

УДК: 579.62: 636.09: 543.52: 582.28: 615.282.84

DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.1.202

ДРОЖЖЕВЫЕ ГРИБЫ В ЭТИОЛОГИИ МИКОЗОВ ЖИВОТНЫХ

Маноян М.Г.* – канд. ветеринар. наук, зав. отделом микологии (ORCID 0000-0001-6347-413X); **Гуршева А.С.** – науч. сотр. отдела микологии; **Габузян Н.А.** – мл. науч. сотр. отдела микологии; **Панин А.Н.** – советник директора (ORCID 0000-0002-6001-6739).

ФГБУ «ВГНКИ»

*mycology@vgnki.ru

Ключевые слова: грибы, дрожжи, дрожжевые, *Candida*, *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Geotrichum candidum*, *Malassezia pachydermatis*, *Trichosporon*, сельскохозяйственные, домашние, животные, чувствительность, резистентность, флуконазол, вориконазол

Key words: fungi, yeast, yeast, *Candida*, *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Geotrichum candidum*, *Malassezia pachydermatis*, *Trichosporon*, agricultural, domestic, animals, sensitivity, resistance, fluconazole, voriconazole

Финансирование: Материалы подготовлены в рамках регионального конкурса Российского научного фонда 2021 года «Проведение фундаментальных научных исследований и поисковых научных исследований отдельными научными группами» (соглашение № 22-26-00206 от 29.12.2021), <https://rscf.ru/project/22-26-00206/>

Поступила: 15.02.2024

Принята к публикации: 25.03.2024

Опубликована онлайн: 02.04.2024



РЕФЕРАТ

Исследовано 760 образцов биологического материала из различных регионов РФ, выделено 320 изолятов дрожжевых грибов, что составило 42,10% от общего числа образцов. Из 760 образцов 29,0% принадлежали крупному рогатому скоту, 11,8% — мелкому рогатому скоту, 13,0% — лошадям, 1,6% — верблюдам, 7,2% — кошкам и 17,5% — собакам, 1,8% — сырое молоко и 0,8% — объектов внешней среды (ОВС). Большая часть выделенных изолятов (240) дрожжевых грибов принадлежала грибам рода *Candida*, что составило 75%. Видовое разнообразие грибов рода *Candida* представлено 15 видами. Наибольшее количество изолятов относятся к видам *Candida albicans*, *Candida catenulata*, *Candida kefyr*, *Candida krusei*, *Candida membranifaciens*, *Candida pararugosa* и *Candida tropicalis*. Данные виды грибов рода *Candida* известны в качестве возбудителей грибковых инфекций человека и животных. Видовое разнообразие видов, не относящихся к роду *Candida*, ограничено 7 видами в составе 5 родов — *Geotrichum*, *Malassezia*, *Rhodotorula*, *Saccharomyces* и *Trichosporon*. Установлен факт развития устойчивости некоторых видов дрожжей к наиболее часто используемым противогрибковым препаратам (флуконазолу и вориконазолу). Выявлено, что 30% исследованных изолятов рода *Candida* являются устойчивыми к флуконазолу, 32% — дозозависимыми, 38% — чувствительными, к вориконазолу устойчивы

28%, 30% – дозозависимыми, 42% – чувствительными. Изоляты, не относящиеся к роду *Candida* проявили устойчивость к флуконазолу 19%, 38% – дозозависимы, 43% – чувствительны, к вориконазолу – 23% – устойчивые, 18% – дозозависимые и 59 % – чувствительны. Доля устойчивых к флуконазолу и вориконазолу изолятов дрожжевых грибов, выделенных от животных, достаточно велика, она составляет в некоторых случаях до 50% (*C. tropicalis*). Высокий уровень устойчивости выявлен у изолятов *Candida albicans*, *Candida catenulata*, *Candida rugosa* и *Candida pararugosa*, что может существенно осложнить терапию вызываемых ими инфекций и внести свой вклад во всемирную проблему антибиотикорезистентности.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

В настоящее время описано примерно 150 тыс. видов грибов, потенциально их количество может достигать 1,5 миллионов. Большая часть грибов — это сапрофиты, обитающие в почве и микоризообразующие виды. Дрожжевые грибы обитают преимущественно в местах, богатых питательными веществами: в отличие от мицелиальных грибов, дрожжи не нуждаются в большой поверхностной площади, с этим связана характерная форма их существования – преимущественно одиночные почкующиеся клетки [1,2].

Потенциально патогенных – несколько сотен видов [3], причём специализированных паразитов человека и животных – всего несколько десятков [4,5,6].

С обитанием в жидких и полужидких средах связана и другая особенность дрожжевых грибов, которая заключается в богатом наборе ферментов, необходимых для усвоения сахаров. Тем не менее, некоторые виды не утратили способность образовывать структуры, функционально схожие с мицелием (т. н. псевдомицелий), отдельные виды способны образовывать истинный мицелий (*Candida albicans*).

