



Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького.

Серія: Ветеринарні науки

Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies.

Series: Veterinary sciences

ISSN 2518-7554 print

ISSN 2518-1327 online

doi: 10.32718/nvlvet9903

<https://nvlvet.com.ua/index.php/journal>

UDC 615.636.09

Determination of the activity of fungicides against pathogens of dermatomycoses in domestic animals

I. M. Kushnir¹, V. I. Kushnir¹, B. V. Gutyj², I. S. Semen¹, S. D. Murska¹, G. V. Kolodiy¹, U. Z. Berbeka¹

¹State Scientific-Research Control Institute of Veterinary Medicinal Products and Feed Additives, Lviv, Ukraine

²Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies Lviv, Ukraine

Article info

Received 31.08.2020

Received in revised form

24.09.2020

Accepted 25.09.2020

State Scientific-Research Control Institute of Veterinary Medicinal Products and Feed Additives, Donetsk Str., 11, Lviv, 79019, Ukraine.
Tel.: +38-096-367-31-37
E-mail: igorku70@gmail.com

Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies Lviv, Pekarska Str., 50, Lviv, 79010, Ukraine.

Kushnir, I. M., Kushnir, V. I., Gutyj, B. V., Semen, I. S., Murska, S. D., Kolodiy, G. V., & Berbeka, U. Z. (2020). Determination of the activity of fungicides against pathogens of dermatomycoses in domestic animals. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 22(99), 20–23. doi: 10.32718/nvlvet9903

The aim of the study was to identify and identify the causative agents of dermatomycosis in dogs and cats and to determine their sensitivity to solutions of ketonazole and chlorhexidine digluconate, which are part of the drug Skinhard. This is a spray for external use, manufactured by PJSC "Halychpharm". For laboratory diagnosis of dermatomycoses, samples from the affected parts of the skin and fur of domestic animals were used. To isolate a pure culture of fungi were sown on selective media: wort agar, agar Saburo, Chapek. The optimal cultivation regime for pathogenic fungi was 20–25 °C. Isolated fungal cultures were identified by the appearance and shape of colonies, their consistency, color, ability to grow at 37 °C, microscopic structure, in particular - the nature of mycelial branching and the presence of septa, location of conidiophores, spores and other signs. A microbiological examination of the affected areas of the skin of dogs and cats was performed to detect microscopic fungi. The following fungi were isolated from dogs affected by mycoses: *Candida* spp., *Aspergillus niger*, *Epidermophyton* spp., *Microsporum* spp., *Mucor* spp., *Trichophyton* spp., *Mallassezia* spp., *Sporotrich* spp., *Candida albicans*, and from cats: *Microspor* *Candida* spp., *Spototrich* spp., *Rhizorus* spp., *Fusarium* spp. *Trichophyton* spp. Isolated microscopic fungi of the genus *Malassezia* spp. belong to superficial mycoses (keratomycoses) and affect the superficial layers of skin and hair. Epidermatophytes: *Trichophyton* spp., *Epidermophyton* spp., *Microsporum* spp. affect the epidermis, skin and coat. In addition, opportunistic fungi of the genus *Aspergillus* spp., *Mucor* spp., *Rhizorus* spp. and *Fusarium* spp. Chlorhexidine digluconate was found to be highly active against dermatophytes (*Trichophyton* spp., *Microsporum* spp.), Less active against fungi of the genus *Candida* and less active against *Aspergillus* spp., *Mucor* spp., *Rhizorus* spp., *Fusarium* spp. Ketonazole is highly active against dermatophytes (*Trichophyton* spp., *Epidermophyton* spp., *Microsporum* spp.), Yeast (*Malassezia* spp., *Candida* spp.) And opportunistic fungi (*Aspergillus* spp., *Mucor* spp., *Rhizorus* spp.).

Key words: chlorhexidine digluconate, ketonazole, microscopic fungi, epidermatophytes, mycoses.

