

Корисна модель що передбачається, відноситься до ветеринарної біотехнології, а саме до ветеринарної мікробіології і біотехнології, зокрема до отримання штаму *Trichophyton verrucosum*, що використовується для виготовлення вакцини проти дерматомікозів тварин. В колекції Національного центру штамів мікроорганізмів патогенних для тварин і депозитарії Державного науково-контрольного інституту біотехнології і штамів мікроорганізмів (ДНКІБШМ) є штам *Trichophyton verrucosum* 11183, який використовується для виготовлення вакцини проти трихофітії великої рогатої худоби. Даний штам володіє характерними, властивими йому культурально-морфологічними ознаками, спорогенними та вірулентними властивостями.

В результаті довготривалого використання (з 70-х років 20 століття) у даного штаму знизився рівень споруутворення, підвищилась ступінь дисоціації в сторону збільшення в його популяції кількості слабоспорулюючих морфологічних типів і, як наслідок, зниження ефективності вакцини та збільшення її собівартості.

Метою корисної моделі, що передбачається, є отримання штаму *Trichophyton verrucosum*, який має високий рівень споруутворення, має однорідний склад популяції, що забезпечує промисловий рівень виготовлення вакцин проти дерматомікозів тварин.

Штам *Trichophyton verrucosum* Кн-01 отримано від хворої на трихофітію телиці за допомогою методу селекційного відбору за ознаками споруутворення, культурально-морфологічних властивостей та вірулентності для лабораторних і сільськогосподарських тварин. Штам *Trichophyton verrucosum* Кн-01 задекларовано в депозитарії ДНКІБШМ під номером 388.

Штам *Trichophyton verrucosum* Кн-01 388 характеризується наступними ознаками.

Морфологічні ознаки. Міцелій не окрашений, гіфи рівні, розгалужені, секційно розмежовані; діаметр 1,5-5мкм, мікроконідії круглі, овальні, грушоподібні, інколи паличковидні розміром 2×2-2×4мкм. Макроконідії тонкостінні, з тупою вершиною, з 1-2 перетинками, зустрічаються в невеликій кількості, розміром 8,0-10,0мкм в довжину і від 4,0-6,0мкм в ширину. Інколи (в старіючих культурах) зустрічаються артроспори, термінальні і інтеркалярні хламідоспори. Культуральні ознаки. На сусло-агарі колонії плискі або слабо випуклі, мучнисті, бархатисті, кремового кольору інколи білі з кремовим відтінком, з вираженою зональністю росту у вигляді концентричних кілець, ростучий край рівний або променистий, павутинчастий, зворотня сторона колонії світло-жовта або не забарвлена, колонія швидкоростуча, на 15 добу інкубації має розмір 36-50мм.

На агарі Сабуро має вигляд пласкої з пугочатим підвищенням в центрі колонії білого або з кремовим відтінком колонії, павутинчасто-порошистої, зворотня сторона світло-жовта з темнішим центром.

Склад популяції (ступінь дисоціації): не перевищує 2%.

Споруляція: в усіх типів колоній значне утворення мікроконідій - 160-200млн/см³.

Біохімічні властивості. Штам біохімічно не активний. Дає позитивну реакцію з глюкозою, дульцитом і фруктозою.

Вірулентні властивості. При наскірному зараженні гомогенізованою культурою *Trichophyton verrucosum* Кн-01 №388 дослідних кролів у попередньо епільовану і скарифіковану поверхню шкіри викликає типову клінічну картину трихофітії. При заражаючій дозі 5-10млн/см³ мікроконідій на місці аплікації на 10-12 день відмічено виражену ексудативно-запальну реакцію шкіри з появою тоненьких кірочок, що злущуються. Самовиліковування кролів спостерігають на 20-30 день.

Антигенні властивості. На введення культури штаму гриба в організмі тварин (кролі, телята тощо) утворюються специфічні аглютиніни в титрах 1:80-1:1280.

Імуногенні властивості. При дворазовому щепленні лабораторних тварин і телят вакциною, що виготовлена з цього штаму в дозі не менше 20млн/см³ живих мікроконідій у 90-100% тварин формується стійкий імунітет до зараження патогенним грибом.

Приклад 1. Проводять вивчення складу популяції культури штаму гриба *Trichophyton verrucosum* Кн-01 №388 і штаму гриба *Trichophyton verrucosum* 11183. Суспензії вирощених культур грибів розводять до 10⁻⁴, 10⁻⁵, 10⁻⁶ ступеню і висівають по 0,5см³ на дві чашки Петрі кожного розведення. Інкують при 26-28°C і з 7-10 добового віку починають дослідження. Підраховують загальну кількість колоній і вираховують середнє процентне співвідношення в популяції колоній, що різняться за формою, морфологією і кольором.

При вивченні культур штамів грибів встановлюють 3 види колоній:

1-й вид - колонія пласка або слабо опукла, мучниста, бархатиста, кремового кольору або біла з кремовим відтінком, з вираженою зональністю росту у вигляді концентричних кілець, ростучий край рівний або променистий, павутинчастий, зворотня сторона колонії світло-жовта або не забарвлена;

2-й вид - колонія випукла, біла або кремова, бархатиста, нескладчаста, концентричні кільця відсутні, периферія пласка, ростучий край рівний або зубчастий, зворотня сторона колонії світло-жовта або не забарвлена;

3-й вид - колонія випукла, напівсферична, бархатиста, пушиста, білого кольору, на 25-30 день може бути радіально складчастою, ростучий край рівний, зворотня сторона не забарвлена.