Дрожжевые грибы в большом количестве обитают на слизистых оболочках и кожных покровах различных животных в качестве комменсалов и при некоторых условиях они способны приводить к развитию патологического процесса. Сам по себе этот факт известен уже в течение долгого времени, как и некоторые механизмы развития инфекции: прежде всего это нарастание количества таких микроорганизмов и ослабление защитных функций макроорганизма [7,8].

Дрожжеподобные грибы рода *Candida*

давно известны, как причины дерматитов у собак (*C. parapsilosis*, *C. albicans*) и могут передаваться человеку [9]. Так же причиной обширных дерматитов могут быть дрожжеподобные грибы рода *Malassezia* [10].

Широкое распространение получили так же маститы КРС, обусловленные различными дрожжеподобными грибами. Например, доля дрожжевых и дрожжеподобных грибов в этиологии маститов КРС в Китае (Heilongjiang Province) составила 35,6%. Доля дрожжеподобных грибов рода *Candida* (*C. krusei* 37%, *C. tropicalis* 10,4%) составляет 79,4% и на втором месте дрожжевые грибы рода *Trichosporon* (5,9%). При этом заболеваемость маститами, обусловленными грибами, составляла до 53% [11].

При исследовании, проводимых в период с 1996 по 2000 год в районе Люблина (Польша), грибы рода *Candida* были выделены из молока коров с клинически выраженным маститом в 6,9% случаев [12]. Нарастание численности дрожжевых грибов в тех эпитопах, где они обитают в качестве комменсалов, может быть связано с различными причинами, и эти причины во многом зависят от особенностей этих грибов. К примеру, обитающие на кожных покровах дрожжевые грибы рода *Malassezia* при нормальных условиях не приводят к развитию инфекции. Однако при определённых условиях, повышение секреции кожного сала, содержащего питательные вещества, необходимые для роста этих грибов их численность способна резко увеличиваться, что уже приводит к развитию патологического процесса [13].

Процессы, приводящие к нарастанию

численности грибов рода *Candida*, несколько отличаются. Их развитие связывают с уменьшением численности других микроорганизмов, что может являться эффектом воздействия антибиотиков [14].

Спектр инфекций, вызываемых дрожжевыми грибами, чрезвычайно широк: кандидозы кожных покровов [15] и слизистых оболочек [16], инвазивные кандидозы кишечника [17], кандидемия (кандидозная септицемия). Немаловажно и то, что дрожжевые грибы рода *Candida* не являются видоспецифичными возбудителями, один и тот же возбудитель способен поражать многие виды домашних, сельскохозяйственных и диких животных, а также человека [18].

В Бразилии дрожжеподобные грибы обнаруживали в молоке коров с клинически подтверждённым маститом в 43,3% случаев, причём в молоке здоровых животных такие грибы были обнаружены в 23,4% случаев [19].

В результате исследования, проведённого в 2010 – 2014 гг. в 11 племенных сельскохозяйственных организациях Свердловской области, так же была установлена связь дрожжеподобных грибов рода *Candida*, обнаруживаемых в молоке, и маститов [20].

Носителем возбудителей кандидоза, таких, как *Candida albicans*, *Candida parapsilosis*, *Candida tropicalis*, может быть домашняя птица [21].

Дрожжевые грибы обладают многочисленными факторами, обуславливающих их патогенность и степень вирулентности. Среди этих факторов, выделяют следующие: рост при высокой температуре (до 37°C и выше) [22], способность к адгезии, формирование мицелиальных структур, обуславливающих тигмотропизм, протеолитические и липолитические ферменты, включая фосфолипазы, способность к образованию биоплёнок, низкая антигенность и механизмы, снижающие интенсивность иммунного ответа [23].

Способность к росту при высокой температуре считается одним из признаков патогенных и условно-патогенных гри-

бов. Под высокой температурой подразумевается температура тела человека и других теплокровных животных. Способность к росту при температуре +37°C является признаком, важным для дифференциации некоторых видов дрожжевых грибов [24,25]. Кроме того, есть данные, указывающие на усиление адгезии при повышенной температуре, что играет немаловажную роль в патогенезе кандидозов [26].

Дрожжевые грибы могут обладать и устойчивостью к противогрибковым препаратам. Причём речь не только в возбудителях внутрибольничных инфекций, но и о грибах, выделяемых из объектов внешней среды. В последнее время устойчивые к противогрибковым препаратам изоляты обнаруживают в молоке коров, как клинически здоровых, так и имеющих признаки маститов [24,27], в помёте диких птиц [28], на птицефабриках [29].

Ввиду отсутствия актуальных достоверных данных о видовом разнообразии дрожжевых грибов у сельскохозяйственных и домашних животных, целью исследования явилось изучение видового разнообразия дрожжевых грибов, выделенных из клинического материала, отобранных от сельскохозяйственных, домашних животных, из объектов внешней среды и определение их чувствительности к противогрибковым препаратам.

Для реализации поставленной цели был организован сбор клинического материала и изолятов возбудителей грибковых инфекций животных на территории Российской Федерации.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS Объектом исследования служили образцы клинического материала, отобранного от домашних и сельскохозяйственных животных. В качестве материала служили струппа с кожного покрова, мазки с ушей, со слизистых оболочек, с кожи вымени с клиническими признаками заболевания или с подозрением на микоз. В некоторых случаях брали смывы с объектов внешней среды (ОБС) (стены, полы, оборудование для содержания животных, оборудование для доения и т. д.) и образцы сырого мо-

лока перед началом процесса первичного доения. Пробы отбирались в течение 2022-2023 годов в ветеринарных лабораториях в различных регионах Российской Федерации.