Визначення активності фунгіцидних засобів до збудників дерматомікозів домашніх тварин

I. M. Кушнір¹, В. І. Кушнір¹, Б. В. Гутий², І. С. Семен¹, С. Д. Мурська¹, Г. В. Колодій¹, У. З. Бербека¹

¹Державний науково-дослідний контрольний інститут ветеринарних препаратів та кормових добавок, м. Львів, Україна

²Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького, м. Львів, Україна

Метою дослідження було виділити та ідентифікувати збудники дерматомікозу собак та котів та визначити їх чутливість до розчинів кетоназолу та хлоргексидину диглюконату, які входять до складу препарату Скінгард. Це – спрей для зовнішнього

застосування, виробництва ПАТ “Галичфарм”. Для лабораторної діагностики дерматомікозів використовували зразки з уражених частин шкіри та шерсті домашніх тварин. Для виділення чистої культури грибів проводили посіви на селективні середовища: сусло-агар, агар Сабуро, Чапека. Оптимальний режим культивування для патогенних грибів становив 20–25 °С. Виділені культури грибів ідентифікували за зовнішнім виглядом і формою колоній, їх консистенцією, кольором, здатністю до росту за температури 37 °С, мікроскопічній будові, зокрема – характером розгалуження міцелію і наявністю у ньому септ, розташуванню конідієносців, спор та іншими ознаками. Проведено мікробіологічне дослідження уражених ділянок шкіри собак та котів на предмет виявлення мікроскопічних грибків. Від собак, уражених мікозами виділяли наступні грибки: *Candida spp.*, *Aspergillus niger*, *Epidermophyton spp.*, *Microsporium spp.*, *Mucor spp.*, *Trichophyton spp.*, *Mallasseria spp.*, *Sporotrix spp.*, *Candida albicans*, а від котів: *Microsporium spp.*, *Candida spp.*, *Spototrix spp.*, *Rhizopus spp.*, *Fusarium spp.* *Trichophyton spp.* Виділені мікроскопічні грибки роду *Malassezia spp.* належать до поверхневих мікозів (кератомікозів) і уражають поверхневі шари шкіри та шерсть. Епідерматофіти: *Trichophyton spp.*, *Epidermophyton spp.*, *Microsporium spp.* уражають епідерміс, шкіру та шерстний покрив. Крім цього, у досліджуваних зразках виявлено опортуністичні гриби роду *Aspergillus spp.*, *Mucor spp.*, *Rhizopus spp.* та *Fusarium spp.* Встановлено, що хлоргексидину диглюконат високо активний до дерматофітів (*Trichophyton spp.*, *Microsporium spp.*), менше активний до грибків роду *Candida* та мало активний до *Aspergillus spp.*, *Mucor spp.*, *Rhizopus spp.*, *Fusarium spp.* Кетоназол високо активний щодо дерматофітів (*Trichophyton spp.*, *Epidermophyton spp.*, *Microsporium spp.*), дріжджів (*Malassezia spp.*, *Candida spp.*) та до опортуністичних грибів (*Aspergillus spp.*, *Mucor spp.*, *Rhizopus spp.*, *Fusarium spp.*).

Ключові слова: хлоргексидину диглюконат, кетоназол, мікроскопічні грибки, епідерматофіти, мікози.

Вступ

На сьогодні шкірні захворювання людей та тварин є надзвичайно гострою проблемою не тільки в Україні, але й багатьох країнах світу. Серед патологій дрібних домашніх тварин домінуючу роль займають дерматози, спричинені грибковою мікобіотою. Мікроскопічні грибки, які попадають на уражену шкіру розмножуються у її нижніх шарах, а продукти життєдіяльності викликають місцеве запалення (Nikitushkina, 2005; Martynyshyn et al., 2017).

