

На правах рукописи

Олабоде Ифараджими Рафеал

**МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА И СПОСОБЫ ЛЕЧЕНИЯ
ОТИТОВ У МЕЛКИХ ДОМАШНИХ ЖИВОТНЫХ**

специальность: 4.2.1. Патология животных, морфология, физиология,
фармакология и токсикология

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Москва 2024

Работа выполнена в департаменте ветеринарной медицины аграрно-технологического института ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» (РУДН)

Научный руководитель:

Сачивкина Надежда Павловна, доцент департамента ветеринарной медицины ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», кандидат биологических наук, доцент

Официальные оппоненты:

Концевая Светлана Юрьевна, заведующий кафедрой агробиотехнологий ФГБОУ ДПО «Российская академия кадрового обеспечения агропромышленного комплекса», доктор ветеринарных наук, профессор

Пименов Николай Васильевич, заведующий кафедрой иммунологии и биотехнологии ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии — МВА имени К.И. Скрябина», доктор биологических наук, профессор, профессор РАН

Ведущая организация Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Ставропольский государственный аграрный университет»

Защита состоится 20 февраля 2025 года в 11.00 часов на заседании диссертационного совета ПДС 2021.003 при ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы», по адресу: 117198, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 8/2.

С диссертацией можно ознакомиться в Учебно-научном информационно-библиографическом центре Российского университета дружбы народов по адресу: 117198, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 6

Автореферат диссертации размещен на сайтах: <https://vak.minobrnauki.gov.ru>, <https://www.rudn.ru/science/dissovet>

Автореферат диссертации разослан « ____ » января 2025 г.

Ученый секретарь диссертационного совета, кандидат ветеринарных наук
доцент

Семёнова Валентина Ивановна

1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Отиты у мелких домашних животных - тяжело протекающее заболевание, снижающее качество их жизни, являются каждодневной практикой ветеринарных врачей и постоянной тематикой конференций, посвященных вопросам хирургической инфекции. При этом данная патология в большинстве случаев спровоцирована дрожжеподобным грибом *Malassezia pachydermatis* (*M. pachydermatis*, MP) (Kiss G. et al. 1996; Bond R. et al. 2010). По данным ряда авторов, в мире ежегодно отмечается рост частоты поражений малассезиозами (М) у собак (Crespo M.J. et al. 2002; Hobi S. et al. 2022). В первую очередь поражаются кожа и ее производные, вторично в патологический процесс вовлекаются нервная, эндокринная, выделительная и другие системы организма. Весьма вариабельный по своим клиническим проявлениям, малассезиоз часто проходит под другими диагнозами. Традиционные методы медикаментозной терапии таких животных неэффективны в плане достижения полной ремиссии, поэтому особенно важен поиск новых препаратов, позволяющих проводить эффективную терапию (Buommino E. et al. 2016; Vajwa J. et al. 2023). Несмотря на то, что современная антимикотическая терапия достаточно эффективна против острой инфекции, лечение хронического рецидивирующего малассезиозного отита (МО) не всегда эффективно (Brito E.H.S. et al. 2007; Weiler C.B. et al. 2013; Theelen B. et al. 2017). Так, при назначении системных антимикотиков частота излечения в острой фазе МО обычно составляет 60-80% (Li W. et al. 2020); при этом рецидивы заболевания наблюдаются в течение 6 месяцев у 20–22% собак (Guillot J. et al., 1999; Pahi A. et al., 2018). Эти неутешительные прогнозы в большинстве случаев связаны с нарастающей резистентностью возбудителей к антимикотическим средствам. В связи с этим возникает необходимость поиска альтернативных путей этиотропной терапии купирования хирургической инфекции и как один из ярких проявлений - малассезиозных отитов. Возможным перспективным направлением такого поиска является изучение фитопрепаратов, воздействующих на дрожжеподобные грибы (ДПГ) или на их чувствительность к антимикотикам.

Степень разработанности. Изучением малассезиоза у животных занималась целая плеяда исследователей (Aiemsraad J. et al. 2019; Schlemmer K.B. et al. 2019; Sim J.X.F. et al. 2019; Puigdemont A. et al. 2021; Vercelli C. et al. 2021; Angiolella L. et al. 2023; Scheler J. et al. 2024), которые изучили его распространение, причины возникновения, патогенез и схемы терапии. В последние годы интерес к лечению инфекций *M. pachydermatis* натуральными растительными продуктами значительно возрос в связи с растущей резистентностью к противогрибковым препаратам (Bismarck D. et al. 2020; Ebani V.V., Mancianti F. 2020). По данным Duarte, E.R. et al. 2002, значительная частота рецидивов МО вынуждает врачей продлевать схему лечения или увеличивать дозу антимикотика. По данным Gupta, A.K. et al. 2000, продление периода лечения может лишь сместить вероятность рецидива малассезиоза во времени, а увеличение дозы препарата приводит к дополнительным побочным эффектам. Проблема противорецидивной терапии осложняется еще и тем, что при широком применении препаратов из группы азолов может развиваться резистентность М к ним (Morris D.O. et al. 2004; Lyskova P. et al. 2007; Cordeiro B. et al. 2022). Поэтому исследование новых противогрибковых препаратов, улучшение терапевтических схем и их влияние на вирулентность приводящих, являются актуальными в ветеринарии.

Цель исследования: оценить потенцирующее действие фитопрепарата Фарнезола по отношению к современным антимикотическим средствам в комплексном лечении острого малассезиозного отита.

Для достижения намеченной цели перед нами были поставлены **следующие задачи:**

1. Изучить свойства штаммов *Malassezia pachydermatis* сопутствующую бактериальную флору от клинически больных собак и кошек с малоссезиозным отитом;
2. Исследовать способность Фарнезола разрушать биопленки *M. pachydermatis in vitro*

и усиливать действие противогрибковых средств;

3. Оценить эффективность моделей *in vivo* с инфекцией *M. pachydermatis*;

4. Определить влияние Фарнезола на процесс лечения малосезиозного отита у кроликов

5. Доказать, усиливающее действие Фарнезола антимикробных средств на модели малосезиозного отита.

Научная новизна. Впервые доказана корреляция между устойчивостью штаммов *Malassezia. pachydermatis* к современным антимикотикам и способностью образовывать биопленки. Для этого были выбраны наиболее сильные продуценты биоплёнок (оптическая плотность выше 0.4) и наиболее устойчивые штаммы к антимикотикам (резистентность наблюдалась к 7 препаратам из 8). Проведен анализ видового разнообразия микроорганизмов при малосезиозном отите: у собак *M. pachydermatis* чаще выделялся со стафилококками и стрептококками, а у кошек - с энтеробактериями и стафилококками. Впервые установлены максимальные величины индекса адгезии *M. pachydermatis* ($8,28 \pm 0,62$) и коэффициента адгезии ($70,62 \pm 4,91\%$) к буккальному эпителию собак. Впервые установлены максимальные величины фагоцитарного индекса *M. pachydermatis* ($83,1 \pm 2,7\%$) и фагоцитарного числа ($9,4 \pm 1,1$) к альвеолярным макрофагам крыс. Предложена оригинальная модель острого малосезиозного отита на кроликах. Доказано терапевтическое и противорецидивное действие Фарнезола в экспериментах *in vivo*. Определены эффективные концентрации Фарнезола (12,5-200 мкМ/мл), приводящие к снижению биоплёнок *M. pachydermatis* на 55-71%. Доказано, что Фарнезол в дозе 25-200 мкМ/мл усиливает действие антимикотиков (Амфотерицина В, Нистатина, Вориконазола и Кетоконазола) или заново активизирует препарат, который перестал воздействовать на возбудителя (Клотримазол). Установлено, что при добавлении Фарнезола в схему лечения отитов грибковой этиологии у собак приводило к уменьшению гиперемии, зуда, отека, гнойного экссудата на 5-7-й дни лечения, а полное клиническое выздоровление животных наступало к 10-14 дню терапии. При этом регистрировали увеличение количества гемоглобина в 1,22 раза, снижение числа лейкоцитов в 1,30 раза, на фоне снижения показателей эозинофилов в 1,42 раза и палочкоядерных нейтрофилов в 1,41 раза, в опытной группе после лечения, при сравнении с контролем.

Теоретическая и практическая значимость работы. Разработана эффективная технология моделирования *M. pachydermatis* у лабораторных животных. Предложенная схема лечения малосезиозного отита, позволяет добиться видимого клинического улучшения, превышающего скорость заживления современными препаратами в ветеринарии. Препарат Фарнезол природного происхождения может быть как основным, так и дополнительным терапевтическим средством, предназначенным для лечения малосезиозного отита у собак и кошек и профилактики его рецидивов. Включение Фарнезола в схему лечения можно рассматривать как альтернативу применению антимикотиков в случае развития резистентности к ним. В ходе работы собрана рабочая коллекция штаммов *M. pachydermatis*, которая будет использована в дальнейших исследованиях кафедры ветеринарной медицины по изучению антагонистических взаимоотношений между микроорганизмами разных видов.

Методология и методы исследования. Тема диссертации является частью научно-исследовательской работы Департамента ветеринарной медицины аграрно-технологического института РУДН. При проведении исследований использовали методы патентного поиска, анализ, сравнение, обобщение, манипуляции при терапии и статистический анализ. Методы исследования – клинические, биохимические, микробиологические, морфологические и статистический анализ экспериментальных данных.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Наиболее агрессивный клинический штамм *M. pachydermatis* Cd23 был отобран по способности образовывать биопленки, устойчивости к противогрибковым препаратам, способности адгезироваться к эпителиальным клеткам и фагоцитироваться макрофагами.

2. Малассезиозный отит воспроизводится на лабораторной модели кролика путем заражения ушной раковины агрессивным штаммом дрожжеподобных грибов без предварительной обработки антибиотиками и эстрадиолом.

