Министерство сельского хозяйства
Российской Федерации

Учреждение образования

Российская сельскохозяйственная академия

Кафедра микробиологии и вирусологии

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКЕ ДЕРМАТОФИТОЗОВ ЖИВОТНЫХ

Москва

2008

gost.e-ecolog.ru

Утверждены главным управлением ветеринарии
Министерства сельского хозяйства РФ 18 марта 2008 г.

СОДЕРЖАНИЕ

	стр.
1. Общие положения	4
2. Отбор патологического материала	5
3. Методы лабораторной диагностики	5
3.1. Микроскопический метод исследования	5
3.1.1. Микроскопия в люминесцентном микроскопе	5
3.1.2. Микроскопия в световом микроскопе	6
3.2. Микологический метод исследования	7
3.2.1. Выделение чистой культуры возбудителя	7
3.2.2. Идентификация вида возбудителя	8
3.2.3.Характеристика культурально-морфологических признаков возбудителей дерматофитозов животных	8
Приложение:	
1. Реакция агглютинации (РА) для диагностики трихофитии крупного рогатого скота	12
2. Питательные среды для культивирования дерматофитов	14
3. Характеристика культурально-морфологических признаков дерматофитов, редко встречаемых у животных	15
Литература	16

1. ОБЩИЕ ПОЛОЖЕНИЯ

1.1. **Дерматофитозы (трихофития, микроспория)** – инфекционные болезни животных и человека, характеризующиеся поражением кожи и ее производных (волос, перьев, когтей).

Трихофития – инфекционная болезнь животных и человека, характеризующаяся появлением на коже резко ограниченных, шелушащихся участков (лысины округлой формы) с обломанными у основании волосами или развитием выраженного воспаления кожи и фолликулов с выделением серозно-гнойного экссудата и образованием толстой корки; у птиц образуются скутулы и поражаются внутренние органы. Одной из форм трихофитии является фавус, при котором наблюдается поражение кожного покрова, характеризующееся образованием «фавозных щитков», развитием фолликулитов и разрушением сальных и потовых желез. Чаще встречается у птиц, кошек, собак, пушных зверей и человека, реже у других видов животных.

Микроспория - инфекционная болезнь животных и человека, характеризующаяся поражением кожи и ее придатков, сопровождающаяся воспалительными явлениями, обламыванием и выпадением волос, иногда поражаются когти. Наиболее часто микроспория встречается среди кошек, собак, лошадей, свиней, пушных зверей, мелких лабораторных животных, реже диких животных и животных, содержащихся в зоопарках и цирках.

1.2. Возбудители - микроскопические грибы, относящиеся к *группе* несовершенных грибов *отдела* Denteromycota (Fungi imperfecti), *родам* Trichophyton и Microsporum. Видовой состав возбудителей дерматофитозов животных регистрируемых в республике Беларусь представлен в таблице 1.2.1.

Таблица 1.2.1.

Видовой состав дерматофитов, регистрируемый у сельскохозяйственных животных РБ

Вид животного	Вид возбудителя
Крупный рогатый скот	Tr.verrucosum,Tr.mentagrophytes
Лошади	Tr. equinum,Tr. mentagrophytes, M.canis, M. equinum
Овцы	T. verrucosum var. autotrophcum
Свиньи	Tr.mentagrophytes, M.canis, M.gypseum, M. nanum
Собаки и кошки	M. canis
Пушные звери и кролики	Tr. mentagrophytes , M. canis
Куры и индейки	Tr. gallinae

Примечание: Имеются сообщения о поражении крупного рогатого скота и др. животных антропофильными дерматофитами: Tr. tonsurans (син. Tr. crateriforme) Tr. schoenleinii, Tr. violaceum, M. audouinii и геофильным дерматофитом Tr.

terrester (Н.А.Спесивцева. 1960; В.П.Королева, 1976; С.В.Петрович, 1989; F. K. Al-Ani, F. A. Younes, O. F. Al- Rawashdeh, 2002).