Образцы поступали в лабораторию в стерильных полиэтиленовых zip-lock пакетах и в индивидуально упакованных ватных тампон-зондах.

Выделение изолятов осуществляли классическими методом посева на плотных питательных средах Сабуро с содержанием хлорамфеникола 40 мкг/мл и циклогексимида 0,05% (M664, Sabouraud dextrose agar, «HiMedia Laboratories Pvt., Ltd.», Индия), сусло-агаре (M129, «HiMedia Laboratories Pvt., Ltd.», Индия), среде Чапека-Докса (M075, «HiMedia Laboratories Pvt., Ltd.», Индия), картофельно-глюкозном агаре (M96, «HiMedia Laboratories Pvt., Ltd.», Индия.).

Идентификацию дрожжевых грибов осуществляли по совокупности физиологических, биохимических (ферментация и ассимиляция источников углерода и азота) и, в меньшей мере, морфологических (строение и форма дрожжевых клеток, тип деления) признаков [30].

Для идентификации дрожжевых грибов использовали API-тест-системы CandidaTest21 (LaChema, Чехия). Принцип идентификации заключается в изучении биохимических особенностей дрожжевых грибов: способности к ферментации и ассимиляции источников углерода. Тест-система представляет собой 24-луночный микропланшет, каждая лунка которого содержит определённый реактив (источник углерода) и кислотно-основной индикатор (в случае определения ферментации), лунки для определения ассимиляции индикатора не содержат.

Для идентификации дрожжевых грибов их пересекали на свежую питательную среду Сабуро, культивировали при температуре +28°C в течение 24 часов. Затем отбирали единичную колонию и суспензировали её в дистиллированной воде, доводя суспензию до мутности 0,5 McF (единиц МакФарланда), мутность контролировали на денситометре Densi-la

-meter II (LaChema, Чехия). Полученную суспензию переносили в лунки тест-системы в объёме 200 мкл на лунку.

Микропланшеты культивировали при температуре +28°C в течение 24 часов, затем оценивали результаты в соответствии с инструкцией изготовителя тест-системы. Полученные результаты обрабатывали в предоставляемой изготовителем программе, получая результаты идентификации (родовую и видовую принадлежность культуры, а также относительную вероятность корректной идентификации).

В некоторых случаях идентификацию дрожжевых культур использовали метод времяпролётной масс-спектрометрии с матрично-активированной лазерной десорбцией/ионизацией (MALDI-TOF MS, Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization – Time Of Fly Mass Spectrometry), аппаратно-программный комплекс MALDI Biotyper, Bruker.

Дополнительно изучали отношение выделенных культур к температуре, для этого все культуры выращивали при температуре +37°C. Способность изолятов расти при температуре +37°C, является одним из факторов патогенности, что дает возможность развития инфекции.

Определение чувствительности дрожжевых грибов, использовали изоляты, которые имели интенсивный рост при температуре культивирования +37°C., определяли в соответствии с процедурой EUCAST e.def. 7.3.1 к флуконазолу и вориконазолу. Использовали концентрации 1, 2 и 4 мг/л для флуконазола и 0,0625, 0,125 и 0,5 для вориконазола.

Чистые культуры дрожжевых грибов культивировали при 37°C в течение 24 часов, готовили суспензию клеток плотностью 0,5 McF в дистиллированной воде и использовали для проведения исследования.

Исследование проводили в 96-луночных планшетах с плоским дном, рабочий объём лунки составлял 200 мкл, таким образом в лунке смешивали 100 мкл питательной среды с соответствующей двукратной концентрацией АМ и 100 мкл суспензии дрожжевых клеток. Планшеты культивировали при 37°C в течение

24 часов, затем измеряли оптическую плотность (ОП) на длине волны 495 нм, сравнивая ОП с контролем. За минимальную ингибирующую концентрацию (МИК) принимали такую концентрацию препарата, которая ограничивала рост исследуемой культуры не менее, чем на 90%.

Для контроля воспроизведения методики использовали эталонные штаммы с известной чувствительностью к флуконазолу и вориконазолу (*Candida albicans* ATCC64548, ATCC64550).

Интерпретацию результатов определения чувствительности осуществляли, используя критерии EUCAST (AFST criteria) для *Candida albicans*.

Критерии оценки чувствительности дрожжевых грибов.

Препарат	R (устойчивый)	DD (дозозависимый)	S (чувствительный)
1	2	3	4
Вориконазол	$\geq 0,5$	0,5-0,125	$\leq 0,0625$
Флуконазол	≥ 4	4-2	≤ 1

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Представленные результаты представляют лишь малую часть исследований, проведенных за короткий период времени (2022-2023 гг).

Всего исследовано 760 образцов из различных регионов РФ и выделено 320 изолятов дрожжевых грибов, что составило 42,10% от общего числа образцов.