3. На лабораторной модели малассезиозного отита продемонстрирован терапевтический эффект Фарнезола в сочетании с современными противогрибковыми препаратами, заключающийся в быстрой санации уха в течение месяца и восстановлении показателей крови кроликов до нормы.

4. Терапевтический эффект Фарнезола установлен за счет частичной гибели популяции дрожжеподобных грибов в результате их лизиса и снижения способности к образованию биопленок.

5. Доказано, что Фарнезол усиливает действие противогрибковых средств, что может служить альтернативой поиску новых лекарственных препаратов.

Степень достоверности и апробация результатов исследования. Достоверность результатов проведенных исследований, правомочность основных положений работы, выводы и предложения обоснованы достаточным количеством животных в экспериментальных группах, изучением отечественной и иностранной литературы по теме исследования, клинические, микробиологические, морфологические, биохимические данные получены с использованием современных методов на сертифицированном оборудовании с последующей статистической обработкой и анализом полученных результатов, актами о проведении исследований. Материалы диссертации были доложены и обсуждены на заседаниях департамента ветеринарной медицины АТИ РУДН (2021-2023 гг.), XV Международной НПК молодых ученых «Инновационные процессы в сельском хозяйстве» РУДН (апрель 2023 г.); XXV Всероссийской студенческой НПК Нижневартковского государственного университета, г. Нижневартовск (апрель 2023 г.); Международной научной студенческой конференции (МНСК-2023) г. Новосибирск (апрель 2023 г.); VII Всероссийском конгрессе по медицинской микробиологии, клинической микологии и иммунологии - XXVI Кашкинских чтениях. Санкт-Петербург (июнь 2023 г.).

Публикации. Основные положения диссертационной работы изложены в 7 научных работах, из которых 2 — в рецензируемых изданиях, рекомендованных перечнем ВАК, и 2 — в журналах, индексируемых в базах данных Web of Science и Scopus.

Структура и объем диссертации. Основное содержание работы изложено на 124 страницах, рукопись состоит из введения, обзора литературы, основного содержания работы, включая материалы и методы, результаты собственных исследований, анализа и обсуждения результатов исследований, а также заключения и списка литературы. Список литературы включает 152 источника. Работа иллюстрирована 34 таблицами и 24 рисунками.

2. ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

2.1. Материалы и методы. Исследования проведены на базе департамента ветеринарной медицины аграрно-технологического института ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» на протяжении 2021-2024 гг. Эксперименты *in vivo* и отбор биоматериала проводили в соответствии с Международными биоэтическими нормами, положениями IV Европейской Конвенции «О защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей» (ETS 123, 1986), законодательными актами РФ по проведению экспериментальных работ. Для наших работ (Рисунок 1). использовали дрожжеподобные грибы, полученные клиническим путем. Для этого было исследовано 76 случаев наружного отита у собак и 10 случаев отита у кошек в клиниках гор. Москвы, из них в 30 случаях у собак и в 5 случаях у кошек подтвержден отит с этиологией *Malassezia pachydermatis*. Установлено клинические формы отитов у собак и кошек: эритематозный отит, эритематозно-церуминозный, церуминозный отит и его пролиферативная форма.

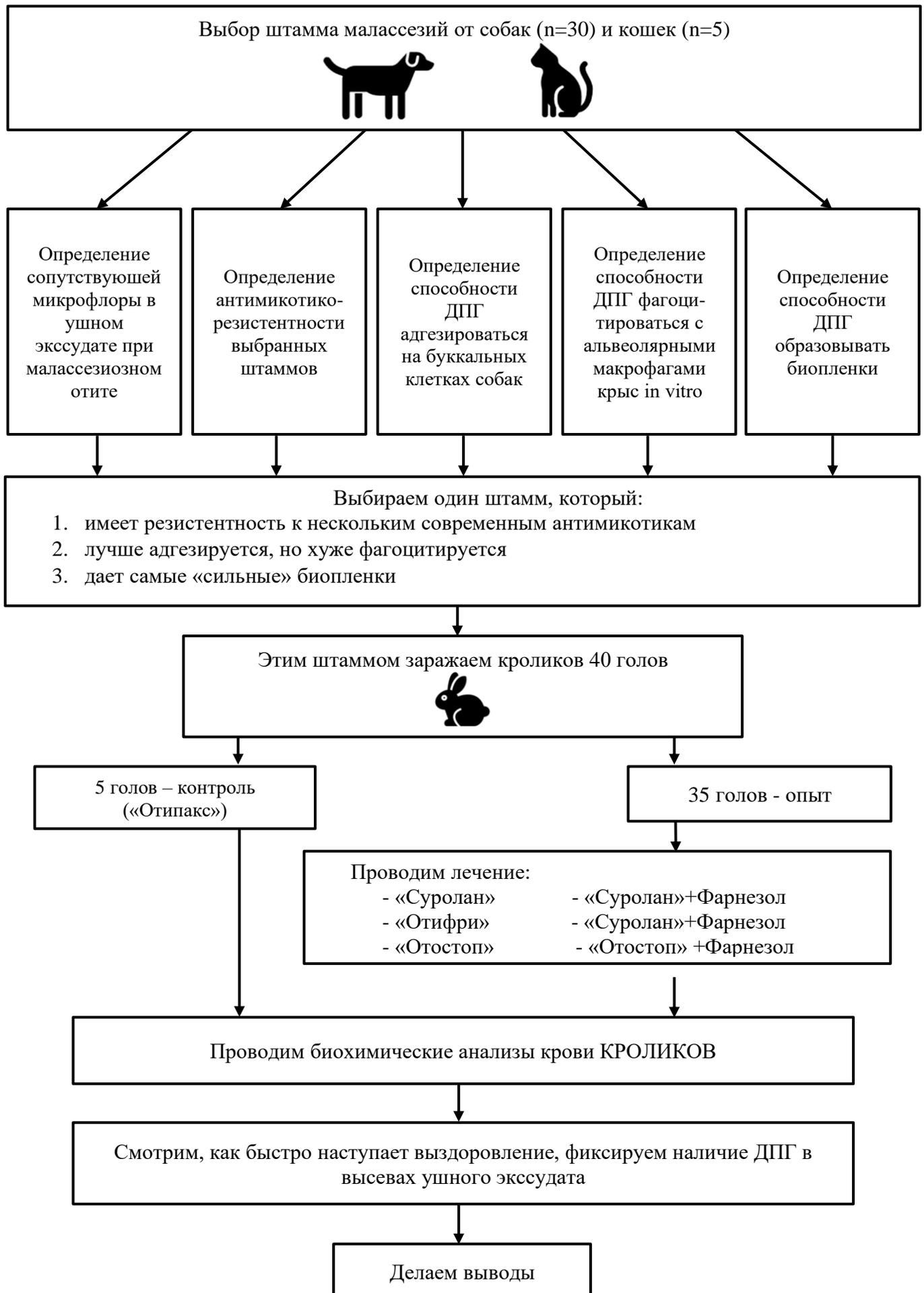


Рис. 1. План исследования.

Предварительную идентификацию штаммов хирургической инфекции, до уровня рода проводили по морфологическим, культуральным свойствам. Окончательную идентификацию проводили с помощью технологии матрично-активированной лазерной десорбции/ионизации «Bruker Daltonik MALDI Biotyper». В исследовании количественного и качественного микробного состава использовали следующие питательные среды: на грибы - жидкую и твердую среды Сабуро (BioMerieux, Франция) с добавлением глюкозы, пенициллина и стрептомицина 100 МЕ/л; агар Сабуро Хлорамфеникол 2 (BioMerieux, Франция); «Сердечно-мозговой бульон» (HiMedia, Индия); Агар Сабуро с декстрозой Sabouraud Dextrose Agar Eur. Pharm. (Conda, Испания); Агар Сабуро с декстрозой (HiMedia, Индия); на другие микроорганизмы - Эндо, МПА, МПБ, Ресселя, питательная среда Блаурокка, МРС, висмутсульфитный агар, желточно-солевой агар и др. (HiMedia, Индия и Оболенск, Россия) (Руденко П.А. с соавт. 2021). Денситометрические показатели микробных биопленок исследовали по запатентованному методу Ленченко Е.М. с соавт. 2024. Для определения чувствительности МР к антимикотическим препаратам использовали диско-диффузионный метод Кирби-Бауэра (Honnavar P. et al., 2016; Puigdemont A. et al., 2021). Все штаммы, выделенные от животных с наружным отитом, были классифицированы как восприимчивые (S) – 1 балл, промежуточные (I) – 2 балла; или устойчивые (R) – 3 балла в соответствии с контрольными точками производителя для ДПП. Эти баллы были введены в таблицу и рассчитаны как Степень устойчивости (Dr) к противогрибковым препаратам (результатирующий знак) для статистического анализа критерия хи-квадрат. Адгезивные свойства МР к эпителиоцитам и определение способности грибов к фагоцитозу определяли по методам, описанными Сачивкиной Н.П. в 2010 году. Для первого опыта использовали буккальные эпителиоциты (БЭ) здоровой собаки. Определяли следующие показатели: К - % БЭ с адгезированными МР; индекс адгезии (ИА) - количество ДПП на одном БЭ относительно числа активных эпителиоцитов (показатель, характеризующий адгезивность МР. Для второго опыта использовали альвеолярные макрофаги (АМ) крыс. Для проведения эксперимента использовали 20 белых крыс обоего пола, весом 120-160 г. Определяли такие показатели как фагоцитарное число (ФЧ), фагоцитарный индекс (ФИ) и индекс переваривающей способности (ИПС). Опыты повторяли трижды.