Дуже часто дерматомікози виникають на тлі нераціонального використання антибіотиків, особливо широкого спектру дії та різноманітних хіміотерапевтичних засобів, які послаблюють природні захисні механізми макроорганізму (LaFleur et al., 2011; Iovenko & Koval, 2019; Kushnir et al., 2019; Borisenko et al., 2020). За високої мінливості патогенних грибків та їх здатності пристосовуватися до умов довкілля, патологічний процес значно поглиблюється, що сприяє поширенню інфекції (Koliadenko et al., 2010).

Встановлено, що дерматомікози характеризуються сезонністю прояву, природно-кліматичними факторами та чіткою видовою, віковою і породною структурою епізоотичного процесу (Bila et al., 2014). Проте, слід відзначити, що дерматомікози є поліетіологічним захворюванням, в патогенезі якого провідна роль належить таким біологічним факторам, як наявність ектопаразитів, умовно-патогенної мікрофлори та алергенів. Зокрема, умовно-патогенна мікрофлора, за умов ослаблення імунітету організму, здатна проявляти патогенні властивості та викликати різні запальні процеси (Kutsan et al., 2015).

При цьому, роль мікроскопічних грибків не зводиться лише до патологічного впливу на шкіру, але вони можуть бути причиною мікозів тварин та птиці. За дослідження, загиблої птиці на предмет виявлення мікозів, у 47 % випадків було виявлено мікроскопічні гриби. Зокрема, з легень та повітроносних мішків загиблих курей виділяли різні види грибів: *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus*, *Mucor ramosissimus*, *Mucor racemosus*, *Mucor pusillus*, *Rhizopus microsporus*, *Candida albicans*, *Penicillium notatum*, *Helminthosporium* (Aranchii et al., 2016).

Слід відзначити, що дерматомікози домашніх тварин є надзвичайно небезпечними, оскільки можуть бути джерелом інфекції для людини. Зоонози, потенційно можуть передаватися людині від домашніх тварин, а діти попадають у групу особливого ризику (Bondarenko, 2014).

Сьогодні для лікування дерматомікозів розроблено цілий ряд лікарських засобів, але не дивлячись на значну їх кількість, проблема шкірних захворювань домашніх тварин, особливо при змішаній грибково-бактеріальній інфекції, залишається актуальною. З огляду на це, удосконалення та розроблення нових ефективних та безпечних фунгіцидних препаратів є надзвичайно важливим завданням ветеринарної медицини України. Тому метою дослідження було виділити та ідентифікувати збудники дерматомікозу собак та котів та визначити їх чутливість до розчинів кетоназолу та хлоргексидину диглюконату, які входять до складу препарату Скінгارد. Це – спрей для зовнішнього застосування, виробництва ПАТ “Галичфарм”.

Матеріал і методи досліджень

Для лабораторної діагностики дерматомікозів використовували зразки з уражених частин шкіри та шерсті домашніх тварин. Для виділення чистої культури грибів проводили посіви на селективні середовища: сусло-агар, агар Сабуро, Чапека. Оптимальний режим культивування для патогенних грибів становив 20–25 °С. Виділені культури грибів ідентифікували за зовнішнім виглядом і формою колоній, їх консистенцією, кольором, здатністю до росту за температури 37 °С, мікроскопічній будові, зокрема – характером розгалуження міцелію і наявністю у ньому септ, розташуванню конідієносців, спор та іншими ознаками (Sarkisov, 1971).

Фунгіцидну активність хлоргексидину диглюконату і кетоназолу визначали методом дифузії в агар, який базується на дифузії досліджуваного розчину в товщу агарової пластини. Для цього готували 2 % розчин хлоргексидину диглюконату та 1 % розчин кетоназолу, що відповідає концентрації діючих речовин в препараті Скінгارد, спрей для зовнішнього застосування. Верхній шар агаризованого середовища Сабуро засівали виділеними культурами грибів, кон-

центрацію яких визначали відповідно за стандартом каламутності на 0,5 одиниць за McFarland. У товщі агарової пластини робили лунок діаметром 8 мм, в які вносили по 0,05 см³ досліджуваних розчинів. Чашки Петрі культивували за температури 25 °С упродовж 48 годин. Чутливість виділених ізолятів оцінювали за розмірами зон затримки росту грибів навколо лунок з розчинами хлоргексидину і кетоназолу.