Из этих 760 образцов 29,0% принадлежали крупному рогатому скоту, 11,8% — мелкому рогатому скоту, 13,0% — лошадям, 1,6% — верблюдам, 7,2% — кошкам и 17,5% — собакам, 1,8% — сырое молоко и 0,8% — ОВС.

Большая часть выделенных изолятов (240) дрожжевых грибов принадлежало грибам рода *Candida*, что составило 75% от общего числа выделенных изолятов.

Видовое разнообразие изолятов дрожжей рода *Candida*, выделенных от разных видов животных представлено в таблицу 1 и наглядно на диаграмме 1.

Видовое разнообразие выделенных изолятов рода *Candida* представлено 15 видами. Наибольшее количество выделенных изолятов относятся к видам *Candida albicans*, *Candida catenulata*, *Candida kefyr*, *Candida krusei*, *Candida membranifaciens*, *Candida pararugosa* и *Candida tropicalis*. Следуют обратить внимание, что данные виды грибов рода *Candida* известны в качестве возбудителей грибковых инфекций человека и животных.

Видовое разнообразие видов, не относящихся к роду *Candida*, несколько меньше, оно ограничено 7 видами в составе 5 родов. Видовой состав представлен на диаграмме 2 и в таблице 2.

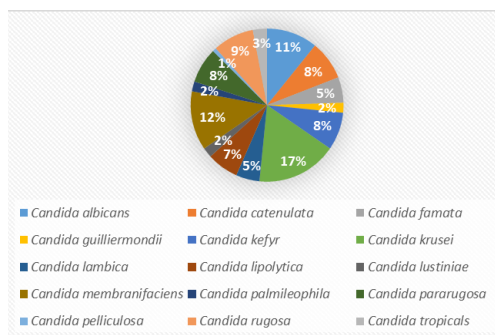


Диаграмма 1 – Видовое разнообразие выделенных изолятов рода *Candida*.

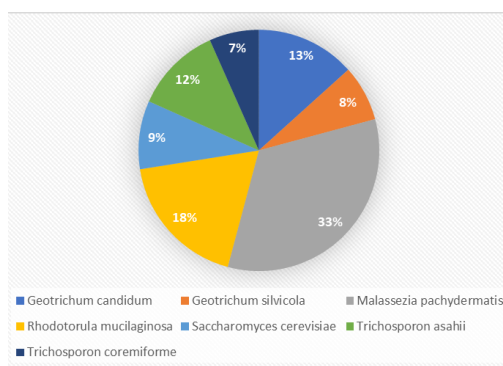


Диаграмма 2 – Видовое разнообразие выделенных изолятов, не относящихся к роду *Candida*.

Таблица 1 – Выделенные изоляты рода *Candida*

№ п/п	Вид изолята	N	%	Вид животного *
1	2	3	4	5
1	<i>Candida albicans</i>	26	10,8	Крупный рогатый скот, лошади, собаки, кошки, птица, ОВС, молоко
2	<i>Candida catenulata</i>	20	8,3	Лошади, верблюды, собаки, птица, молоко
3	<i>Candida famata</i>	13	5,4	Лошади, собаки, птица
4	<i>Candida guilliermondii</i>	5	2,1	Птица, лошади
5	<i>Candida kefir</i>	19	8,0	Лошади, собаки, кошки
6	<i>Candida krusei</i>	41	17,0	Крупный рогатый скот, мелкий рогатый скот, лошади, собаки, кошки, птица, ОВС, молоко
7	<i>Candida lambica</i>	12	5,0	Крупный рогатый скот, лошади, собаки,
8	<i>Candida lipolytica</i>	16	6,7	Крупный рогатый скот, лошади, собаки.
9	<i>Candida lusitanae</i>	5	2,1	Лошади, собаки, кошки
10	<i>Candida membranifaciens</i>	30	12,5	Крупный рогатый скот, мелкий рогатый скот, лошади, собаки, верблюды, ОВС, молоко
11	<i>Candida palmiophila</i>	5	2,1	Лошади, собаки
12	<i>Candida parvulus</i>	18	7,5	Крупный рогатый скот, мелкий рогатый скот, лошади, собаки, кошки, молоко
13	<i>Candida pelliculosa</i>	2	0,8	Лошадь кошка
14	<i>Candida rugosa</i>	21	8,7	Крупный рогатый скот, мелкий рогатый скот, лошади, собаки, верблюды, молоко
15	<i>Candida tropicalis</i>	7	3,0	Собаки, кошки.

*Примечание: животные распределены по частоте встречаемости изолята.

Таблица 2 – Выделенные изоляты, не относящиеся к роду *Candida*

№ п/п	Вид	N	%	Вид животного *
1	2	3	4	5
1	<i>Geotrichum candidum</i>	16	8%	Крупный рогатый скот, верблюды, собаки
2	<i>Geotrichum silvicola</i>	5	7%	Собаки, лошади
3	<i>Malassezia pachydermatis</i>	23	32%	Собаки, кошки, лошади
4	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	17	24%	Собаки, кошки, ОВС, молоко
5	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	5	7%	Птицы, крс
6	<i>Trichosporon asahii</i>	10	14%	Крупный рогатый скот, собаки, лошади, кошки
7	<i>Trichosporon coremiforme</i>	5	7%	Крупный и мелкий рогатый скот, лошади, собаки, ОВС, молоко

*Примечание: животные распределены по частоте встречаемости изолята.