В эксперименте использовали 40 взрослых самцов кроликов породы Советская шиншилла, возрастом 1 год, массой 5,5 кг. Для заражения готовили взвесь МР $1,5 \times 10^8$ клеток/мл. Внутренняя поверхность уха скарифицировалась стерильным лезвием и на эти царапины наносили 1 мл взвеси микроорганизмов. У животных фиксировали следующие клинические признаки: обильное выделение ушной серы (серы) желто-коричневого цвета, часто с неприятным запахом, различной степени выраженности: от легкой до очень тяжелой; эритема; зуд; изменение цвета кожи; диарея; потеря массы тела; тремор. Анализ крови и сыворотки проводили на гематологическом анализаторе (прибор Chem Analyzer, Испания) с помощью диагностического набора (BioMed Diagnostics, Германия). Наступление полного выздоровления у кроликов и отслеживание рецидивов заражения *Malassezia* подтверждали бактериологическим методом. Ушной экссудат наносили на поверхность питательной среды Сабуро и культивировали при температуре 37°C в течение 48-72 часов. Результаты учитывали по наличию (подсчёт КОЕ) или отсутствию роста. Влияние различных концентраций Фарнезола на биопленки МР изучали *in vitro* в плашках по изменению плотности биопленок (Сачивкина Н.П. и др. 2020).

В клиническом исследовании задействованы 30 собак разных пород, пола и возраста от 1 до 10 лет. Животных разделили на 2 группы: опытную (n=15) и контрольную (n=15). Опытной группе были назначены капли ушные ветеринарные Суrolан производства фирмы Elanco Animal Health (Индиана, США). Форма – суспензия, действующее вещество - полимиксин В, преднизолон, миконазол, 2 раза в день, в течение 14 дней. Плюс раствор препарата Фарнезол (Far) (Sigma-Adrich, США), который заранее готовился в концентрации фарнезола 100 мкМ на мл, разведение проводили в стерильном физиологическом растворе (ФР) pH 7,0. После применения капель Суrolана наносили Фарнезол в виде спрея тоже

дважды в день. Контролем служила группа животных, которым был назначен только препарат Суrolан.

Статистически все результаты были выражены как среднее значение \pm стандартная ошибка среднего (SEM) не менее трех повторов. Просчитывали критерий «хи-квадрат» в таблицах сопряженности, где строки таблицы соответствуют оптической плотности, а столбцы резистентности микроорганизмов. Данные по этим двум критериям были предварительно сгруппированы в интервалы. Статистическая значимость была установлена на уровне $p \leq 0,05$ и, где применимо, разница между образцами была оценена с помощью статистического программного обеспечения XLSTAT 2020 (Addinsoft Inc., Нью-Йорк, США). Влияние различных концентраций Фарнезола было оценено на степень образования биопленки с помощью логарифмически-логистического распределения. Эта модель была выбрана, поскольку предположение о пропорциональных рисках модели Кокса не соответствовало всем ковариатам. Все графики были построены с использованием Microsoft Excel (Microsoft Excel для Office 365 MSO, Microsoft COP., Redmond, WA, USA).

2.2. Результаты собственных исследований и их обсуждение

2.2.1. Изучение видового состава хирургической инфекции и биологических свойств микроорганизмов, выделенных при отите у собак и кошек. Проведен поиск при различных формах хирургической инфекции у мелких домашних животных микробного пейзажа, изолированного из гнойного экссудата. Однако грибы рода *Malassezia* были выделены лишь от собак и кошек при гнойных отитах. Поэтому дальнейший выбор направления исследования пал на изучение патогенетических особенностей течения малассезиозного отита. Штаммы МР были выделены от 30 собак разных пород, пола и возраста от 1 года до 14 лет и 5 кошек в возрасте от 7 месяцев до 10 лет. Состав сопутствующей микрофлоры ушного экссудата при малассезиозе собак и кошек представлен в табл. 1.

Таблица 1. Видовой состав сопутствующей-микрофлоры ушного экссудата при малассезиозе собак и кошек

Вид микроорганизмов	Образцы от собак (n=30)		Образцы от кошек (n=5)	
	Абс. число	%	Абс. число	%
<i>S. saprophyticus</i>	3	3,7	3	4,7
<i>S. intermedius</i>	5	6,1	2	3,1
<i>S. epidermidis</i>	1	1,2	1	1,6
<i>S. aureus</i>	5	6,1	2	3,1
<i>S. hyicus</i>	3	3,7	3	4,7
<i>S. faecalis</i>	6	7,3	4	6,3
<i>S. uberis</i>	1	1,2	1	1,6
<i>E. coli</i>	11	13,4	8	12,5
<i>P. aeruginosa</i>	3	3,7	2	3,1
<i>P. vulgaris</i>	2	2,4	3	4,7
<i>K. oxytoca</i>	3	3,7	2	3,1
<i>B. subtilis</i>	2	2,4	2	3,1
<i>L. plantarum</i>	5	6,1	4	6,3
<i>L. rhamnosus</i>	5	6,1	5	5,3
<i>L. xylosum</i>	3	3,7	1	1,2
<i>L. acidophilus</i>	4	4,9	4	6,3
<i>B. adolescentis</i>	2	2,4	3	4,7
<i>B. animalis</i>	4	4,1	5	7,8
<i>B. bifidum</i>	7	8,5	6	9,4
<i>C. albicans</i>	4	4,9	2	3,1
<i>T. mentagrophytes</i>	2	2,4	1	1,2
<i>M. canis</i>	1	1,2	-	-
ВСЕГО	82	100	64	100

Сравнивая микроорганизмы, выделенные из наружного слухового прохода собак вследствие инфицирования МР, нами установлено, что М в монокультуре выявлялись у собак в 13,3 %, у кошек - в 20,0 %, ассоциация с 1 видом бактерий - в 10,1 % у собак и в 20,0 % у кошек; ассоциация с 2 видами бактерий - в 6,6 % и 20,0 % соответственно; ассоциация с 3 видами бактерий - в 6,6 % и 0 %; ассоциация с 4 и более видами бактерий - в 16,7 % и 0 %; ассоциация с 1 видом грибов - в 6,6 % и 20,0 %; ассоциация с 1 видом грибов и 1 видом бактерий - в 6,6 % и 0 %; ассоциация с 1 видом грибов и 2 видами бактерий - в 10,1 % и 20,0 %; ассоциация с 1 видом грибов и 3 видами бактерий - в 10,1 % и 0 %; ассоциация с 1 видом грибов и 4 и более видами бактерий – 13,3 % и 0 %, соответственно. Следует отметить, что ассоциации МП у собак чаще всего были со стафилококками и стрептококками, а у кошек МП чаще всего высевали с энтеробактериями и стафилококками.

2.2.3. Денситометрические показатели биопленок *Malassezia pachydermatis* и их восприимчивость к антимикотикам. Денситометрические показатели выборки приведены в таблице 2. Согласно нашей градации, 2 (6,7%) штамма относятся к слабым продуцентам биопленок, 25 (83,3%) штаммов относятся к умеренным продуцентам и 3 (10%) к сильным – изоляты Cd23, Cd27 и Cd3.

Таблица 2. Определение интенсивности образования биопленок штаммов *Malassezia pachydermatis* собак (Cd1 – Cd30), кошек (Cc1 – Cc5) и их чувствительность к антимикотикам

Изолят	Оптическая плотность	Степень ОП	Антимикотики								Степень устойчивости
			NS	AP	KT	CC	VOR	FU	MIC	IT	
MP Cd1	0.203 ± 0.016	2	1	1	3	1	1	2	1	1	11
MP Cd2	0.351 ± 0.018	2	1	2	1	2	2	3	1	1	13
MP Cd3	0.400 ± 0.012	3	1	1	1	2	2	3	2	1	13
MP Cd4	0.287 ± 0.018	2	1	3	1	2	1	1	1	3	13
MP Cd5	0.261 ± 0.011	2	2	1	1	2	2	1	1	1	11
MP Cd6	0.312 ± 0.029	2	1	1	1	1	1	3	1	1	10
MP Cd7	0.255 ± 0.010	2	1	1	1	1	1	1	1	1	8
MP Cd8	0.243 ± 0.026	2	1	1	1	2	1	1	1	1	9
MP Cd9	0.190 ± 0.016	1	1	3	1	1	1	3	1	2	13
MP Cd10	0.237 ± 0.015	2	2	1	1	1	1	1	2	2	11
MP Cd11	0.345 ± 0.011	2	1	1	3	1	2	2	1	1	12
MP Cd12	0.323 ± 0.017	2	1	2	1	1	2	1	1	1	10
MP Cd13	0.192 ± 0.012	1	1	1	1	2	1	2	1	1	10
MP Cd14	0.258 ± 0.011	2	1	1	1	2	1	1	1	1	9
MP Cd15	0.261 ± 0.010	2	1	1	2	2	1	1	1	2	11
MP Cd16	0.313 ± 0.007	2	1	1	1	1	1	2	1	1	9
MP Cd17	0.294 ± 0.019	2	1	1	3	1	1	3	1	1	12
MP Cd18	0.286 ± 0.020	2	1	1	1	2	1	1	1	1	9
MP Cd19	0.362 ± 0.014	2	2	1	2	2	1	1	1	1	11
MP Cd20	0.366 ± 0.015	2	1	2	1	1	3	1	1	1	11
MP Cd21	0.280 ± 0.016	2	1	2	1	1	1	1	3	1	11
MP Cd22	0.344 ± 0.018	2	1	1	1	1	1	2	1	1	9
MP Cd23	0.441 ± 0.016	3	2	3	3	2	2	3	1	2	18
MP Cd24	0.370 ± 0.015	2	1	1	2	2	1	1	1	1	10
MP Cd25	0.323 ± 0.017	2	2	1	1	1	1	2	3	2	13
MP Cd26	0.288 ± 0.012	2	1	2	1	1	1	1	1	1	9
MP Cd27	0.403 ± 0.026	3	1	2	2	1	3	1	1	1	12
MP Cd28	0.368 ± 0.014	2	1	1	1	1	1	1	1	1	8
MP Cd29	0.297 ± 0.011	2	1	1	1	1	3	2	1	1	11
MP Cd30	0.353 ± 0.019	2	1	1	2	1	1	3	3	1	13
MP Cc1	0.278 ± 0.011	2	1	1	1	2	1	1	1	1	9
MP Cc2	0.211 ± 0.012	2	1	1	2	2	1	1	1	2	11
MP Cc3	0.219 ± 0.008	2	1	1	1	1	1	2	1	1	9
MP Cc4	0.280 ± 0.013	2	1	1	3	1	1	3	1	1	12
MP Cc5	0.226 ± 0.010	2	1	1	1	2	1	1	1	1	9

Примечание: ОП контроля = 0.097 ± 0.005

Большинство штаммов МР были чувствительны (S) к противогрибковым препаратам. Однако было отмечено несколько исключений: три штамма были классифицированы как устойчивые (R) к AP, MIC и VOR; четыре R к KT; семь R к FU и только один R к IT. Нет результатов R для противогрибковых дисков NS и CC. Промежуточные результаты (I): 5 изолятов к NS, KT и IT; 6 к AP и VOR; 12 к CC; 7 к FU; 2 к MIC. Штамм МР Cd 23 был классифицирован как R к AP, KT и FU, I к NS, CC, IT и VOR, S только к MIC. Штамм МР Cd 27 был классифицирован как R к VOR, I к AP, KT и S к другим. Штамм МР Cd 3 был классифицирован как R к FU, I к CC, VOR и MIC. Статистически доказано, что существует достоверная связь между оптической плотностью биопленок МР и их чувствительностью к лекарственным препаратам. Анализируя денситометрические показатели, было установлено, что наиболее сильными продуцентами биопленок являются исследуемые Cd23, Cd27 и Cd3. Также они имеют промежуточный и резистентный балл к противогрибковым препаратам.

