.01)

НАЦІОНАЛЬНИЙ ОРГАН
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
ДЕРЖАВНЕ ПІДПРИЄМСТВО
"УКРАЇНСЬКИЙ ІНСТИТУТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ"

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2020 04664	(72) Винахідник(и): Мартинів Юлія Василівна (UA), Кісера Ярослав Васильович (UA)
(22) Дата подання заявки: 22.07.2020	(73) Володілець (володільці): ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ВЕТЕРИНАРНОЇ МЕДИЦИНИ ТА БІОТЕХНОЛОГІЙ ІМЕНІ С.З. ГЖИЦЬКОГО, вул. Пекарська, 50, м. Львів, 79010 (UA)
(24) Дата, з якої є чинними права інтелектуальної власності: 18.03.2021	
(46) Публікація відомостей про державну реєстрацію: 17.03.2021, Бюл.№ 11	

(54) ВЕТЕРИНАРНИЙ ІМУНОСТИМУЛЮЮЧИЙ ПРЕПАРАТ "БІОГЛЮК"**(57) Реферат:**

Ветеринарний імуностимулюючий препарат містить як активну діючу речовину полісахариди - бета-глюкан в комбінації з біотином, а допоміжною речовиною є 5 %-ний розчин глюкози.

UA 146754 U

ДКПП 21.20.11

УКНД 11.220

ПОГОДЖЕНО

В.о. директора ДНДКІ
ветпрепаратів та кормових
добавок, д.вет.н.



В. П. Музика
" 24 " грудня 2020 р.

ЗАТВЕРДЖУЮ

Ректор національного
університету ветеринарної
медицини та біотехнологій
ім. С.З.Гжицького
д.вет.н., професор.



В.В. Стибель
" 24 " грудня 2020 р.

МІКРОМАР

розчин для лікування дерматофітних інфекцій

ТЕХНІЧНІ УМОВИ

ТУ У 21.2 – 00492990 -024:2020

(Введено вперше) _____

Дата надання чинності 24.12.2020р.Чинні до 20.12.2025р.**РОЗРОБЛЕНО**

Доктор вет. наук, професор

Я.В.Кісера

" 24 " грудня 2020р.

Аспірант кафедри епізоотології
Львівського національного
університету ветеринарної
медицини та біотехнологій
ім. С.З.Гжицького

Ю.В.Мартинів
" 24 " грудня 2020р.

Старший науковий співробітник
ДНДКІ ветпрепаратів та
кормових добавок, відділ
держконтролю та стандартизації

Л.В.Курилас
" 24 " грудня 2020р.

ДКПП 21.20.11

УКНД 11.220

ПОГОДЖЕНО

В.о. директора ДНДКІ
ветпрепаратів та кормових
добавок, д.вет.н.


В. П. Музика
“ 25 ” грудня 2020 р.

ЗАТВЕРДЖУЮ

Ректор національного
університету ветеринарної
медицини та біотехнологій
ім. С.З.Гжицького
д.вет.н., професор.


В.В. Стибель
“ 25 ” грудня 2020 р.

**Імуностимулюючий препарат
БІОГЛЮК**

ТЕХНІЧНІ УМОВИ

ТУ У 21.2 – 00492990 -025:2020

(Введено вперше) _____
Дата надання чинності 25.12.2020р.
Чинні до 25.12.2025р.

РОЗРОБЛЕНО

Доктор вет. наук, професор
_____ Я.В.Кісера
“ 25 ” грудня 2020р.

Аспірант кафедри епізоотології
Львівського національного
університету ветеринарної
медицини та біотехнологій
ім. С.З.Гжицького
_____ Ю.В.Мартинів
“ 25 ” грудня 2020р.

Старший науковий співробітник
ДНДКІ ветпрепаратів та
кормових добавок, відділ
держконтролю та стандартизації
_____ Л.В.Курилас
“ 25 ” грудня 2020р.

Міністерство освіти і науки України

**Львівський національний університет
ветеринарної медицини та біотехнологій
імені С.З. Гжицького**

МІКРОСПОРІЯ КОТІВ

*(Діагностика, лікування, профілактика
та заходи боротьби)*

Методичні рекомендації



Львів-2021

УДК 619:616,5:536 8 (073)

Кіс 74

Автори:

Кісера Я.В., доктор ветеринарних наук, професор кафедри епізоотології Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького.

Мартинів Ю.В., аспірантка кафедри епізоотології Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького.

Мікроспорія котів (*Діагностика, лікування, профілактика та заходи боротьби*). Методичні рекомендації /Я.В. Кісера, Ю.В. Мартинів. – Львів – 2021. – 34 с.