Как видно из таблицы грибы, не относящиеся к роду *Candida* в своей распространенности, не уступают грибам рода *Candida*. Наиболее большое количество изолятов пришло на долю видов *Malassezia pachydermatis*, *Rhodotorula mucilaginosa* *Geotrichum candidum* и представителей рода *Trichosporon*.

Чувствительность к противогрибковым препаратам.

В результате проведенных исследований установлено, что 30% исследованных изолятов рода *Candida* являются устойчивыми к флуконазолу, 32% - дозозависимыми, 38% - чувствительными. Соотношение наглядно отражено на диаграмме 3.

Изолят относили к той или иной группе в соответствии с минимальной концентрацией флуконазола, требуемой для подавления роста изолята (минимальная подавляющая концентрация, МПК). Так как для большинства видов такие критерии не определены, за основу были взяты МПК для *Candida albicans*. При МПК менее или равной 1,0 мг/л изолят считали чувствительным, при МПК в диапазоне от 2,0 до 4,0 мг/л изолят считали дозозависимым, при МПК более или равной 4,0 мг/л изолят считали устойчивым.

Исключение составляет *Candida krusei*, так как представители этого вида в норме устойчивы к флуконазолу, чувствительность к этому препарату для изолятов *Candida krusei* не определяли.

Чувствительность дрожжевых грибов рода *Candida* к вориконазолу отражены на диаграмме 4.

В результате проведенных исследований установлено, что 28% исследованных изолятов рода *Candida* являются устойчивыми к вориконазолу, 30% – дозозависимыми, 42% – чувствительными. Соотношение наглядно отражено на диаграмме 4. Изолят относили к той или иной группе в соответствии с минимальной концентрацией вориконазола, требуемой для подавления роста изолята (минимальная подавляющая концентрация, МПК). Так как для большинства видов такие критерии не определены, за основу были взяты

МПК для *Candida albicans*. При МПК менее или равной 0,0625 мг/л изолят считали чувствительным, при МПК в диапазоне от 0,125 до 0,5 мг/л изолят считали дозозависимым, при МПК более или равной 0,5 мг/л изолят считали устойчивым.

Изоляты, не относящиеся к роду *Candida*.

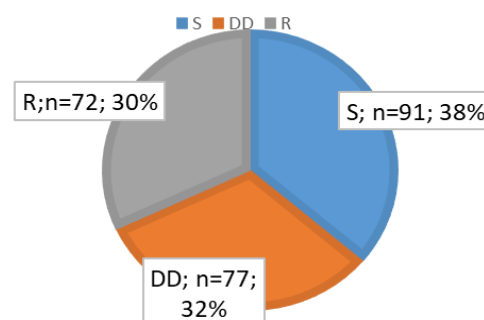


Диаграмма 3 – Доля видов грибов рода *Candida* чувствительных к флуконазолу.

Примечание: S – sensitive, чувствительный; DD – dose dependent, дозозависимый; R – resistance, устойчивый; n – общее количество изолятов

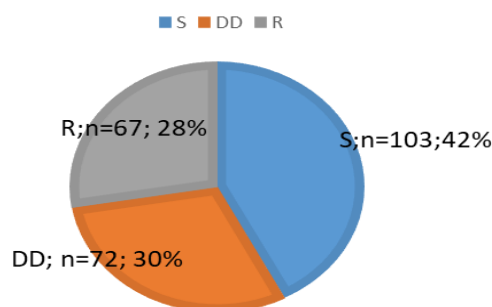


Диаграмма 4 – Доля видов грибов рода *Candida* чувствительных к вориконазолу.

Примечание: S – sensitive, чувствительный; DD – dose dependent, дозозависимый; R – resistance, устойчивый; n – общее количество изолятов.

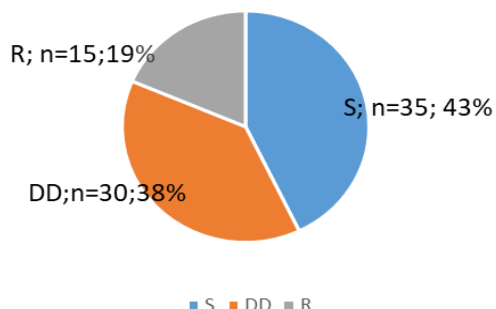


Диаграмма 5 – Виды грибов, не относящихся к роду *Candida* чувствительные к флуконазолу.

Примечание: S – sensitive, чувствительный; DD – dose dependent, дозозависимый; R – resistance, устойчивый; n – общее количество изолятов.