1.3. Диагноз на дерматофитозы ставят на основании характерных клинических признаков, эпизоотологических данных и результатов лабораторных исследований, включающих световую микроскопию и люминесцентное исследование патологического материала, выделение культуры гриба и его идентификацию, при необходимости постановку реакции агглютинации.

2. ОТБОР ПАТОЛОГИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА

2.1. Материал для исследования у больных и подозрительных по заболеванию животных берут в виде глубокого соскоба из периферических частей свежих пораженных участков кожи, не подвергавшихся лечебным обработкам.

2.2. Корочки с остатками волос, волосы, чешуйки отбирают пинцетом из пораженных участков (по возможности менее загрязненных) и помещают в чистые бумажные пакеты. Использовать для этой цели пробирки нецелесообразно, поскольку в них создается повышенная влажность, способствующая развитию плесневых грибов и бактерий.

2.3. На образцы отобранного патматериала направляемого в ветеринарную лабораторию для микологического исследования оформляют сопроводительную записку с указанием вида, возраста, клинических признаков болезни, место локализации пораженных участков кожи, даты взятия патматериала, а также район, область и хозяйство.

3. МЕТОДЫ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ

3.1. Микроскопическое исследование

3.1.1. Микроскопия в люминесцентном микроскопе

3.1.1.1. Для люминесцентного анализа патологического материала используют ртутно-кварцевые лампы ПРК-2, ПРК-4, Л-80, ЛД-130 и другие люминесцентные аппараты, оснащенные фильтром Вуда.

3.1.1.2. Материал отбирают от больных дерматофитозом животных, не подвергавшихся лечению, и помещают в чашки Петри, облучают ртутно-кварцевой лампой и просматривают в затемненном помещении. Патологический материал просматривают на расстоянии 20-25 см от светофильтра. Волосы, кожные чешуйки, инфицированные возбудителем микроспории, дают характерное изумрудно-зеленое свечение. Шерстный покров животных обработанных бриллиантовой зеленью также может давать неспецифическое изумрудно-зеленое свечение. Свечение может отсутствовать у животных черной масти, а также при инфицировании животных штаммами не продуцирующими пигмент птиридин. Поэтому при отрицательных результатах люминесцентной диагностики необходимо провести микроскопическое и культуральное исследования. При поражении трихофитоном пораженные волосы не имеют такого свечения. С помощью переносной ртутно-кварцевой установки можно исследовать в затемненном помещении животных подозрительных в заболевании.

3.1.1.3. Свечение в ультрафиолетовых лучах, пропущенных через фильтр Вуда, характерно только для волос, пораженных грибами рода Microsporum (M. canis, изредка M.gypseum, M.nanum), а также Trichophyton schonleinii. Волосы, пораженные микроспорумами, особенно M. canis, дают наиболее яркое свечение; волосы, пораженные T. schonleinii., имеют тусклую зеленоватую флюоресценцию.

3.1.2. Микроскопия в световом микроскопе

3.1.2.1. Для микроскопического исследования патматериал помещают в стерильную чашку Петри, которую ставят на темный фон (черную бумагу).

3.1.2.2. С помощью препаровальной иглы и глазного скальпеля отбирают и отрезают утолщенные корневые части волос, покрытые белым налетом и кожные чешуйки. Длина отрезков волос, подготовленных к микроскопии, должна составлять 1-2 мм. Затем несколько отрезков волос и чешуек (8-10) помещают на предметное стекло в каплю 20% NaOH или KOH, слегка подогревают над пламенем горелки до появления белого ореола вокруг капли (подогревать до кипячения не следует), после чего добавляют 1 каплю теплого 50% водного стерильного раствора глицерина и покрывают покровным стеклом. Предметные и покровные стекла должны быть чистыми и сухими. Чтобы не сломать покровное стекло его берут одной рукой за два ребра, а затем большим и указательным пальцем другой руки осторожно протирают марлей или салфеткой с обеих сторон. Исследуемый материал помещают в капле жидкости на предметном стекле, расправляют препаровальной иглой. Покровное стекло подводят ребром к капле жидкости и плавно опускают на объект. Из-под стекла жидкость вытесняет воздух, предотвращая образование воздушных пузырьков. Если капля жидкости выступает за пределы покровного стекла, ее избыток убирают фильтровальной бумагой, а если жидкости мало, то ее дополнительно вносят пипеткой у ребра покровного стекла, откуда она всасывается в силу