Висвітлені питання етіології, патогенезу, діагностики, лікування і специфічної профілактики мікроспорії котів. Подані результати досліджень по розробці протигрибкового засобу «Мікромар» та імуностимулятора «Біоглок».

Методичні рекомендації підготовлено для наукових співробітників, викладачів, аспірантів, слухачів відповідних закладів післядипломної освіти, студентів вищих навчальних закладів та лікарів ветеринарної медицини.

Рецензенти:

Коцюмбас Галина Іванівна, доктор ветеринарних наук, професорка, завідувачка кафедри нормальної та патологічної морфології і судової ветеринарії Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького.

Жила Микола Іванович, доктор ветеринарних наук, завідувач лабораторії клініко-біологічних досліджень Державного науково-дослідного контрольного інституту ветеринарних препаратів та кормових добавок.

Методичні рекомендації розглянуті та схвалені кафедрою епізоотології (протокол № 15 від 2 червня 2021 року).

Розглянуто і рекомендовано до друку навчально-методичною радою факультету ветеринарної медицини Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького (протокол № 7 від 14 червня 2021 року).

Зміст

1. Вступ	4
2. Етіологія мікроспорії котів	5
3. Патогенез мікроспорії котів	8
4. Діагностика мікроспорії котів.....	12
5. Лікування мікроспорії котів.....	19
6. Профілактика та заходи боротьби при мікроспорії котів	29
7. Список використаної літератури	31

«ЗАТВЕРДЖУЮ»



Перший проректор
Львівського національного університету
ветеринарної медицини та біотехнологій
імені С.З. Гжицького

І. Б. Турко
2022р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

Виданий Мартинів Юлії Василівні, аспірантці кафедри епізоотології Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького, про те, що матеріали її дисертаційної роботи на здобуття наукового ступеня доктора філософії на тему: “Мікроспорія котів (обґрунтування протигрибкового засобу «Мікромар» та імуномодулятора «Біоглюк» в системі лікувальних і профілактичних заходів)” які опубліковані у фахових наукових виданнях (Науковий вісник ЛНУВМБТ ім. С.З. Гжицького. – Том 21. – № 93. – Львів. – 2019. – С. 70-73. – Том 21. – № 95. – Львів. – 2019. – С. 27-31. – Том 23. – № 104. – Львів. – 2021. – С. 3-10; Біологія тварин. – Том 22. – № 1. – Львів. – 2020. – С. 15-19; Ukrainian Journal of Veterinary and Agricultural Sciences. – 2021. – 4(1). – P. 29-32. – 2021. – 4(3). – P. 46-50; Regulatory Mechanisms in Biosystems. – 2021, Volume 12, № 2. – P. 209-216; «EUREKA: Health Sciences». – 2020. – Volume 2 (26). – P. 76-84.) використовуються в навчальному процесі факультету ветеринарної медицини Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького при вивченні дисципліни «Епізоотологія та інфекційні хвороби».

Завідувач кафедри епізоотології,
доктор ветеринарних наук,
професор

Куртяк Б. М.

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Перший проректор
Львівського національного університету
ветеринарної медицини та біотехнологій
імені С.З. Гжицького

І. Б. Турко
2022р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

Виданий Мартинів Юлії Василівні, аспірантці кафедри епізоотології Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького, про те, що матеріали її дисертаційної роботи на здобуття наукового ступеня доктора філософії на тему: «Мікроспорія котів (обґрунтування протигрибкового засобу «Мікромар» та імуномодулятора «Біоглюк» в системі лікувальних і профілактичних заходів)» які опубліковані у фахових наукових виданнях (Науковий вісник ЛНУВМБТ ім. С.З. Гжицького. – Том 21. – № 93. – Львів. – 2019. – С. 70-73. – Том 21. – № 95. – Львів. – 2019. – С. 27-31. – Том 23. – № 104. – Львів. – 2021. – С. 3-10; Біологія тварин. – Том 22. – № 1. – Львів. – 2020. – С. 15-19; Ukrainian Journal of Veterinary and Agricultural Sciences. – 2021. – 4(1). – Р. 29-32. – 2021. – 4(3). – Р. 46-50; Regulatory Mechanisms in Biosystems. – 2021, Volume 12, № 2. – Р. 209-216; «EUREKA: Health Sciences». – 2020. – Volume 2 (26). – Р. 76-84.) використовуються в навчальному процесі факультету ветеринарної медицини Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького при вивченні дисципліни «Ветеринарна мікробіологія та імунологія».

Завідувач кафедри мікробіології та вірусології,
кандидат ветеринарних наук,
доцент

Калініна О.С.