Ці морфологічні типи колоній мають різну здатність до споруутворення. Максимальний рівень споруутворення дають колонії 1-го виду. Співвідношення морфологічних видів колоній в популяції штамів *Trichophyton verrucosum* 11183 і Кн-01 №388 наведено в таблиці 1.

Таблиця 1

Назва штаму	Кількість колоній у популяції штаму (%)			
	1-й вид	2-й вид	3-й вид	Всього
11183	43	51	6	100
Кн-01 №388	98	2	-	100

Дані таблиці 1 свідчать, що популяція штаму Кн-01 №388 складається переважно із 1-го виду, а штаму 11183 - із 2-го і 1-го.

Приклад 2. Культуру *Trichophyton verrucosum* Кн-01 №388 вирощують на сусло-агарі в матрацних колбах при температурі 26-28°C протягом 15-25 діб. Вирощену культуру асептично знімають з поверхні поживного

середовища і стерильно гомогенізують у міксері. Отриманий гомогенат за допомогою стерильного фізіологічного розчину розводять до концентрації мікроконідій не менше 300-400млн/см³. Після перевірки на відсутність контамінації сторонньою мікрофлорою до отриманої суспензії грибної маси додають захисне цукрозо-желатинове середовище у співвідношенні 1:1, фасують у стерильні пеніцилінові флакони і ліофільно висушують. Виготовлена таким чином вакцина має вигляд таблетки сірого або сіро-бежевого кольору. Вакцина зберігає свої біологічні властивості протягом 12 місяців з дня виготовлення.

Приклад 3. Вивчають імуногенну активність вакцини на лабораторних тваринах. Дослідження проводять на 10 головах клінічно здорових морських свинок масою 300-350 грам. З них формують 2 експериментальні групи по 5 голів в кожній. Тварин першої щеплюють експериментальною вакциною ДНКІБШМ, другої - не щеплюють і використовують в якості контролю.

Щеплення тварин проводять в дозі 1см³ з вмістом 30млн/см³ мікроконідій. Повторне щеплення провели через 15 діб. Через 27 діб після другого щеплення проводять контрольне зараження тварин. Свинок заражають нашкірним методом штамом *Trichophyton verrucosum* С-102 №390. Отримані результати представлені в таблиці 2.

Дані, наведені в таблиці, свідчать, що після контрольного зараження у свинок 1-ї групи виражених клінічних ознак захворювання трихофітією не спостерігали. У тварин 2-ї групи спостерігали розвиток захворювання. Через 27 діб після контрольного зараження стало очевидним, що захворювання у контрольних морських свинок прогресує. При мікологічному дослідженні з вогнищ враження контрольних морських свинок були виділені висхідні культури *Trichophyton verrucosum*. Від імунізованих свинок 1-ї групи дерматофіта виділити не вдалося.

Таблиця 2

Строк після зараження (діб)	Клінічні ознаки захворювання після контрольного зараження	
	1-а група	2-а група
7	легке шелушіння і гіперемія шкіри	гіперемія, злущення епідермісу, утворення кірочок
14	легке шелушіння і гіперемія шкіри	розширення зони враження (до 4см), гіперемія, потовщення шкіри, папули утворення кірок
21	легке шелушіння і гіперемія шкіри	зона враження розширилась до 6см, некроз шкіри, гнійні виділення, утворення струпа;
27	спостерігаються ознаки одужання, гіперемія зникла, на вражених ділянках почався ріст волосся	захворювання прогресувало, з'явилися нові вогнища враження, клінічні прояви класичні для «стригучого лишая»

Приклад 4. Виготовлену за прикладом 1 вакцину використовують для щеплення телят віком 3-4 місяці. Телят щеплюють двічі з інтервалом 10-14 діб в дозі 1см³ з вмістом 30млн/см³ мікроконідій.

Через 27 діб після другого щеплення провели контрольне зараження тварин штамом *Trichophyton verrucosum* С-102 №390. Отримані результати представлені в таблиці 3.

Таблиця 3

Строк після зараження (діб)	Клінічні ознаки захворювання після контрольного зараження	
	1-а група	2-а група
7	легке шелушіння і гіперемія шкіри	гіперемія, злущення епідермісу, утворення кірочок
14	легке шелушіння і гіперемія шкіри, невеликі кірочки	розширення зони враження (до 4-5см), гіперемія, потовщення шкіри, папули утворення кірок
21	легке шелушіння, гіперемії шкіри немає, кірочки відпали	зона враження розширилась до 7-10см, папули, масивні кірки, гнійні виділення, утворення струпа
27	спостерігаються ознаки одужання, гіперемія зникла, на вражених ділянках почався ріст волосся	захворювання прогресувало, з'явилися нові вогнища враження, клінічні прояви класичні для «стригучого лишая»

Дані представлені в таблиці свідчать, що вакцина на основі антигену із штаму гриба *Trichophyton verrucosum* Кн-01 №388 виробляє імунітет проти трихофітії, викликаной *Trichophyton verrucosum* при експериментальному зараженні. Телята, які не були щеплені і раніше не хворіли на трихофітію сприйнятливі до експериментального зараження вірулентною культурою збудника.

Проведені дослідження показали, що новий штам гриба *Trichophyton verrucosum* Кн-01 №388 має високу однорідність популяції, високу спорогенну та імуногенну активність, що дозволяє рекомендувати його для виготовлення ефективної вакцини проти трихофітії тварин.