Результати та їх обговорення

Із патологічного матеріалу, отриманого від собак та котів, виділяли широкий спектр мікроскопічних грибків. Зокрема, від собак, уражених мікозами виділяли наступні грибки: *Candida* spp., *Aspergillus niger*, *Epidermophyton* spp., *Microsporium* spp., *Mucor* spp., *Trichophyton* spp., *Mallasseria* spp., *Sporotrix* spp., *Candida albicans*, а від котів: *Microsporium* spp., *Candida* spp., *Spototrix* spp., *Rhizopus* spp., *Fusarium* spp., *Trichophyton* spp.

У подальшому вивчали чутливість виділених грибків до 2 % розчину хлоргексидину та 1 % розчину кетоназолу. Результати визначення чутливості грибкової мікрофлори, виділеної з уражених ділянок шкіри собак до хлоргексидину і кетоназолу наведені в таблиці 1.

Таблиця 1

Чутливість грибкової мікрофлори, виділеної з уражених ділянок шкіри собак (M ± m, n = 3)

№ з/п	Виділені мікроскопічні грибки	Кетоназол Діаметр зон затримки росту, мм	Хлоргексидин
1	<i>Candida</i> spp.	32,6 ± 0,6	16,3 ± 0,3
2	<i>Aspergillus niger</i>	31,6 ± 0,8	13,3 ± 0,6
3	<i>Epidermophyton</i> spp.	29,0 ± 0,5	17,6 ± 0,3
4	<i>Microsporium</i> spp.	29,3 ± 0,6	20,6 ± 0,6
5	<i>Mucor</i> spp.	25 ± 0,5	13,6 ± 0,3
6	<i>Trichophyton</i> spp.	37,3 ± 0,6	21,3 ± 0,3
7	<i>Mallasseria</i> spp.	29,3 ± 0,6	15,3 ± 0,3
8	<i>Sporotrix</i> spp	25,3 ± 0,6	20,6 ± 0,3
9	<i>Trichophyton</i> spp.	41,6 ± 0,3	23,3 ± 0,6
10	<i>Candida albicans</i>	37,3 ± 0,6	21,3 ± 0,3
11	<i>Sporotrix</i> spp	29,6 ± 0,3	22,6 ± 0,3
12	<i>Trichophyton</i> spp.	32,6 ± 0,3	21,3 ± 0,6
13	<i>Candida</i> spp.	30,6 ± 0,3	18,0 ± 0,5
14	<i>Mucor</i> spp.	28,0 ± 0,5	14,6 ± 0,3

У результаті проведених досліджень встановили, що чутливість грибків, виділених з уражених ділянок шкіри собак до 1 % розчину кетоназолу та 2 % розчину хлоргексидину є різною. Зокрема, 1 % розчин кетоназолу проявляв значно вищу активність у порівнянні з 2 % розчином хлоргексидину. Так, при визначенні фунгіцидної дії кетоназолу, зони затримки рос-

ту різних ізолятів дерматофітів *Trichophyton* spp. складала від 32,6 до 41,6 мм, а при визначенні фунгіцидної дії 2 % розчину хлоргексидину – від 21,3 до 23,3 мм. До грибів роду *Candida* кетоназол проявляв вираженішу фунгіцидну дію – зони затримки росту складала від 30,6 до 37,3 мм, у порівнянні з хлоргексидином – 16,3 до 21,3 мм.

Результати визначення чутливості грибкової мікрофлори, виділеної з уражених ділянок шкіри котів, до хлоргексидину і кетоназолу наведені в таблиці 2.