2.2.4. Определение способности *Malassezia pachydermatis* адгезироваться к клеткам буккального эпителия. Адгезия МР к эпителиальным клеткам является первым и обязательным этапом развития МО. При этом на реализацию адгезивного потенциала в системе «М - эпителиальные клетки» может влиять множество факторов, как со стороны ДПГ, так и со стороны организма хозяина. В связи с вышеизложенным модель искусственной колонизации МР на буккальных эпителиальных клетках является простым и удобным способом оценки адгезивного потенциала микроорганизма и позволяет оценить влияние различных факторов мукозального иммунитета на адгезивные реакции в системе «макроорганизм-микроорганизм». Проведенные исследования позволили установить масштаб различий штаммов МР в адгезивных взаимоотношениях с клетками буккального эпителия собак. Он оказался достаточно большим для культур от собак (средний ИП = $5,07 \pm 0,72$; K = $51,41 \pm 5,39$) и менее выраженным для штаммов, выделенных от кошек (средний ИП = $3,26 \pm 0,51$; K = $48,76 \pm 4,07$). Для дальнейших исследований был выбран штамм МР Cd23, который отличался высоким значением индекса адгезии $8,28 \pm 0,62$ и коэффициентом адгезии $70,62 \pm 4,91$.

2.2.5. Фагоцитоз *Malassezia pachydermatis* альвеолярными макрофагами крыс *in vitro*. Наиболее эффективный фагоцитоз осуществляют макрофаги, так как они обладают большим количеством эффективных антимикотических факторов, в отличие от нейтрофилов, которые первыми устремляются к месту заражения. Макрофаги способны к прямой адгезии МР. При этом наиболее активными и более дифференцированными являются альвеолярные макрофаги, что объясняет очень редкое повреждение легких при попадании М и их колонизации. Для оценки фагоцитоза была использована методика получения макрофагов из бронхоальвеолярной жидкости крыс, экспрессированной *in vitro*, как описано ранее. По данным исследований о биопленкообразовании, резистентности и адгезии наиболее агрессивными штаммами оказались МР Cd3, МР Cd23 и МР Cd27. Соответственно, было целесообразно провести сравнительный анализ показателей фагоцитоза на этих трех штаммах, так как технически сложно анализировать фагоцитарную активность на 35 изолятах из-за огромного объема работы. Полученные данные были проанализированы для этих трех штаммов и представлены в таблице 3.

Таблица 3. Показатели фагоцитоза МР на модели альвеолярных макрофагов крыс

Изолят	Время инкубации	Фагоцитарный индекс, %	Фагоцитарное число	Индекс переваривающей способности, %
МР Cd3	60 минут	$81,0 \pm 2,0$	$7,2 \pm 1,1$	18,1
	150 минут	$46,0 \pm 1,9$	$5,9 \pm 1,2$	
МР Cd23	60 минут	$88,7 \pm 2,8$	$8,6 \pm 1,0$	- 9,3
	150 минут	$83,1 \pm 2,7$	$9,4 \pm 1,1$	
МР Cd27	60 минут	$76,0 \pm 3,1$	$7,8 \pm 1,1$	26,9
	150 минут	$51,0 \pm 2,4$	$5,7 \pm 1,2$	

На основании анализа таблицы 3 важно отметить следующее, что через час инкубации показатели ФИ и ФЧ трех микроорганизмов достоверно не различались. Однако при последующей инкубации (150 минут) ФИ и ФЧ МР Cd23 были существенно выше, чем у двух других, и составили $83,1 \pm 2,7\%$ и $9,4 \pm 1,1$ соответственно. Причем при сравнении ФИ и ФЧ трех штаммов в разное время можно прийти к выводу, что к концу опыта макрофаги переварили основную часть микроорганизмов МР Cd3 и МР Cd27, тогда как у МР Cd23 фагоцитоз все еще находился на стадии захвата. Установлено, что показатели ИПС, которые более четко характеризуют устойчивость штамма к фагоцитозу, достоверно различимы у выделенных изолятов. Отрицательное значение этого показателя у МР Cd23 свидетельствует о том, что макрофаги не справились со своей задачей, а ДПГ смогли размножиться и долгое время сохранять жизнеспособность внутри макрофагов. Таким образом, МР Cd23 является значительно более устойчивым к фагоцитозу микроорганизмом.

2.2.6. Моделирование отита у кроликов штаммом *Malassezia pachydermatis* от собак. Модель МО включала однократное нанесение на скарифицированную кожу уха 1 мл МР Cd23 в концентрации 10^8 КОЕ/мл без какой-либо иммуносупрессии животных дополнительными препаратами. Клинические признаки, течения инфекции отображены в таблице 4.

Таблица 4. Выраженность различных клинических признаков модели малассезиозный отит кроликов в течении месяца наблюдений

Параметры	Контроль	Дни исследований					
		5	10	15	20	25	30
Потеря аппетита / массы	–	–	–	+	+	+	++
Эритема	–	+	++	++	+++	++++	++++
Зуд	–	–	+	++	+++	++++	++++
Сера	–	–	+	+	++	++++	++++
Неприятный запах	–	–	–	+	++	++++	++++

Примечание: – норма; + легкая форма; ++ умеренная; +++ тяжелая; ++++ очень тяжелая

У кроликов (n=5) каждые 5 дней брали мазки из ушей с последующей микроскопией и посевом на питательные среды. В мазках под микроскопом обнаруживали МР и подтверждали ростом на Сабуро агаре (таблица 5). Однако в последующем исследовании, при повторении экспериментального отита у кроликов, мы хотим более точно количественно оценить ВУ и то, как изменяется количество и состав других микроорганизмов в слуховом проходе.

Таблица 5 - Наличие *Malassezia pachydermatis* в ушном секрете подопытных кроликов

Параметры	Контроль	Дни исследований					
		5	10	15	20	25	30
Наличие ДПГ в мазках содержимого из ушей	–	+	+	+	++	++	+++
рост МР на питательных средах	–	+	++	++	+++	++++	++++

Примечание: – отсутствие; + единичные клетки/колони; ++ небольшое количество; +++ большое количество; ++++ сплошной рост

У животных каждые 5 дней брали кровь из краевой ушной вены по две пробы от каждого для определения гематологических и биохимических показателей по общепринятым методам, а также активности факторов неспецифического иммунитета. Показатели крови до заражения служили в качестве контроля (таблица 6).

Анализ гематологических показателей продемонстрировал прогрессирующий лейкоцитоз с каждым измерением, что говорит о нарастающем воспалительном процессе в организме зараженных животных. Так, на 5-ый день опыта количество лейкоцитов было на 29,9 % выше, чем в контрольной группе, а на 30-ый день – уже на 62,4 %.

Лейкограмма показала, что при клинической манифестации экспериментального МО в крови кроликов регистрируется увеличение палочкоядерных в 3,15 раза и сегментоядерных в 1,38 раза нейтрофилов уже на 5 день исследования. Следует отметить, что к 30 дню течения патологии палочкоядерные и сегментоядерные нейтрофилы были увеличены в 6,45 и 1,76 раза, соответственно, при сравнении с выходными данными. Кроме этого, регистрировали прогрессирующую лимфопению: на 5 день воспалительного процесса количество лимфоцитов в крови кроликов было снижено на 28,7 %, с $62,80 \pm 3,64$ % до $44,80 \pm 6,35$ %, а к 30 дню эксперимента – на 72,4 %, с $62,80 \pm 3,64$ % до $17,30 \pm 3,43$ %.