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Перший проректор
Львівського національного університету
ветеринарної медицини та біотехнологій
імені С.З. Гжицького

_____ І. Б. Турко
_____ 2022р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

Виданий Мартинів Юлії Василівні, аспірантці кафедри епізоотології Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького, про те, що матеріали її дисертаційної роботи на здобуття наукового ступеня доктора філософії на тему: “Мікроспорія котів (обґрунтування протигрибкового засобу «Мікромар» та імуномодулятора «Біоглюк» в системі лікувальних і профілактичних заходів)” які опубліковані у фахових наукових виданнях (Науковий вісник ЛНУВМБТ ім. С.З. Гжицького. – Том 21. – № 93. – Львів. – 2019. – С. 70-73. – Том 21. – № 95. – Львів. – 2019. – С. 27-31. – Том 23. – № 104. – Львів. – 2021. – С. 3-10; Біологія тварин. – Том 22. – № 1. – Львів. – 2020. – С. 15-19; Ukrainian Journal of Veterinary and Agricultural Sciences. – 2021. – 4(1). – Р. 29-32. – 2021. – 4(3). – Р. 46-50; Regulatory Mechanisms in Biosystems. – 2021, Volume 12, № 2. – Р. 209-216; «EUREKA: Health Sciences». – 2020. – Volume 2 (26). – Р. 76-84.) використовуються в навчальному процесі факультету ветеринарної медицини Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького при вивченні дисципліни «Патологічна анатомія та розтин».

Завідувач кафедри нормальної та патологічної
морфології і судової ветеринарії,
доктор ветеринарних наук,
доцент



Жила М.І.

Затверджую

Перший проректор
 проректор з навчальної роботи
 професор Дмитро ОНОПРИЄНКО

(підпис) (прізвище, ініціали)
 « 14 » 2022 р.

А К Т

Даним актом стверджується, що результати дисертаційної роботи на тему: Мікроспорія котів (обґрунтування протигрибкового засобу «Мікрмар» та імуностимулятора «Біоглюк» в системі лікувальних і профілактичних заходів).

що представлена на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 211 – Ветеринарна медицина

виконаної

Мартинів Юлією Василівною

ПІБ здобувача

впроваджено у навчальну програму при викладанні дисциплін (и) «Епізоотологія та інфекційні хвороби тварин», «Ветеринарна мікробіологія», «Інфекційні хвороби собак і котів»

Назва дисципліни

під час читання лекцій та проведення лабораторних занять

застосування препаратів «Мікрмар» і «Біоглюк» для лікування мікроспорії собак і котів
 (необхідно конкретизувати, які результати дисертаційної роботи і яким чином (способом) використані при

котів

викладанні дисциплін (и)

на кафедрі Епізоотології та інфекційних хвороб тварин

у підготовці фахівців ОС «Магістр»

за спеціальностями 211 «Ветеринарна медицина»

назва спеціальності

у Дніпровському державному аграрно-економічному університеті

назва ВНЗ

Розглянуто і схвалено на засіданні кафедри епізоотології та інфекційних хвороб тварин протокол № 10 від «16» травня 2022 року.

Декан факультету
 к.вет.н., доцент



Іван БІБЕН

В.о. завідувача кафедри епізоотології та інфекційних хвороб тварин ДДАЕУ,
 к.вет.н., доцент



Володимир ЗАЖАРСЬКИЙ



Про провадження результатів дисертаційної роботи у навчальний процес

Даним актом стверджується, що результати кандидатської дисертаційної роботи, що представлена на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 211 – ветеринарна медицина, аспірантки факультету ветеринарної медицини Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького **Мартинів Юлії Василівни** за темою: «Мікроспорія котів (обґрунтування протигрибкового засобу «Мікромар» та імуностимулятора «Біоглюк» в системі лікувальних і профілактичних заходів)», впроваджені у навчальний процес при викладанні дисциплін «Ветеринарна мікробіологія», «Епізоотологія та інфекційні хвороби тварин», «Лабораторна діагностика заразних хвороб» у підготовці фахівців ОС «Магістр» за спеціальностями 211 «Ветеринарна медицина» та 212 «Ветеринарна гігієна, санітарія і експертиза» та використовуються в наукових дослідженнях кафедри епізоотології, мікробіології і вірусології факультету ветеринарної медицини, Національного університету біоресурсів і природокористування України, м. Київ. Розглянуто та схвалено на засіданні кафедри епізоотології, мікробіології і вірусології, протокол № 5 від 5 травня 2022 року.

Декан факультету ветеринарної медицини
док. біол. наук, професор,
академік НААН України

М. І. Цвіліховський

Професор кафедри епізоотології,
мікробіології і вірусології
док. вет. наук, доцент

М. Л. Радзіховський

Завідувач кафедри епізоотології,
мікробіології і вірусології
канд. вет. наук., доцент

В. В. Мельник