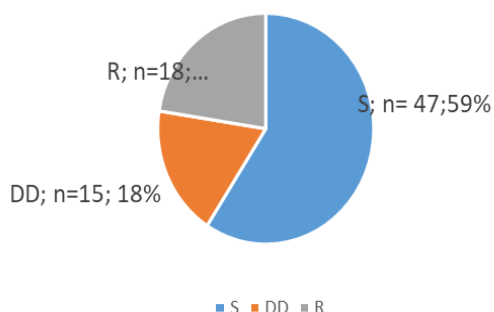


Диаграмма 6 – Виды грибов, не относящихся к роду *Candida* к вориконазолу.

Примечание: S – sensitive, чувствительный; DD – dose dependent, дозозависимый; R – resistance, устойчивый; n – общее количество изолятов.

В результате проведенных исследований установлено, что 19% исследованных изолятов, не относящихся к роду *Candida*, являются устойчивыми к флуконазолу, 38% - дозозависимыми, 43% - чувствительными. Соотношение наглядно отражено на диаграмме 5.

Изолят относили к той или иной группе в соответствии с минимальной концентрацией флуконазола, требуемой для по-

давления роста изолята (минимальная подавляющая концентрация, МПК). Так как для большинства видов такие критерии не определены, за основу были взяты МПК для *Candida albicans*. При МПК менее или равной 1,0 мг/л изолят считали чувствительным, при МПК в диапазоне от 2,0 до 4,0 мг/л изолят считали дозозависимым, при МПК более или равной 4,0 мг/л изолят считали устойчивым.

В результате проведенных исследований установлено, что 23% исследованных изолятов, не относящихся к роду *Candida*, являются устойчивыми к вориконазолу, 18% - дозозависимыми, 59% - чувствительными. Соотношение наглядно отражено на диаграмме 6.

Изолят относили к той или иной группе в соответствии с минимальной концентрацией флуконазола, требуемой для подавления роста изолята (минимальная подавляющая концентрация, МПК). Так как для большинства видов такие критерии не определены, за основу были взяты МПК для *Candida albicans*. При МПК менее или равной 0,0625 мг/л изолят считали чувствительным, при МПК в диапазоне от 0,125 до 0,5 мг/л изолят считали дозозависимым, при МПК более или равной 0,5 мг/л изолят считали устойчивым.

В целом, доля устойчивых к флуконазолу и вориконазолу изолятов дрожжевых грибов, выделенных от животных, достаточно велика, она составляет в некоторых случаях до 50% (*C. tropicalis*). Высокий уровень устойчивости выявлен у изолятов *Candida albicans*, *Candida catenulata*, *Candida rugosa* и *Candida pararugosa*.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Таким образом, впервые проведенный мониторинг этиологической структуры грибковых болезней животных, проведенный за короткий период времени (2022-2023гг) в 27 регионах РФ, показал широкое распространение дрожжевых грибов рода *Candida* в самых различных экологических нишах. Выявлены изоляты дрожжевых грибов с кожных покровов животных, в сыром молоке крупного и мелкого рогатого скота, лошадей, верблюдов, со слизистых оболочек как сельскохозяй-

ственных, так и домашних животных, а также с поверхности оборудования, предназначенного как для доения, так и для ухода за животными. В своей распространенности не уступают и дрожжевые грибы вида *Malassezia pachydermatis*, *Rhodotorula mucilaginosa* *Geotrichum candidum* и представителей рода *Trichosporon*.

Установлен факт развития устойчивости некоторых видов дрожжей к наиболее часто используемым противогрибковым препаратам (флуконазолу и вориконазолу), что может существенно осложнить терапию вызываемых ими инфекций и внести свой вклад во всемирную проблему антибиотикорезистентности.

Очевидно, что в рамках двухлетней работы невозможно всесторонне оценить распространённость грибковых заболеваний животных, но послужило началом проведения систематического мониторинга для оценки уровня распространенности грибковых заболеваний животных, оценки чувствительности выделенных нами изолятов, для адекватной терапии, особо акцентируя свое внимание на социально-значимые виды, как основную стратегию профилактики и решения этой развивающейся проблемы в здравоохранения.

Наши результаты вселяют некоторые опасения, поскольку изученные изоляты были выделены от животных, в терапии которых азоловые антимикотики не применялись, или из объектов внешней среды, и выделенные изоляты уже имеют высокий уровень устойчивости, в том числе перекрёстной.

Мы продолжаем исследования грибов, в том числе дрожжевых, выделяемых от животных и мест их обитания, на предмет их потенциальной патогенности и вирулентности, устойчивости к противогрибковым препаратам и потенциала их дальнейшего распространения.

YEASTS IN THE ETIOLOGY OF ANIMAL MYCOSES

Manoyan M. G. – head of the mycology department (ORCID 0000-0001-6347-413X); **Gursheva A. S.** – researcher at the Department of mycology; **Gabuzyan N.A.** –

researcher at the Department of mycology, **Panin A. N.** - Advisor to the Director
Federal State Budgetary Institution
«VGNKI»

*mycology@vgnki.ru

Financing: Materials prepared within the framework of the regional competition of the Russian Science Foundation 2021 “Conducting fundamental scientific research and exploratory scientific research by individual scientific groups” (agreement No. 22-26-00206 of December 29, 2021), <https://rscf.ru/project/22-26-00206/>.