Таблица 6 - Гематологические показатели крови кроликов (n=10) в эксперименте

Параметры	ФП	Контроль	Дни исследований					
			5	10	15	20	25	30
Нб, г/л	100,00 – 160,00	140,80±6,42	129,10±6,38*	113,50±8,46*	90,80±6,06*	86,40±5,52*	84,90±3,87*	85,90±5,66*
СОЭ, мм/ч	1 – 3	3,00±1,33	7,30±1,49*	14,50±2,32*	16,30±3,33*	20,30±3,80*	22,10±2,80*	20,90±2,07*
Эритроциты, 10^{12} /л	4,50 – 7,50	5,62±0,65	5,25±0,61	4,70±0,44*	4,18±0,40*	3,74±0,37*	3,50±0,20*	3,44±0,21*
Лейкоциты, 10^9 /л	6,50 – 9,50	6,96±0,30	9,93±0,85*	12,23±0,72*	13,90±1,00*	15,96±1,44*	16,54±1,70*	18,51±1,13*
Пал. ядер.ней, %	5 – 9	4,70±1,41	14,80±1,81*	15,00±1,69*	20,70±2,00*	25,90±2,68*	26,00±1,49*	30,30±2,41*
Сег. ядер.ней, %	33 – 39	25,00±2,00	34,60±2,11*	37,00±1,76*	41,10±2,02*	40,90±1,96*	43,00±3,23*	44,00±2,53*
Эозинофилы, %	0 – 2	0,50±0,70	0,40±0,51	0,60±0,69	0,70±0,48	0,90±0,56	0,80±0,63	0,80±0,63
Моноциты, %	2 – 10	4,80±1,22	4,90±1,19	5,00±1,15	5,10±1,19	5,30±1,41	5,20±0,78	4,70±0,94
Базофилы, %	0 – 4	2,20±0,91	2,30±0,82	2,40±0,84	2,80±0,78	3,20±1,03*	3,30±0,94*	2,90±1,10
Лимфоциты, %	43 – 62	62,80±3,64	44,80±6,35*	40,00±2,44*	29,60±3,50*	23,80±3,19*	21,50±3,53*	17,30±3,43*
Тромбоциты, 10^9 /л	125,0 – 250,0	223,30±16,39	204,80±17,68*	208,00±14,99*	203,10±10,94*	197,20±14,31*	180,60±11,89*	182,50±12,21*
Гематокрит, %	35 – 45	35,10±0,94	35,23±0,68	35,08±0,86	35,10±0,78	34,93±0,68	35,33±0,78	35,19±0,50
МСН, Пг	17,5 – 23,5	25,32±2,72	24,95±3,67	24,42±3,55	21,83±1,66*	23,28±2,53	24,34±1,99	25,07±2,53
МСНС, г/л	300,0 – 400,0	401,27±18,65	366,50±18,60*	323,53±23,32*	258,79±18,55*	247,31±14,88*	240,36±11,96*	244,09±15,64*
MCV, мкм ³	57,0 – 70,0	63,12±	67,81±8,38	75,25±7,92*	84,76±9,30*	94,25±10,34*	101,50±6,34*	102,91±6,25*

Примечание: здесь и далее данные представлены как среднее значение \pm SD. * - статистически значимая разница между опытом и контролем ($P < 0,05$); ФП – физиологический показатель.

Установлено, что при экспериментальном течении МО в крови кроликов регистрируется тромбоцитопения в пределах физиологической нормы. Так, на 5 день исследования количество тромбоцитов снизилось в 1,09 раза, на 15 день – в 1,10, а к 30 дню – в 1,22 раза, при сравнении с данными до начала опыта. Так же в динамике воспалительного

процесса при МО у кроликов в крови наблюдали снижение средней концентрации гемоглобина в эритроците и увеличение среднего объема эритроцитов. На 5 день исследования показатель МСНС снизился на 8,66 %, а показатель МСV увеличился на 6,91 %, а к 30 дню исследования показатель МСНС уже был снижен на 39,17 %, а анализ МСV вырос на 38,66 %, при сравнении с данными контроля.

Изучение биохимических показателей сыворотки крови кроликов выявило достоверное увеличение концентрации липопротеинов высокой плотности, холестерина и триглицеридов после экспериментального заражения МР. Значение ЛПВП на 30-ый день опыта стал на 24,39% выше, чем в контрольной группе, уровень триглицеридов - на 8,41% выше, холестерина – на 8,06% выше, что может говорить о функциональной нагрузке на печень, и что сопоставляется с результатами исследования её ферментов. В то же время наблюдается снижение уровня сахара в крови и фибриногена плазмы на 12,75% и на 7,44% уже на 5-ый день после заражения по сравнению с контролем ($P < 0,05$) (таблица 7).

Таблица 7. Биохимические параметры крови кроликов в эксперименте

Параметры	ФП	Контроль	Дни исследования					
			5	10	15	20	25	30
Глюкоза, мг/дл	110,0 – 286,0	120,77 ± 4,81	105,38 ± 4,02*	103,00 ± 5,93*	108,32 ± 4,74*	106,88 ± 4,81*	105,61 ± 4,60*	104,02 ± 5,09*
Холестерин, мг/дл	35,0 – 120,0	118,36 ± 2,75	127,25 ± 3,81*	128,82 ± 4,01*	126,15 ± 4,78*	128,25 ± 3,27*	127,91 ± 5,03*	127,90 ± 4,62*
Триглицериды, мг/дл	122,5 – 157,5	138,62 ± 4,23	149,07 ± 3,90*	150,84 ± 3,52*	148,11 ± 3,46*	147,90 ± 4,32*	151,87 ± 4,73*	150,28 ± 4,92*
Мочевая кислота, мг/дл	1,5 – 2,0	1,73 ± 0,39	1,96 ± 0,35	2,01 ± 0,40	1,98 ± 0,37	2,00 ± 0,42	1,87 ± 0,55	1,93 ± 0,50
Мочевина, мг/дл	14,0 – 40,0	30,90 ± 4,13	33,61 ± 5,17	32,74 ± 5,91	33,00 ± 4,47	34,58 ± 4,90	33,04 ± 5,88	34,23 ± 4,65
Креатинин, мг/дл	0,5 – 1,6	0,75 ± 0,14	0,80 ± 0,13	0,82 ± 0,15	0,81 ± 0,12	0,86 ± 0,14	1,00 ± 0,23	0,95 ± 0,20
Кальций, мг/дл	9,6 – 16,8	9,45 ± 1,80	10,63 ± 1,44	10,26 ± 1,82	11,03 ± 2,05	10,43 ± 1,91	10,52 ± 1,04	10,37 ± 1,68
Альбумин, г/дл	2,7 – 4,6	5,44 ± 0,83	4,36 ± 1,25	5,03 ± 1,74	4,93 ± 1,62	5,06 ± 1,24	4,99 ± 2,23	4,81 ± 1,76
Общий белок, г/дл	5,4 – 7,5	7,60 ± 1,33	8,42 ± 1,28	6,90 ± 2,04	8,36 ± 1,31	8,53 ± 1,83	7,52 ± 1,75	8,04 ± 1,80
Липопротеины высокой плотности (ЛПВП), ммоль/дл	32,0 - 56,0	40,26 ± 3,05	49,10 ± 2,97*	45,83 ± 2,25	46,03 ± 2,40	49,13 ± 2,20*	47,99 ± 1,94*	50,08 ± 1,96*
Липопротеины низкой плотности (ЛПНП), ммоль/дл	13,2 – 25,2	14,10 ± 1,12	15,17 ± 1,48	16,32 ± 2,01	15,66 ± 1,29	16,03 ± 1,41	16,82 ± 1,27	17,02 ± 2,04
Фибриноген плазмы, мг/л	500,0 – 1500,0	610,1 ± 33,7	564,7 ± 25,7	460,2 ± 23,7*	464,8 ± 28,1*	430,7 ± 19,7*	434,1 ± 25,6*	404,8 ± 21,5*
Сывороточные глобулины, г/дл	2,0 – 4,0	2,36 ± 0,43	2,80 ± 0,82	2,74 ± 0,51	2,68 ± 0,63	2,63 ± 0,39	2,70 ± 0,48	2,51 ± 0,36

Такие показатели, как липопротеины низкой плотности, мочевина, мочевая кислота, креатин, кальций, сывороточный глобулин, альбумин и общий белок, статистически значимых изменений не претерпели. Исследования функции печени показали, что практически все параметры выросли у кроликов после экспериментального заражения МР ($P < 0,05$) (таблица 8).

При этом следует отметить значительный скачок показателей уже на 5-ый день эксперимента, что может говорить о повышенной нагрузке на печень и ответу на воспалительный процесс у зараженных кроликов. Так, например, значение АЛТ увеличилось на 8,37%, АСТ – на 34,67, ЩФ – 15,78%, а ЛДГ – на 21,28%. В течение следующих опытных дней наблюдается тенденция к увеличению концентрации печеночных ферментов, не столь прогрессирующей, как в первые 5 дней. На 30-ый день значение АЛТ было на 16,06% выше контроля, АСТ – на 32,63%, ЩФ – на 20,41%.

Таблица 8. Функциональные ферменты печени кроликов в эксперименте (n=10)

Параметры	ФП	Контроль	Дни исследований					
			5	10	15	20	25	30
Аланинаминотрансфераза (АЛТ) у годовалых кроликов, МЕ/л	47,4 – 120,0	113,56 ± 5,80	123,07 ± 6,18	121,38 ± 5,82	129,37 ± 4,99*	130,05 ± 6,16*	127,83 ± 5,84*	131,86 ± 6,01*
Щелочная фосфатаза, МЕ/л	57,0 - 254,0	199,05 ± 12,86	230,46 ± 15,05*	228,71 ± 9,42*	231,88 ± 10,92*	226,76 ± 11,51*	235,04 ± 10,83*	239,67 ± 9,59*
Билирубин, мг/дл	0,4 - 1,2	0,50 ± 0,04	0,59 ± 0,03*	0,60 ± 0,05*	0,58 ± 0,03*	0,58 ± 0,03*	0,61 ± 0,04*	0,59 ± 0,03*
Аспаратаминотрансфераза (АСТ), МЕ/л	30,0 - 98,0	95,00 ± 10,60	127,94 ± 8,30*	131,17 ± 14,65*	129,36 ± 12,58*	128,53 ± 9,58*	130,04 ± 11,74*	126,00 ± 10,31*
Лактатдегидрогеназа, МЕ/л	135,0 - 425,0	420,20 ± 36,51	509,63 ± 48,50	495,10 ± 38,50	510,93 ± 41,32*	519,40 ± 38,65*	512,94 ± 39,66*	515,70 ± 42,23*

2.2.7. Добавление в схему лечения кроликов с малассезиозным отом Фарнезола и исследование его влияния на различные показатели. Клиническое исследование крови является одним из важнейших методов диагностики, отображающим реакцию кроветворных органов на воздействие различных физиологических и патологических факторов, а также позволяет контролировать эффективность терапии. 35 кроликов были разделены на 7 групп по 5 животных. Каждая группа получала один из следующих препаратов:

1) Суrolан, действующими веществами которого являются: миконазол, полимиксин В, преднизолон;

2) Лосьон для чистки ушей Отифри с календулой, в состав которого входят такие компоненты, как: вода, пропиленгликоль, эмульгатор (Кремофор), календула;

3) Отоксолан содержит в качестве действующих веществ: марбофлоксацин, клотримазол, дексаметазон; и в качестве вспомогательных компонентов пропиленгаллат, среднепочечные триглицериды, сорбитанолеат, безводный коллоидный оксид кремния;

4) Суrolан + Фарнезол 200 мкМ/мл в равной пропорции;

5) Отифри + Фарнезол 200 мкМ/мл в равной пропорции;

6) Отоксолан + Фарнезол 200 мкМ/мл в равной пропорции;

7) Терапия Отипакс – контроль.