капиллярности. Вначале микроскопируют с объективом 40х, далее 90-100х. Приготовленные препараты длительному хранению не подлежат. Их лучше всего исследовать в течение 2 ч с момента приготовления, так как после этого наступает глубокое разрушение тканей или выпадают кристаллы щелочи.

3.1.2.3. При микроскопии пораженных волос от животных, больных дерматофитозами устанавливают, что возбудителям трихофитии присуще наличие округлых спор (артроспор) гриба образующих вокруг волоса чехол. Они могут располагаться как на поверхности, так и внутри волоса. В чешуйках, на ранних стадиях встречается ветвящийся мицелий. Споры грибов T. verrucosum, T. verrucosum var. autotrophicum, T. equinum более крупные (2,5-7 до 12 мкм), чем споры дерматофита T. mentagrophytes (2-4 мкм). Элементы Tr. gallinae располагаются по длине волоса, но беспорядочно – группами и цепочками. Наряду со спорами в волосе обнаруживают пузырьки воздуха в виде черных длинных тяжей. Видны и капельки жира. Для возбудителей микроспории характерно то, что артроспоры (1,5 – 3,5 мкм) беспорядочно располагаются у основания волоса, а иногда образуют чехлы на его поверхности. Споры резко преломляют свет и плотно прилегают друг к другу. Искривление мицелия и распад его на споры обуславливают характерное для микроспории мозаичное расположение спор. В редких случаях мозаичность расположения спор выражена несколько слабее. Кроме того в чешуйках встречается ветвящийся мицелий.

3.1.2.4. Обнаружение грибных элементов в патологическом материале (артроспоры, мицеальные нити) дает возможность поставить предварительный диагноз на трихофитию или микроспорию. Для идентификации и определения вида возбудителя необходимо выделить грибы в чистой культуре.

3.2. Микологический метод исследования

3.2.1. Выделение чистой культуры возбудителя

3.2.1.1. С целью получения чистой культуры гриба и определения его вида проводят посевы корневых частей волос и кожных чешуек на сусло – агар, агар Сабуро или мясо-пептонно-глицериновый агар с 2% глюкозы (МПГА). Посев производят микологической иглой на пробирки с указанными средами. Микологическая игла (микологический крючок) вставляется в иглодержатель. Конец иглы загнут под прямым углом или тупым углом и сплюснут в виде лопаточки. Прокаленную иглу слегка погружают в питательную среду для охлаждения, а затем концом иглы прикасаются к частице волоса или чешуйке кожи и переносят их по одному на поверхность косяка питательной среды на расстоянии 1-1,5 см друг от друга в 2-3 точки на 7-10 пробирок. Зараженные пробирки инкубируют при 26-28 ^{0}С до 30 дней, просматривая посевы каждые 3-5 дней. Загрязненный патологический материал перед посевом заливают небольшим количеством

70^0 этилового спирта и выдерживают в термостате до его полного испарения.

3.2.1.2. Появление роста колоний дерматофитов на месте посева пораженных волос или кожных чешуек можно отметить на 3-5 день. В отдельных случаях развитие возбудителя заметно только на 20-й день. в связи с чем, наблюдения за посевами надо вести в течение месяца. Формирование колоний дерматофитов наступает в различные сроки. Так, характерный для T.mentagrophytes, T. equinum, M. canis, M. equinum рост отмечают на 10-14-й день и на 20-25-й день для T. verrucosum, T.verrucosum var.autotrophicum. В связи с чем, описание культур данных дерматофитов следует проводить именно в этот период.