Таблиця 2

Чутливість грибкової мікрофлори, виділеної з уражених ділянок шкіри котів (M ± m, n = 3)

№ з/п	Виділені мікроскопічні грибки	Кетоназол Діаметр зон затримки росту, мм	Хлоргексидин
1	<i>Microsporium</i> spp.	25,3 ± 0,3	22,3 ± 0,8
2	<i>Candida</i> spp.	18,3 ± 0,6	14,6 ± 0,3
3	<i>Spototrix</i> spp	23,6 ± 0,3	17,3 ± 0,6
4	<i>Rhizopus</i> spp.	25,6 ± 0,3	15,6 ± 0,3
5	<i>Candida</i> spp.	28,6 ± 0,6	16,6 ± 0,6
6	<i>Microsporium</i> spp.	24,3 ± 0,6	21,6 ± 0,3
7	<i>Trichophyton</i> spp.	32,6 ± 0,6	22,3 ± 0,6
8	<i>Fusarium</i> spp.	18,3 ± 0,3	12,6 ± 0,6
9	<i>Microsporium</i> spp.	22,3 ± 0,6	20,6 ± 0,3
10	<i>Trichophyton</i> spp.	28,6 ± 0,3	20,6 ± 0,3

Як видно з результатів, наведених у таблиці 2, чутливість грибків, виділених з уражених ділянок шкіри котів до 1 % розчину кетоназолу є вищою, ніж до 2 % розчину хлоргексидину. Зокрема, при визначенні фунгіцидної дії кетоназолу, зони затримки росту двох ізолятів дерматофітів роду *Trichophyton* spp. складала від 28,6 до 32,2 мм, а при визначенні фунгіцидної дії хлоргексидину – від 20,6 до 22,3 мм. Однак, фунгіцидна дія кетоназолу та хлоргексидину щодо ізолятів *Microsporium* spp. суттєво не відрізнялася. Зокрема, навколо лунок з кетоназолом зони затримки росту грибів складала від 22,3 до 25,3 мм, тоді як навколо лунок з хлоргексидином – від 20,6 до 22,3 мм.

Отже, згідно проведених досліджень встановлено, що хлоргексидину диглюконат високо активний до дерматофітів (*Trichophyton* spp., *Microsporium* spp.), менше активний до грибків роду *Candida* та мало активний щодо *Aspergillus* spp., *Mucor* spp., *Rhizopus* spp., *Fusarium* spp. Кетоназол високо активний відносно дерматофітів (*Trichophyton* spp., *Epidermophyton* spp., *Microsporium* spp.), дріжджів (*Malassezia* spp., *Candida* spp.) та до опортуністичних грибів (*Aspergillus* spp., *Mucor* spp., *Rhizopus* spp., *Fusarium* spp.).

Висновки

Із уражених ділянок шкіри собак та котів виділяли різні мікроскопічні грибки, зокрема епідерматофіти

роду *Trichophyton* spp., *Epidermophyton* spp., *Microsporum* spp., які уражали епідерміс, шкіру та шерстний покрив; гриби роду *Malassezia* spp. – уражали поверхневі шари шкіри та шерсть, а також опортуністичні гриби роду *Aspergillus* spp., *Mucor* spp., *Rhizopus* spp., *Fusarium* spp.

Виділені мікроскопічні гриби з уражених ділянок шкіри собак та котів проявлять високу чутливість до 1 % розчину кетоназолу та 2 % розчину хлоргексидину диглюконату, причому кетоназол проявляв вираженішу фунгіцидну дію.