Все препараты наносили на всю пораженную поверхность уха. Обработку проводили один раз в день, продолжительность лечения составила 30 дней. Каждые пять дней в течение месяца у животных контрольной и 6 опытных групп брали мазки содержимого ушей и регистрировали клинические признаки заболевания.

Установлено, что применение лекарственных препаратов в комплексе с Фарнезолом у животных опытной группы уменьшало признаки гиперемии, отека, зуда, количество экссудата уже на 5-7-е сутки лечения, а полное клиническое выздоровление животных наступало, в среднем, на 20-е сутки эксперимента. При применении у животных коммерческих лекарственных препаратов (Суrolан; Отифри; Отоксолан) в монорегиме, в

среднем, улучшение клинического состояния наступало на 25-е сутки, а окончательное выздоровление наступало лишь после полного курса лечения - 30 суток. Однако при применении препарата Отифри сохранялась клиническая манифестация МО на протяжении всего эксперимента. У животных контрольной группы также сохранялись клинические признаки заболевания на протяжении всего эксперимента. Их состояние в динамике исследования ухудшалось, что доказывает эффективность разработанной нами модели МО у кроликов. Анализируя полученные результаты, можно сказать, что все схемы лечения с добавлением Фарнезола оказались эффективными, за счет широкого спектра его действия в отношении микроорганизмов, наиболее часто вызывающих отит, а также противовоспалительного эффекта.

Стоит отметить, что в опытных группах не было ни одного случая наличия МР в мазках и на питательных средах после комбинированной терапии препаратами Суrolан/Отифри/Отоксолан в комбинации с Фарнезолом, уже на 20 день терапии. При этом в контрольной группе у всех животных наблюдали ДПГ при микроскопии мазков ушного экссудата и присутствовал рост на специальных питательных средах в высоких концентрациях в течение всего эксперимента. Важно отметить, что при добавлении к какому-либо препарату препарат Фарнезол микробиологическое очищение от МР наступало, в среднем, на 5-10 дней раньше. При этом лучший результат в этой серии экспериментов был при сочетании Отоксолан + Фарнезол, так как полная санация ушей от МР было зафиксирована у животных этой группы уже на 10 день терапии.

Клинические показатели крови кроликов с МО до лечения характеризовались низкими значениями количества эритроцитов - $5,20 \pm 0,34 \cdot 10^6/\text{мкл}$ и гемоглобина - $9,18 \pm 1,07$ г/дл. Наглядно показано, что на 5-10-й дни эксперимента статистически значимых различий между опытными группами и контрольной группой не наблюдали. На 15-й день нашего эксперимента статистически значимые различия между опытной и контрольной группой видны в уровне тромбоцитов у кроликов, получавших ежедневную терапию препаратами Отоксолан + Фарнезол. На 20-й различия видны в количестве тромбоцитов и средней концентрации корпускулярного гемоглобина у кроликов, получавших ежедневную терапию комбинациями препаратов Отоксолан + Фар; Суrolан + Фар; Отифри + Фар. На 25-й день различия регистрировали в количестве тромбоцитов; средней концентрации корпускулярного гемоглобина и общем количестве лейкоцитов у кроликов, получавших ежедневную терапию Отоксолан + Фар; Суrolан + Фар; Отифри + Фар и Отоксолан в монорежиме. На 30-й день нашего эксперимента статистически значимые различия зафиксированы в уровне тромбоцитов, который был на 16,62-14,57% ниже в опытных группах, получавших лечение, при сравнении с группой контроля. Также значительная разница была заметна при измерении общего количества лейкоцитов. Причем, наибольшее их снижение (на 36,36-39,25%) наблюдали в группах, получавших Фарнезол. Количество эритроцитов во всех опытных группах варьировало в значениях, близких к контролю, однако при этом значительные изменения наблюдали в значениях гематокрита, который увеличился на 27,42% в группе, получавшей терапию Суrolан, на 21,89% - Отифри, на 24,25% - Отоксолан, на 27,64% - Суrolан + Фар, на 25,96% - Отифри + Фар, на 21,21% - Отоксолан + Фарнезол, при сравнении с контрольной группой.

Анализ биохимических показателей сыворотки крови кроликов в эксперименте с использованием различных схем лечения продемонстрировал, что в первые 10 дней эксперимента статистических различий в биохимических анализах нет. Это означает, что биохимическое равновесие, даже при адекватном лечении, в макроорганизме возникает не сразу. На 15-й, 20 и 25-й день эксперимента с использованием разных препаратов мы видим статистически значимые различия между показателями фибриногена плазмы и ЛПНП, при сравнении с контролем. К 30-м суткам эксперимента некоторые биохимические показатели вернулись к нормальным значениям до экспериментального заражения, особенно в группах животных с добавлением Фарнезола. Так, липопротеины высокой плотности на 30-ый день лечения в группах Суrolан + Фар, Отифри + Фар и Отоксолан + Фар был всего лишь на 13,11%, 16,34% и 13,34% ниже, соответственно, чем в группе контроля. Фибриноген плазмы

в этих же опытных группах был на 12,39 %, 14,22 % и на 15,98 % выше, чем у контрольных животных. Помимо этого на 25-30-й день эксперимента анализ образцов печени показал, что такие показатели, как аланинаминотрансфераза, щелочная фосфатаза, аспаргатаминотрансфераза и лактатдегидрогеназа у кроликов, получавших местное лечение, отличались от показателей в контрольной группе без лечения ($P < 0,05$). Билирубин на протяжении всего экспериментального заражения МР был примерно одинаковым во все сроки и статистически не различался в разных группах. Нормализация четырех из пяти показателей вновь наблюдалась более быстро в группах, где добавляли Фарнезол в схему лечения.

2.2.8. Ингибирование биопленки *Malassezia pachydermatis* Фарнезолом. Среднее снижение измерялось и использовалось для расчета процента ингибирования биопленки Фарнезолом, где ОП AS — средняя оптическая плотность трех изолятов (МР С23,27 и 3) в эксперименте, OD AC — средняя оптическая плотность трех изолятов (МР С23,27 и 3) в контроле без Фарнезола (табл. 9).

Таблица 9. Влияние различных концентраций Фарнезола на биопленки МР и снижение средней оптической плотности, % денситометрические исследования

Концент- я фар Изолят	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
	Контр оль без фарне- зола	200 μМ	100 μМ	50 μМ	25 μМ	12.5 μМ	6.3 μМ	3.1 μМ	1.6 μМ	0.8 μМ	0.4 μМ	0.2 μМ
МР Cd23	0,441 ± 0,016	0,120 ±0,00 8	0,135 ±0,01 1	0,234 ±0,01 1	0,226 ±0,01 9	0,233 ±0,01 0	0,249 ±0,01 4	0,302 ±0,01 5	0,368 ±0,01 7	0,407 ±0,01 6	0,439 ±0,01 1	0,453 ±0,01 2
МР Cd27	0,403 ± 0,026	0,117 ±0,01 6	0,121 ±0,00 9	0,144 ±0,01 3	0,186 ±0,01 8	0,272 ±0,01 6	0,284 ±0,01 1	0,307 ±0,00 8	0,320 ±0,01 4	0,379 ±0,01 2	0,393 ±0,01 0	0,399 ±0,01 0
МР Cd3	0,400 ± 0,012	0,123 ±0,01 8	0,142 ±0,01 4	0,160 ±0,02 1	0,154 ±0,01 7	0,185 ±0,00 9	0,234 ±0,01 4	0,252 ±0,01 2	0,262 ±0,00 9	0,279 ±0,01 0	0,383 ±0,01 4	0,398 ±0,00 8
Ср. ОП 3 изо- лятов	0,415	0,120	0,133	0,179	0,189	0,230	0,256	0,287	0,317	0,390	0,405	0,417
Ср. сниж ение ОП, %	0	71	68	57	54	55	38	31	24	6	2,4	-0,5

Фарнезол продемонстрировал хорошие антибиопленочные эффекты при концентрации более 1,6 мкМ/мл (снижение ОП биопленки на 24%), а его самые высокие результаты (71-55%) наблюдались при концентрации 200-12,5 мкМ/мл.

2.2.9. Изменение чувствительности штамма МР к антимикотикам и влияние пяти концентраций Фарнезола на эти результаты. Тест на антибиотикорезистентность проводили со штаммом МР Cd23 стандартным диско-диффузионным методом на Сабуро агаре. Напомним, что данный штамм был устойчив к AP, KT и FU. Умеренно устойчив к NS, CC, IT и VOR. И чувствителен только к MIC. Эксперименты с дисками проводили в трехкратной повторности. Данные в таблице по чувствительности к антимикробным препаратам приведены без +/- для лучшего понимания таблицы. +/- не превышали 0,4. Результаты исследований обрабатывали общепринятыми статистическими методами и считали достоверными при $p \leq 0,05$. Результаты эксперимента по изменению чувствительности МР к антимикробным препаратам при добавлении к последним Фарнезола представлены в таблице 10.