3.2.2. Идентификация вида возбудителя

3.2.2.1. При определении вида возбудителя описывают культуральные признаки, в частности, размеры колоний, их структуру и цвет, строение растущего края, пигментацию обратной стороны колонии и питательной среды, а также проводят микроскопическое исследование культур, отмечая строение и ширину мицелия, форму и размеры микроконидий, макроконидий, хламидоспор и артроспор. Для микроскопии культур готовят препараты: нагретой в пламени горелки и охлажденной микологической иглой или лопаточкой вырезают кусочек выросшей колонии гриба (при этом пробирку держат около пламени горелки), помещают его на предметное стекло в каплю 50%-ного водного раствора глицерина или воды и накрывают покровным стеклом, слегка раздавливая фрагмент колонии. Микроскопируют препараты с объективом х 10 и х 40, 100.

3.2.3. Характеристика культурально-морфологическихпризнаков дерматофитов

3.2.3.1. **Trichophyton verrucosum** (син. **T. faviforme**) – основной возбудитель трихофитии крупного рогатого скота, буйволов, северных оленей. Культуры трихофитона развиваются медленно,рост заметен на 5-7 день. На 15-й день на МПГА образуются округлые беловатые стелющиеся колонии 10-15 мм в диаметре. Микроскопия культуры позволяет выявить многочисленные округлые четко видные расположенные артроспоры до 6 мкм в диаметре и единичные микроконидии. При пересеве на сусло-агаре к 20-25 дню формируются белые, сероватые или желтоватые, кожистые, кожисто – бархатистые или бархатные колонии, плоские или возвышенные, ровные или бугристые, диаметром 5-8 мм. Микроконидии овальные, грушевидные, 1-3 х 2-8 мкм. Макроконидиии удлиненные, булавовидные, 3,5-8 х 20-50 мкм с 3-4 перегородками. Хламидоспоры округлые, диаметром 5-15 мкм, мицелий – 3-6 мкм. Обратная сторона колоний не окрашена. На агаре Сабуро образует кожистые колонии, пуговчатые в центре, с глубинным ростом в питательную среду. Многие штаммы этого гриба требуют тиамин и

инозитол для своего развития. Эти витамины имеются частично в сусло-агаре. Штаммы T. verrucosum патогенны для человека и лабораторных животных.

3.2.3.2. **Trichophyton verrucosum var. autotrophicum** - возбудитель трихофитии овец. Характеризуется интенсивным ростом первичных культур. Колонии на МПГА рыхлые, восковидные 10-20 мм в диаметре. Их рост сопровождается формированием хламидоспор округлой формы диаметром 10-22 мкм. Толщина мицелия – 4-12 мкм. Артроспоры округлой формы диаметром 4-12 мкм. На сусло-агаре рост замедляется на 20-25 день. Формируются восковидные коричневые со слабым ростом, светло-серые, пушистые или слабопорошистые, тонкие и нежные пушистые белые колонии. Микроконидии единичные, овальные, грушевидные, 5-10 мкм, макроконидии вытянутые, часто сохраняют «ножку», 25-30 мкм с 1-4 перегородками, хламидоспоры округлые концевые или интеркалярные до 4-5 мкм. Мицелий тонкий и толстый, четко просматриваются вздутия. Для своего развития возбудитель не требует добавления в питательную среду тиамина и инозитола. Штаммы патогенны для человека и лабораторных животных. Изменение окраски среды, содержащей сорбит, позволяет дифференцировать штаммы **T.verrucosum** от **T. verrucosum var. autotrophicum, T. mentogrophites, T. equinum.**