ABSTRACT

760 samples of biological material from various regions of the Russian Federation were studied, 320 isolates of yeast fungi were isolated, which amounted to 42.10% of the total number of samples. Of the 760 samples, 29.0% belonged to cattle, 11.8% to small cattle, 13.0% to horses, 1.6% to camels, 7.2% to cats and 17.5% to dogs, 1.8% to raw milk and 0.8% to environmental objects (OVS). Most of the isolated isolates (240) of yeast fungi belonged to fungi of the genus *Candida*, which amounted to 75%. The species diversity of fungi of the genus *Candida* is represented by 15 species. The largest number of isolates belong to the species *Candida albicans*, *Candida catenulata*, *Candida kefyr* *Candida krusei*, *Candida membranifaciens*, *Candida pararugosa* and *Candida tropicalis*. These species of fungi of the genus *Candida* are known as pathogens of fungal infections in humans and animals. The species diversity of species not belonging to the genus *Candida* is limited to 7 species in 5 genera – *Geotrichum*, *Malassezia*, *Rhodotorula*, *Saccharomyces* and *Trichosporon*. The fact of the development of resistance of some yeast species to the most commonly used antifungal drugs (fluconazole and voriconazole) has been established. It was revealed that 30% of the studied isolates of the genus *Candida* are resistant to fluconazole, 32% are dose-dependent, 38% are sensitive, 28% are resistant to voriconazole, 30% are dose-

dependent, 42% are sensitive. Isolates not belonging to the genus *Candida* showed resistance to fluconazole 19%, 38% - dose-dependent, 43% - sensitive, voriconazole – 23% – resistant, 18% – dose-dependent and 59% - sensitive. The proportion of isolates of yeast fungi resistant to fluconazole and voriconazole isolated from animals is quite large, in some cases it is up to 50% (*C. tropicalis*). A high level of resistance was found in isolates of *Candida albicans*, *Candida catenulata*, *Candida rugosa* and *Candida pararugosa*, which can significantly complicate the treatment of infections caused by them and contribute to the worldwide problem of antibiotic resistance.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Дрожжи в природе: монография / И. Ю. Чернов. - Москва: Товарищество научных изданий КМК, 2013. - 336 с. - ISBN 978-5-87317-927-5.
2. Бабьева, И.П. Биология дрожжей: учеб. пособие / И. П. Бабьева, И. Ю. Чернов; Моск. гос. ун-т им. М. В. Ломоносова, Фак. почвоведения, Ин-т экол. почвоведения. - Москва: Товарищество науч. изд. КМК, 2004 (Тип. ООО Галлея-Принт). - 221 с. - ISBN 5-87317-179-3 (в обл.).
3. Ainsworth, G. C. Ainsworth & Bisby's dictionary of the fungi. – Cabi, 2008. 655 p. DOI:10.1590/S0036-46651996000400018.
4. Hizlisoy, H. Clonal diversity and antifungal susceptibility of *Candida* spp. recovered from cow milk / H. Hizlisoy, N. E. Onmaz, F. Karadal [et al]//. – 2020. – Т. 70. – №. 1. – С. 40-49. DOI:10.15567/mljekarstvo.2020.0104.
5. Kidd, S. Descriptions of medical fungi. / S. Kidd, C. Halliday, H. Alexiou [et al]// – the Authors. - 2016. - № Ed. 3. – 278p. ISBN: 9780646951294
6. O'Brien, H.E. Parrent, J.L. Jackson, J.A. Moncalvo, J.M. Vilgalys, R. Fungal community analysis by large-scale sequencing of environmental samples // *Applied and environmental microbiology*, Sept. 2005, p. 5544–5550 doi: 10.1128/AEM.71.9.5544-5550.2005.
7. Köhler, J.R. The spectrum of fungi that infects humans. / J.R. Köhler, A. Casadevall, J. Perfect // *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2014. doi: 10.1101/cshperspect. a019273.
8. Seyedmousavi, S. et al. Fungal infections in animals: a patchwork of different situations. // *Med Mycology*. - 2018.- p.165-187. doi: 10.1093/mmy/myx10.
9. Mueller, R. S. Cutaneous candidiasis in a dog caused by *Candida guilliermondii* // *Veterinary Record* vol. 150. no 23. - June 8, 2002. – pp.728-731 doi: 10.1136/vr.150.23.728.
10. Овчинников, Р. С. Грибы рода *Malassezia* в заболеваниях животных / Р.С. Овчинников, М.Г. Маноян, А.Г. Гайнуллина, А.Н. Панин, П.П. // *Журнал Vetpharma*. – 2013. – №. – № 3(14). – С. 36-52. - ISSN: 2307-4426
11. Zhou, Y. Ren, Y. Fan, C. et al. Survey of mycotic mastitis in dairy cows from Heilongjiang Province, China // *Tropical Animal Health and Production*. – 2013. Nov;45 (8):1709-14. doi: 10.1007/s11250-013-0419-y.
12. Krukowski, H. Survey of yeast mastitis in dairy herds of small-type farms in the Lublin region, Poland. *Mycopathologia*. / H. Krukowski, M. Tietze, T. Majewski [et al] // 2001. doi: 10.1023/a:1011047829414.
13. Prohic, A. Sadikovic, T. J. et al *Malassezia* species in healthy skin and in dermatological conditions // *Int. J. Dermatol*. - 2016. - p.494-504. doi: 10.1111/ijd.13116.
14. Seelig, M.S. The role of antibiotics in the pathogenesis of *Candida* infections // *Am J Med*.- 1966.- p.887-917. doi: 10.1016/0002-9343(66)90204-x.
15. Коробцова, И. П. Кандидоз кожи В 2016 г.: Что нового? / И. П. Коробцова, В. Ю. Сергеев // *Успехи медицинской микологии*. – 2016. – Т. 15. – С. 314-319 - ISSN: 2310-9467
16. Балдина, П. М. Кандидоз урогенитальной области / П. М. Балдина, Д. С. Сорокина // *Успехи медицинской микологии*. – 2019. – Т. 20. – С. 183-189 - ISSN: 2310-9467
17. Тарасова, А. Д. Кандидоз желудочно-кишечного тракта / А. Д. Тарасова, Д. В. Шаяхметова // *Успехи медицинской микологии*. – 2019. – Т. 20. – С. 302-306.
18. Jadhav, V. J. Human and domestic ani-