Из таблицы следует, что клинический штамм МР 23 оказался полностью устойчив к Амфотерицину В (АП). А с Фарнезолом даже в небольших концентрациях этот препарат начинал работать. Следует обратить внимание и на наличие результатов с некоторыми

препаратами, где Фарнезол мало влиял на чувствительность: например, с Клотримазолом. Последний все же «сдался» при добавлении Фарнезола в самой высокой концентрации 200 мкМ/мл. Есть и уникальные показатели: чувствительность МР к Нистатину, Вориконазолу и Кетоконазолу увеличивалась в два раза при добавлении Фарнезола в концентрации 25-200 мкМ/мл.

Таким образом, в большинстве случаев при добавлении Фарнезола в эксперименте регистрируется увеличение чувствительности микроорганизма к лечебным противогрибковым препаратам по сравнению с контролем.

Таблица 10 - Чувствительность штамма МР к антимикотикам и влияние концентраций Фарнезола на эти результаты

Название антимикотика	время	Только антимикотик	Антимикотик + ФР (контроль)	Антимикотик + 12.5 Фарнезол	Антимикотик + 25 Фарнезол	Антимикотик + 50 Фарнезол	Антимикотик + 100 Фарнезол	Антимикотик + 200 Фарнезол
NS	24ч	10	10	17 (+ 70.0 %)	20 (+ 100.0 %)	21 (+ 110.0 %)	21 (+ 110.0 %)	21 (+ 110.0 %)
	48ч	10	10	16 (+ 60.0 %)	16 (+ 60.0 %)	18 (+ 80.0 %)	18 (+ 80.0 %)	18 (+ 80.0 %)
AP	24ч	0	0	8	10	11	11	11
	48ч	0	0	6	10	11	11	11
КТ	24ч	11	11	18 (+ 63.7 %)	19 (+ 72.7 %)	19 (+ 72.7 %)	20 (+ 81.8 %)	22 (+ 100.0 %)
	48ч	11	11	18 (+ 63.7 %)	18 (+ 63.7 %)	19 (+ 72.7 %)	20 (+ 81.8 %)	22 (+ 100.0 %)
СС	24ч	14	14	14	14	14	14	15 (+ 7.1 %)
	48ч	13	13	13	13	13	13	15 (+ 15.4 %)
VOR	24ч	11	11	18 (+ 63.7 %)	19 (+ 72.7 %)	19 (+ 72.7 %)	20 (+ 81.8 %)	22 (+ 100.0 %)
	48ч	11	11	18 (+ 63.7 %)	18 (+ 63.7 %)	19 (+ 72.7 %)	20 (+ 81.8 %)	22 (+ 100.0 %)
FU	24ч	8	8	8	10 (+ 25.0 %)	11 (+ 37.5 %)	11 (+ 37.5 %)	11 (+ 37.5 %)
	48ч	6	6	6	10 (+ 66.7 %)	11 (+ 83.3 %)	11 (+ 83.3 %)	11 (+ 83.3 %)
MIC	24ч	17	17	18 (+ 5.9 %)	19 (+ 11.8 %)	19 (+ 11.8 %)	20 (+ 17.6 %)	20 (+ 17.6 %)
	48ч	16	17	18 (+ 5.9 %)	18 (+ 5.9 %)	19 (+ 11.8 %)	20 (+ 17.6 %)	20 (+ 17.6 %)
IT	24ч	13	13	13	14 (+ 7.7 %)	14 (+ 7.7 %)	14 (+ 7.7 %)	15 (+ 15.4 %)
	48ч	13	13	13	13	14 (+ 7.7 %)	14 (+ 7.7 %)	15 (+ 15.4 %)

	- Фарнезол увеличивает зону подавления роста
	- Фарнезол не влияет на зону задержки роста

2.2.10. Эффективность применения Фарнезола для лечения отитов собак осложненных *Malassezia pachydermatis*. В исследовании было задействовано 30 собак с отитом, осложненным *Malassezia pachydermatis*. Животных разделили на 2 группы: опытную (n=15) и контрольную (n=15). Клинические показатели крови собак с *Malassezia*-отитом до лечения характеризовались невысокими значениями количества эритроцитов - $5,94 \pm 0,72 \cdot 10^{12}/л$, что нельзя назвать анемией, но является пограничным значением. Также у больных животных наблюдали снижение гемоглобина до $127,38 \pm 9,34$ г/л (табл. 11). Число лейкоцитов в крови у больных животных в пределах нормы $13,14 \pm 3,85 \cdot 10^9/л$, но после терапии количество лейкоцитов стало чуть ниже. После лечения количество гемоглобина в крови у собак увеличилось до значений $168,54 \pm 8,34$ г/л в опыте и $137,60 \pm 9,34$ г/л в контроле. Между этими

показателями есть достоверная разница в 1,2 раза, что указывает на положительное влияние Фарнезола при лечении *Malassezia*-отите. Небольшая эозинофилия (но в пределах нормы), которую можно наблюдать до лечения малацезиозного отита, характерна при многих инфекционных и инвазионных заболеваниях, а также при интоксикациях. Так же у собак до лечения наблюдалась увеличение палочкоядерных нейтрофилов $9,63 \pm 2,03$, что выше физиологической нормы и также свидетельствует о воспалительном процессе при небольших значениях сегментоядерных $56,28 \pm 5,26$. После двухнедельного лечения мы можем наблюдать улучшение клинических показателей крови собак и даже видим статистически достоверную разницу между опытом и контролем в отношении палочкоядерных нейтрофилов ($1,59 \pm 0,32$ в опыте и $2,25 \pm 0,34$ в контроле), эозинофилов ($5,86 \pm 1,72$ и $8,32 \pm 1,62$) и уровня гемоглобина ($168,54 \pm 8,14$ и $137,60 \pm 9,34$). Данный процесс мы характеризуем как выраженную воспалительную реакцию, проявляющуюся яркими клиническими признаками, а также клеточной динамикой, которая является важным критерием индикации заболевания.

Таблица 11. Клинические показатели крови собак в эксперименте

Показатели	ФП	До лечения (n=30)	После лечения	
			Опыт (n=15)	Контроль (n=15)
Эритроциты, $10^{12}/л$	5,5 - 8,5	$5,94 \pm 0,72$	$7,91 \pm 0,87$	$7,12 \pm 1,04$
Гематокрит, %	37 - 55	$38,12 \pm 3,98$	$51,54 \pm 3,86$	$46,02 \pm 4,37$
Гемоглобин, г/л	120 - 180	$127,38 \pm 9,34$	$168,54 \pm 8,14^*$	$137,60 \pm 9,34^*$
Лейкоциты, $10^9/л$	6 - 17	$13,14 \pm 3,85$	$8,54 \pm 1,98$	$11,14 \pm 2,61$
Пал. ядер. ней, %	0 - 3	$9,63 \pm 2,03$	$1,59 \pm 0,32^*$	$2,25 \pm 0,34^*$
Сег. ядер. ней, %	60 - 70	$56,28 \pm 5,26$	$61,20 \pm 5,45$	$58,82 \pm 5,25$
Эозинофилы, %	2-12	$10,41 \pm 3,16$	$5,86 \pm 1,72^*$	$8,32 \pm 1,62^*$
Моноциты, %	3 - 10	$4,27 \pm 0,84$	$2,69 \pm 0,35$	$3,13 \pm 0,64$
Базофилы, %	0 - 1	$0,06 \pm 0,02$	0	0
Лимфоциты, %	12 - 30	$22,41 \pm 3,34$	$28,66 \pm 2,24$	$27,48 \pm 2,57$

Таким образом, при добавлении Фарнезола в схему лечения отитов грибковой этиологии у собак регистрируются небольшие изменения клинического состава крови, характеризующиеся увеличением количества эритроцитов и гемоглобина, снижением числа лейкоцитов, при чём снижаются показатели эозинофилов и палочкоядерных нейтрофилов в опыте по сравнению с контролем.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Итоги выполненного исследования

1. Установлено, что заболевание малосезиозный отит не зависит от возраста и породы животных. При анализе полученных данных о видовом разнообразии чаще всего *M. pachydermatis* как монокультура выявлялась у собак в 15%, у кошек – в 19% случаев, в ассоциации с 1 видом бактерий – в 9% у собак и в 14% у кошек; в ассоциации с 2 видами бактерий – в 6 и 14% соответственно; в ассоциации с 3 видами бактерий – в 6 и 13%; в ассоциации с 4 и более видами бактерий – в 16 и 6%; в ассоциации с 1 видом грибов – в 6 и 4%; в ассоциации с 1 видом грибов и 1 видом бактерий – в 8 и 15%; в ассоциации с 1 видом грибов и 2 видами бактерий – в 14 и 7%; в ассоциации с 1 видом грибов и 3 видами бактерий – в 11 и 5%; в ассоциации с 1 видом грибов и 4 и более видами бактерий – в 9 и 3%.

ассоциации МР у собак чаще всего были со стафилококками и стрептококками, а у кошек - с энтеробактериями и стафилококками.

2. Анализируя денситометрические показатели всех выделенных образцов ($n=35$), было установлено, что изоляты МР Cd23, Cd27 и Cd3 от собак являются наиболее сильными продуцентами биопленок. Профиль резистентности этих трех микроорганизмов выглядел следующим образом: штамм МР Cd23 был резистентен к 87,5% антимикотикам; Cd27 к 37,5%; Cd3 к 50%. Также статистически доказана связь между способностью образовывать биопленки и чувствительностью к лекарственным препаратам.

3. Штаммы МР способны адгезироваться на буккальных эпителиальных клетках собак. Адгезия была продуктивней для культур от собак и менее выраженной для штаммов, выделенных от кошек. У изолята МР Cd23 зафиксирован самый высокий индекс адгезии $8,28 \pm 0,62$ и коэффициент адгезии - $70,62 \pm 4,91$.