3.2.3.3. **T. mentagrophytes** (син.**T. gypseum**) – возбудитель трихофитии пушных зверей, кроликов, морских свинок, мышевидных грызунов, реже лошадей, крупного рогатого скота. Для возбудителя характерен достаточно интенсивный рост, так к 14 дню на агаре Сабуро формируются плоские, ровные, белые, желтоватые и розовые колонии, которые покрывают всю поверхность косяка. Обратная сторона колонии желтоватая или розовая. Мицелий ровный, ветвящийся шириной 0,7–3 мкм, встречаются спиралевидные и кольцевидные окончания гиф. Микроконидии округлые, овальные, округло-овальные диаметром 2-4 мкм. Артроспоры отсутствуют. Макроконидии образуются при добавлении в питательную среду стерильных волос, они цилиндрические с закругленными концами, имеют до 5 перегородок размером 5-10 х 30-50 мкм.

На сусло - агаре колонии белые, желтоватые, плоские, ровные, мучнистые, зернистые и бархатистые. Обратная сторона желтоватая, красно-коричневая. Морфология микро – макроконидий такая же как на агаре Сабуро. Специальных ростовых питательных потребностей не требуется. Возбудитель патогенен для человека и лабораторных животных.

3.2.3.4. **T. equinum** - вызывает развитие трихофитии лошадей. Возбудитель к 14-му дню на агаре Сабуро формирует белые, пушистые, плоские колонии 10-15 мкм в диаметре. Обратная сторона желтоватая, розоватая. На сусло-агаре колонии белые, бархатистые, плоские, гладкие или радиальнообразные. Обратная сторона желтоватая, красноватая. Морфология на сусло-агаре и агаре Сабуро идентична. Мицелий ветвящийся, 1-3 мкм шириной, вычвляются интеркалярные хламидоспоры 3-4 х 5-10 мкм, иногда встречаются спиральные и кольцевидные окончания гиф. Микроконидии

многочисленные, округлые, овальные, грушевидные, булавовидные на тонких коротких ножках по бокам мицелия 1-3х3-7 мкм. Макроконидии булавовидной формы с тупым наружным концом, с 3-4 перегородками и гладкими тонкими стенками размером 3-7х15-45 мкм. Специальные питательные потребности - отмечена зависимость от триптофана, никотинамида, никотиновой кислоты. Патогенны для лабораторных животных.

3.2.3.5. **T. gallinae** (синоним **Achorion gallinae**) - возбудитель трихофитии птиц (фавуса, парши). Растет медленно, начиная с 4-5-го дня. Молодые колонии на агаре Сабуро гладкие, бархатистые, белые; зрелые-складчатые, мучнистые, морщинистые, похожие на губку, крошковатые. Колонии бывают розового, розово-красного или малинового цвета. Пигмент появляется при температуре до 30^0С, в пересеянных культурах нередко отсутствует. В молодых культурах мицелий у гриба тонкий (1,5-2 мкм), в виде сегментов. Встречаются гребешковые образования в виде рога северного оленя, канделябр, хламидоспоры, веретенообразные вздутия. Мицелий зрелых культур диаметром 5 мкм состоит из цепочек клеток, разнообразных по форме и размеру. Макроконидии-1-6-клеточные, микроконидии грушевидные размером от 3,5 до 5 мкм.