References

- Aranchii, S. V., Zon, H. A., & Kinash, O. V. (2016). Epizootologichna sytuatsiia shchodo vistseralnykh mikrokoziv tvaryn v umovakh tsentralnoho rehionu Ukrainy. *Visnyk ahranoi nauky Prychornomia*, 2(1), 11–17. URL: <https://visnyk.mnau.edu.ua/n89v2r2016aranchiy> (in Ukrainian).
- Bila, N. V., Hlebeniuk, V. V., Zubkov, V. V., & Voronov, T. V. (2014). Epizootologichni osoblyvosti dermatomikoziv u misti Dnipropetrovsk. *Naukovotekhnichniy biuleten NDTs biobezpeky ta ekolohichnoho kontroliu resursiv APK*, 2(3), 63–67. URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/ndbnndc_2014_2_3_12 (in Ukrainian).
- Bondarenko, A. V. (2014). Infektsii, shcho peredaiutsia liudyni vid domashnikh tvaryn (lektsiia). *Semeinaia medytsyna*, 1, 51–57. URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/simmed_2014_1_14 (in Ukrainian).
- Borisenko, N. N., Bushueva, I. V., Parchenko, V. V., Gubenko, I. Ya., Mykhailiuk, Y. O., Riznyk, O. I., Aleksieiev, O. G., Gutyj, B. V., Lysianska, H. P., & Kurinnyi, A. V. (2019). Anti-Inflammatory, Antiviral Veterinary Medicine with Immuno-Modulating Activity. *Research J. Pharm. and Tech.*, 12(11), 5455–5459. doi: 10.5958/0974-360X.2019.00909.0.
- Iovenko, A., & Koval, G. (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. doi: 10.32718/nvlvet9328.
- Koliadenko, V. H., Stepanenko, V. I., & Kravchenko, A. V. (2010). Systemna terapiia mikrokoziv z urakhuvanniam osoblyvosti zhyttiediialnosti patohennykh hrybiv. *Hazeta "Novyny medytsyny ta farmatsii" Dermatologiya*, 319 (Tematycheskyi nomer). URL: <http://www.mif-ua.com/archive/issue-12119/article-12140/> (in Ukrainian).
- Kushnir, I. M., Kushnir, V. I., Gufriy, D. F., Gutyj, B. V., Vishchur, V. Ya., Bushueva, I. V., Kulish, S. M., Shcherbyna, R. O., Samura, T. A., & Stoyanovskyy, V. G. (2019). Subacute toxicity of the preparation "Biovir-P". *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 10(2), 674–680. URL: [https://www.rjpbcs.com/pdf/2019_10\(2\)/\[92\].pdf](https://www.rjpbcs.com/pdf/2019_10(2)/[92].pdf).
- Kutsan, O. T., Yaroshenko, M. O., & Keleberda, M. I. (2015). Osoblyvosti perebihu dermatomikoziv dribnykh domashnikh tvaryn, sprychynenykh *Alternaria alternata*. *Veterynarna medytsyna*, 100, 98–102. URL: http://jvm.kharkov.ua/sbornik/100/4_26.pdf (in Ukrainian).
- LaFleur, M. D., Lucumi, E., Napper, A. D., Diamond, S. L., & Lewis, K. (2011). Novel high-throughput screen against *Candida albicans* identifies antifungal potentiators and agents effective against biofilms. *J Antimicrob Chemother*, 66(4), 820–826. doi: 10.1093/jac/dkq530.
- Martynushyn, V., Gunchak, V., Gutyj, B., & Hlukh, O. (2017). To the method of preparation of the liniment on the basis of thiopropyl triazole and his assessment of physical properties and performance on individual microorganisms and fungi. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 19(82), 36–40. doi: 10.15421/nvlvet8208.
- Nikitushkina, N. A. (2005). Vidovoj sostav gribkovej mikroflory, persistirujushhej na kozhe zhivotnyh s priznakami dermatomikoza. XII Mezhdunarodnyj moskovskij kongress po boleznyam melkih domashnih zhivotnyh. URL: <http://nsau.edu.ru/images/vetfac/images/ebooks/pages/2005/s048.htm> (in Russian).
- Sarkisov, A. H. (1971). Diagnostika gribnyh boleznej mikrokozov i mikotoksikozov zhivotnyh. M. "Kolos" (in Russian).