4. При проведении исследования на фагоцитоз отмечено, что фагоцитарное число и индекс МР Cd23 были существенно выше, чем у других штаммов, и составили $83,1 \pm 2,7\%$ и $9,4 \pm 1,1$ соответственно.

5. Малассезиозный отит эффективно воспроизводится *in vivo* на кроликах с яркими клинические признаки заболевания. Биохимические исследования сыворотки крови экспериментальных животных показали увеличение ферментов печени уже на 5-ый день исследования: Значение АЛТ увеличилось на 8,37%, АСТ – на 34,67%. При оценке результатов гематологического исследования можно отметить наличие воспалительного процесса в организме зараженных кроликов. Так, на 5-ый день опыта количество лейкоцитов было на 4,67% выше, чем в контрольной группе, а на 30-ый день – уже на 32,27%.

6. Применение лекарственных препаратов (Суrolан; Отифри; Отоксолан) + Фарнезол у животных опытной группы уменьшало признаки гиперемии, отека, зуда, количество экссудата на 5-7-е сутки лечения, а полное клиническое выздоровление животных наступало на 20-е сутки. При применении только лекарственных препаратов у животных в среднем улучшение клинического состояния наступало на 25-е сутки, а окончательное выздоровление наступало после полного курса лечения - 30 суток, а затем при применении Отифри один раз в сутки сохранялась краснота ушей. У животных контрольной группы на протяжении всего эксперимента сохранялись четкие клинические признаки заболевания. Их состояние ухудшалось и самостоятельно не восстанавливалось, что доказывает отличную эффективность разработанной нами модели МО у кроликов. Анализ показал, что микробиологические показатели, обеих схем лечения (с добавлением Фарнезола и без него) оказались эффективными, но схема, применяемая в опытной группе Фар + Суrolан/Отифри/Отоксолан, дала более быстрые результаты. При проведении терапевтических мероприятий в первые 10 дней эксперимента статистических различий в биохимических анализах крови кроликов нет, а к 30-м суткам эксперимента некоторые биохимические показатели вернулись к нормальным значениям до экспериментального заражения, особенно в группах животных с добавлением Фарнезола. Так, липопротеины высокой плотности на 30-ый день лечения в группах Суrolан + Фар, Отифри + Фар и Отоксолан + Фар были на 13,11%, 16,34% и 13,34% ниже, соответственно, чем в группе контроля. Аналогичные изменения наблюдаются и в результатах гематологического анализа.

7. Фарнезол продемонстрировал *in vitro* хорошие антибиопленочные эффекты при концентрации более 1,6 мкМ/мл (снижение ОП биопленки на 24%), а его самые высокие антибиопленочные эффекты (71-55% - более чем в два раза) наблюдались при концентрации 200-12,5 мкМ/мл.

8. Результаты эксперимента по изменению чувствительности МР к антимикробным препаратам показали, что Фарнезол повышает такую восприимчивость. Например, Амфотерицин В начал работать с Фарнезолом даже в малых концентрациях. Культура вновь стала чувствительной к Клотримазолу с Фар 200 мкМ/мл. Есть и уникальные показатели: чувствительность МР к Нистатину, Вориконазолу и Кетоконазолу увеличилась вдвое при добавлении Фарнезола в концентрации 25-200 мкМ/мл.

ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ И ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ:

1. Провести диагностику выделенных микроорганизмов из ушных раковин больных малассезиозом животных на предмет чувствительности к антибактериальным препаратам, поскольку в данном исследовании проверялась чувствительность только к противогрибковым средствам у основного возбудителя. Исследование сопутствующей флоры поможет подобрать оптимальную терапевтическую дозу Фарнезола.

2. Терапия малассезиозного отита должна включать местно Фарнезол в концентрации ≥ 200 мкМ/мл один раз в сутки в течении 10 дней. Необходимо разработать удобную аэрозольную форму лекарственного препарата, сочетающую в себе Фарнезол+антибиотик+антимикотик.

3. Провести клинические испытания терапии МО Фарнезолом на собаках и кошках. Так же это исследование создаёт предпосылки для изучения Фарнезола в качестве основного лекарственного средства при других микозах различных животных.

4. Результаты могут быть использованы при проведении научных исследований, в учебном процессе при подготовке студентов по специальности «Ветеринария», повышении квалификации по диагностике и терапии животных с кожными патологиями, отитами, а также при составлении учебных и справочных пособий по ветеринарной медицине.

СПИСОК НАУЧНЫХ РАБОТ, В КОТОРЫХ ОПУБЛИКОВАНЫ ОСНОВНЫЕ ПОЛОЖЕНИЯ ДИССЕРТАЦИИ

Научные работы, опубликованные в рецензируемых научных журналах, входящих в Перечень изданий, рекомендованных РУДН

1. **И.Р. Олабод**, Н.П. Сачивкина, Е.В. Киселёва, А.И. Щуров. Эффективность применения Фарнезола для лечения отитов собак осложненных *Malassezia pachydermatis* / Вестник РУДН. Серия: Агрономия и животноводство. – 2023. - 18(2). - с. 250—263. doi: 10.22363/2312-797X-2023-18-2-250-263

2. **И.Р. Олабод**, Н.П. Сачивкина, Е.В. Киселёва, В.И. Кузнецов, В.И. Семенова. Корреляция между способностью образовывать биоплёнки и чувствительностью к антигрибковым препаратам у *Malassezia pachydermatis*/ Ветеринария, зоотехния и биотехнология 2023. № 6. С. 85–95; <https://doi.org/10.36871/vet.zoo.bio.202306011>

Научные работы, опубликованные в научных журналах, индексируемых в БД Web of Science и(или) Scopus

3. Rudenko, P.; Vatnikov, Y.; Sachivkina, N.; Rudenko, A.; Kulikov, E.; Lutsay, V.; Notina, E.; Bykova, I.; Petrov, A.; Drukovskiy, S.; **Olabode, I.R.** Search for Promising Strains of Probiotic Microbiota Isolated from Different Biotopes of Healthy Cats for Use in the Control of Surgical Infections // Pathogens. – 2021. – 10. – p. 667. <https://doi.org/10.3390/pathogens10060667>

4. **Ifarajimi Ropheal Olabode**, Nadezhda Sachivkina, Arfenia Karamyan, Ramziya Mannapova, Olga Kuznetsova, Anna Bobunova, Natallia Zhabo, Marina Avdonina and Regina Gurina. In vitro activity of Farnesol against *Malassezia pachydermatis* isolates from otitis externa cases in dogs / Animals. – 2023. – 13. – p. 1259. <https://doi.org/10.3390/ani13071259>

Научные работы, опубликованные в региональных изданиях, материалах симпозиумов и конференций

5. **Олабод И.Р.** Чувствительность к антимикотическим препаратам клинических штаммов *Malassezia pachydermatis*, полученных от собак с наружным отитом / Сборник тезисов VII Всероссийский конгресс по медицинской микробиологии, клинической микологии и иммунологии (XXVI КАШКИНСКИЕ ЧТЕНИЯ) Проблемы медицинской микологии 2023. – 25(2). – с.153.

6. **Олабоде И.Р.** Study of resistance of clinical strains of *Malassezia pachydermatis* / Инновационные процессы в сельском хозяйстве: сборник статей XV Международной научно-практической конференции. Москва, 20–21 апреля 2023 г. / под ред. Э. А. Довлетяровой. – Москва: РУДН, 2023. – 400 с. – с. 169-173.

7. Виссарионова В.В., **Олабоде И.Р.**, Ватников Ю.А., с соавт. Морфологические показатели крови собак при лечении малассезиозного отита с использованием фарнезола / XXV Всероссийская студенческая научно-практическая конференция Нижневартковского государственного университета (г. Нижневартовск, 4-5 апреля 2023 г.) / Под общей ред. Д.А. Погоньшева. Ч. 1. Биология. Экология. География. Безопасность жизнедеятельности. Нижневартовск: изд-во НВГУ, 2023. 221 с. – с.42-48.

Ифараджими Рафеал Олабоде. Нигерия

**МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА И СПОСОБЫ ЛЕЧЕНИЯ
ОТИТОВ У МЕЛКИХ ДОМАШНИХ ЖИВОТНЫХ**

Аннотация. В диссертационной работе выявлены наиболее сильные продуценты биопленок *Malassezia pachydermatis* и наиболее устойчивые штаммы к антимикотикам. Доказана корреляция между устойчивостью штаммов к современным антимикотикам и способностью к образованию биопленок. Было установлено, каким образом возбудитель малассезиозного отита способен прикрепляться к щечному эпителию собак, как он фагоцитируется и становится доступным для действия лизосомальных ферментов макрофагов. Предложена оригинальная модель острого малассезиозного отита у собак и кошек. Терапевтический и противорецидивный эффект Фарнезола был доказан в экспериментах *in vivo*. Установлено фунгицидное и фунгистатическое действие Фарнезола. Доказано, что Фарнезол усиливает действие антимикотиков. Эти эксперименты подтвердили применение Фарнезола и прогресс его исследований в области противогрибковой терапии наружного отита.

Ifarajimi Rapheal Olabode. Nigeria

**MORPHOFUNCTIONAL CHARACTERISTICS
AND METHODS OF TREATMENT OF OTITIS IN SMALL
DOMESTIC ANIMALS**

Abstract. The dissertation identifies the most powerful *Malassezia pachydermatis* biofilm producers and the most resistant strains to antifungal agents. A correlation between the resistance of strains to modern antifungal agents and the ability to form biofilms has been proven. It has been established how the causative agent of *Malassezia* otitis is able to attach to the buccal epithelium of dogs, how it is phagocytosed and becomes accessible to the action of lysosomal enzymes of macrophages. An original model of acute *Malassezia* otitis in dogs and cats has been proposed. The therapeutic and anti-relapse effect of Farnesol has been proven in *in vivo* experiments. Fungicidal and fungistatic action of Farnesol has been established. It has been proven that Farnesol enhances the effect of antifungal agents. These experiments have confirmed the use of Farnesol and the progress of its research in the field of antifungal therapy of external otitis.