3.2.3.6. **M. canis** (син. **M. lanosum, M. felineum, M. equinum**) - возбудитель микро-спории кошек, собак, кроликов, пушных зверей и лошадей. Первоначальные культуры M. canis обычно подразделяются на два типа: 1.- быстро растущие крупные типичные колонии, патогенные для лабораторных животных и 2-замедленный тип роста в виде мелких радиально- складчатых темно-коричневых, кожистых колоний, слабо патогенных для лабораторных животных, чаще всего выделяемые от лошадей которые, отнесены многими исследователями к M. equinum. Изучение антигенной структуры штаммов вида M. canis и M. equinum показало, что они наиболее близки между собой при изучении белковых экстрактов. К 14-му дню на сусло-агаре и агаре Сабуро формируются быстрорастущие рыхлопушистые, серовато-беловатые, желтоватые или бежевые колонии, которые впоследствии становятся мучнистыми, изредка бугристыми или с неглубокими радиальными складками. Мицелий ровный, ветвящийся, неравномерно утолщенный, бамбукообразный, имеются гребешки и узловатые органы, встречаются гифы из ракетообразных клеток. Микроконидии немногочисленные, округлые, грушевидные, продолговатые, размером 1,0-3,5 х 3-6 мкм (встречаются до 120 мкм), ширина 7-16 мкм. Чаще всего они многочисленные, веретеновидной формы с шиповатой двухконтурной оболочкой или ворсистые, состоят из 4-12 клеток. В зрелых культурах встречаются округлые, интеркалярные хламидоспоры диаметром 8-12 мкм. **M. canis** космополит. Специальных питательных потребностей для M. canis не отмечено. Однако для дифференциальной диагностики **M. canis** от других зооантропонозных дерматофитов используют способность ассимилировать маннит и сорбит. Кроме того, рост на картофельной среде

M.canis отличается от других дерматофитов тем, что диффундирует в питательную среду красный пигмент.

3.2.3.7. **M. gipseum** - возбудитель микроспории свиней. Быстрорастущий. На сусло-агаре дает плоские, с возрастом мучнистые, неправильно складчатые колонии, окруженные значительными мучнисто-бархатистыми зубчиками по периферии. Лабораторные штаммы неправильно складчатые, мучнистые, без периферической зоны. Цвет колоний желтоватый, светло-коричневый, коричневый, оборотная сторона рыжевато-коричневая. Мицелий ракетообразный, многочисленные, многоклеточные макроконидии 8-12 х 30-50 мкм, одиночные или располагаются группами. Микро-конидии боковые 3-5 х 2,5-3,5 мкм. Микроконидии могут и не обнаруживаться. M. nanum является вариантом M.gypseum, культуральные свойства и признаки схожи с вышеуказанным возбудителем.

ПРИЛОЖЕНИЕ 1

Реакция агглютинации (РА) для диагностики трихофитии крупного рогатого скота

1. Общие положения

1.1. Серологическая диагностика трихофитии крупного рогатого скота заключается в обнаружении специфических антител в сыворотке крови животных при помощи реакции агглютинации в пробирках или пластинках из органического стекла с лунками.

1.2. Реакция агглютинации может проводиться как дополнительный тест при сложностях возникающих при постановке лабораторного диагноза на трихофитию, особенно при исследовании материала, отобранного от животных с атипичной формой заболевания.

2. Методика исследования

2.1. Компоненты реакции агглютинации:

- испытуемые сыворотки крови;

- негативная сыворотка (сыворотка крови здоровых животных), изготовленная биопредприятием или полученная в лаборатории;

- антиген приготовленный в лаборатории из соответствующего вида дерматофита

2.1.1. Приготовление антигена

Для приготовления антигена используют штаммы грибов-дерматофитов Trichophyton verrucosum КМИЭВ-58 и 59 и Trichophyton mentagrophytes КМИЭВ–60, задепонированные в РНИУП «ИЭВ им. С.Н. Вышелесского НАНБ» или Tr.verrucosum №130, 153, Tr. mentagrophytes №251.

Культуры штаммов дерматофитов высевают в пробирки на сусло-агар и выращивают в течение 20-25 суток при температуре +26° С. В пробирки с выросшими культурами наливают 5,0 $см^3$ стерильного раствора натрия хлорида изотонического и грибной налет снимают микологическим крючком, пробирки встряхивают для получения споровой суспензии, которую переносят в стерильные пробирки и кипятят в течение 1 часа, затем переносят в ступку, добавляют физиологический раствор, растирают до образования гомогенной массы, фильтруют через бумажный фильтр, ресуспензируют 0,5%-ным фенолизированным изотоническим раствором натрия хлорида до концентрации 1 млрд. клеток по оптическому бактериийному стандарту и используют для постановки РА. Антиген из каждого из трихофитонов готовят по раздельности.

2.2. Постановка реакции агглютинации

Реакцию агглютинации ставят по общепринятой методике. Каждую пробу сыворотки крови разводят физиологическим раствором в падающих концентрациях, обычно кратным двум.

Реакцию ставят на пластинках из органического стекла с лунками, смешивая 0,5 $см^3$ сыворотки из каждого разведения с 0,5 $см^3$

инактивированных конидий дерматофитов (антиген), тщательно встряхивают и ставят в термостат при 37-38° С на 16-20 ч, а затем выдерживают 1 ч при комнатной температуре.

Одновременно с постановкой реакции проводят контроль на самагглютинацию и с негативной сывороткой в тех же разведениях, как и испытуемые.

3. Учет результатов

Результаты реакции агглютинации учитывают через 16-20 часов после визуально и оценивают в крестах по следующей схеме:

++++ - полное просветление жидкости, конидии трихофитонов осели на дно пробирки в виде «зонтика» (100% агглютинация):

+++ - неполное просветление жидкости и хорошо выраженный «зонтик» (75% агглютинации):

++ - просветление жидкости и «зонтик» умеренно выражен (50% агглютинация):

+ - едва заметное просветление, «зонтик» выражен очень слабо (25% агглютинация):

- - просветление жидкости и образование «зонтика» не наступило, на дне пробирки виден «пунктик» осевшего антигена, при легком встряхивании образуется равномерная взвесь конидий трихофитонов. За титр антител принимают наибольшее разведение сыворотки, в котором произошла 50%-ная агглютинация (2 креста).

Агглютинины могут регистрироваться в сыворотке у здоровых (вакцинированных) животных в пределах разведения 1:50; у больных и переболевших титр агглютининов колеблется в пределах 1:200-1:400.

Питательные среды для культивирования дерматофитов

Сусло-агар. Используется для выделения и культивирования дерматофитов. Солодовое неохмеленное сусло получают с пивоваренного завода. Его разбавляют в два раза водопроводной водой до 7^0 содержания сахаров по Баллингу, устанавливают pH до 8-8,2 добавлением 10% NaOH и 2% агара. Среду фильтруют через 3-4 слоя марли, разливают в стерильную посуду и автоклавируют 30 минут при 0,5 атм. После стерилизации pH среды 6,3-6,7.

Мясопептонно-глицериновый агар (МПГА) с 25% глюкозы. Используется для выделения дерматофитов из патологического материала. Глюкоза –20 гр., глицерин – 25 гр. (по весу), пептон – 10 гр., хлористый натрий – 5 гр., стерильная мясная вода (разбавленная дистиллированной водой 1:2) – 1л, агар-агар – 20г. Приготовление мясной воды. Мясной фарш 1 кг, холодная водопроводная вода 1 л. На выкипание добавляется 10% воды. Мясной фарш варят сразу же, нагревая его до кипения. За это время фарш уваривается, из красного становится серым. После этого варить еще один час, профильтровать через плотный марлевый или бумажный фильтр, если жидкость готова, то мясная вода будет прозрачная.

Агар Сабуро. Применяется для выделения и культивирования дерматофитов. Глюкоза – 40гр., пептон-10 гр., агар-агар – 18г, водопроводная вода 1 л. В небольшом объеме воды растворяют глюкозу и пептон, доводят объем жидкости до 1л, добавляют агар-агар и расплавляют его, нагревая воду, не доводя до кипения. Питательную среду фильтруют через марлю (4-5 слоев), разливают в стерильную посуду, стерилизуют под давлением 0,5 атм. в течение 30 минут pH после стерилизации 6,5 – 6,7.

Картофельный агар. Используют для дифференциальной диагностики M.canis от T. mentagrophytes и T. equinum. Картофель очищенный – 500 гр., глюкоза – 20 гр., NaCl – 5 гр., дрожжевой экстракт – 2,5 гр., агар-агар – 2гр., H_2O – 1л. Очищенный картофель нарезают ломтиками, заливают водопроводной водой и помещают на 40 минут для обработки текучим паром. После фильтрования добавляют глюкозу, NaCl , дрожжевой экстракт и агар-агар. После растворения агара среду разливают в стерильную посуду и автоклавируют 30 минут под давлением 0,5 атм. После стерилизации pH среды 6,0-6,2.

Характеристика культурально-морфологических признаков редко встречаемых у животных дерматофитов.

T. tonsurans – антропофильный гриб, волосы поражает по типу крупноспорового эндотрикса. Молодая культура гриба ровная, бархатистая, белого цвета. С возрастом культуры становятся мучнистыми, мозговидно исчерченными с кратером в центре. Цвет колоний имеет различные оттенки – от беловато-серого до желтого и коричневого. Мицелий септированный, встречаются интеркалярные и концевые хламидоспоры. Микроконидии обильные, грушевидные, постепенно увеличиваются в размерах и превращаются в шаровидные формы. Макроконидии встречаются редко.

T. violaceum (син. T. gourvilii) – антропофильный гриб, волосы поражает по типу крупноспорового эндотрикса. Границы гриба под микроскопом четкие, ясные. Споры крупные, одинакового размера, круглые, овальные, иногда квадратные, неправильной формы. Располагаются внутри волоса продольными цепочками, частично или сплошь заполняют волос, напоминая «мешок» с орехами. Колонии обычно фиолетовые, кожистые, радиально складчатые, бугристые. Наряду с пигиентированными колониями встречаются бесцветные или беловато-желтые. При микроскопическом исследовании обнаруживаются тонкие, ровные, септированные нити мицелия. В зрелых культурах мицелий становится шире, клетки округляются, постепенно превращаясь в цепочки из интеркалярных хламидоспор. Микро- и макроконидии не встречаются.

T. schonleinii (син. Achorion schonleinii) – антропофильный гриб. В пораженных волосах элементы гриба расположены внутри волоса, но не заполняют всей его толщи. Они представлены нитями мицелия различной длины и толщины и пучками или цепочками спор круглой или многоугольной формы. Характерным является обнаружение внутри волоса, кроме элементов гриба, различной величины пузырьков воздуха. Морфологические элементы кожной сыпи (скутулы) и чешуйки представляют собой чистую культуру гриба: они состоят из массы спор различной величины и формы и коротких извитых нитей мицелия. Зрелые культуры крупные, бугристые, сморчковидные, голые, беловато-желтого цвета, иногда с темно-фиолетовыми и бесцветными секторами. Отмечается выраженный полиморфизм культур – могут быть гипсовые, цереброформные, бархатисто-мучнистые колонии. Под микроскопом выявляется широкий септированный мицелий с причудливыми разветвлениями на концах в виде канделябров, гребешков, «рогов северного оленя».Характерны цепочки интеркалярных хламидоспор. Макроконидии не встречаются.

M. audouinii – антропофильный гриб, споры в волосе располагаются по типу эктотрикса. Колонии медленнорастущие, беловато-серого, иногда

рыжего оттенка. Колонии бархатистые, плоские, иногда радиально складчатые с небольшим возвышением в центре. Обратная сторона розовато-коричневая. Мицелий септированный, изогнутый, часторакетовидный. Имеются интеркалярные хламидоспоры, макроконидии с гладкой или бородавчатой поверхностью, концевой фрагмент их заострен. Микроконидии удлиненные или грушевидные. Пораженные волосы в лучах Вуда не флюоресцируют.

gost.e-ecolog.ru