- mal infections caused by *Candida albicans* / V.J. Jadhav, M. Pal//J. Mycopathol. Res. – 2013. – Т. 51. – С. 243-249.
- 19.de Casia dos Santos, R. Marin, J.M. Isolation of *Candida* spp. from mastitic bovine milk in Brazil. Mycopathologia. 2005. doi: 10.1007/s11046-004-2229-2.
- 20.Ряпосова М.В., Шкуратова И.А., Кадочников Д.М., Тарасенко М.Н. Микробный пейзаж при маститах и эндометритах у коров в племенных организациях Уральского региона / Российский журнал Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии. – 2015. – №. 3. – С. 53-55.
- 21.Mancianti, F. Nardoni, S. Ceccherelli, R. Occurrence of yeasts in psittacines droppings from captive birds in Italy // Mycopathologia. 2002; doi: 10.1023/a:1014576304894.
- 22.Корнейкова, М. В. Вирулентность потенциально патогенных микромицетов, выделенных из почв кольского полуострова / Успехи медицинской микологии. – 2016. – Т. 15. – С. 26-32.
- 23.Елинов, Н. П. *Candida* species и кандидемии. Состояние проблемы (Обзор) / Ж. Проблемы мед. микологии. – 2001. – Т. 3. – №. 2. – С. 3-5.
- 24.Manoyan, M. G. Sokolov, V. Gabuzyan, N. G. Virulence potential and resistance to antifungal drugs of *Candida* genus yeast fungi// Norwegian Journal of Development of the International Science, no. 60-2, 2021, pp.43-49. doi:10.24412/3453-9875-2021-60-2-43-49.
- 25.Neppelenbroek, K. H. Seo, R. S. Silvia, S. et al. Identification of *Candida* species in the clinical laboratory: a review of conventional, commercial, and molecular techniques // Oral Diseases, №20, p.329-344. – 2014 – Doi: 10.1111/odi.12123. Epub 2013 May 16.
- 26.Bendel, C. M. Colonization and Epithelial Adhesion in the Pathogenesis of Neonatal Candidiasis. Seminars in Perinatology, 27 (5), 357-364. 2003. DOI: 10.1016/s0146-0005(03)00059-4
- 27.Hizlisoy, H. Clonal diversity and antifungal susceptibility of *Candida* spp. recovered from cow milk / H. Hizlisoy, N. E. Onmaz, F. Karadal [et al]//. – 2020. – Т. 70. – №. 1. – С. 40-49. DOI:10.15567/mljekarstvo.2020.0104
- 28.Brilhante, R. S. N. Yeasts from Scarlet ibises (*Eudocimus ruber*): A focus on monitoring the antifungal susceptibility of *Candida famata* and closely related species. / R. S. N. Brilhante, A. L. Silva, F.O.B. Monterio [et al]// Med Mycol. 2017. doi: 10.1093/mmy/myw144.
- 29.Cafarchia, C. Yeasts isolated from cloacal swabs, feces, and eggs of laying hens. / C. Cafarchia, R. Latta, P. Danesi [et al]// Med Mycol. 2019. doi: 10.1093/mmy/myy026.
- 30.de Hoog, G. S. Atlas of clinical fungi, 2019. – №. Ed. 4. 1126p.

REFERENCES

1. Yeast in nature: monograph / I. Yu. Chernov. - Moscow: Partnership of Scientific Publications KMK, 2013. - 336 p. - ISBN 978-5-87317-927-5. (In Russ.)
2. Babieva, I.P. Biology of yeast: textbook. manual / I. P. Babieva, I. Yu. Chernov; Moscow state University named after M. V. Lomonosov, Faculty. Soil Science, Institute of Ecology. soil science. - Moscow: Partnership scientific. ed. KMK, 2004 (Type. Galley-Print LLC). - 221 p. - ISBN 5-87317-179-3 (in the region). (In Russ.)
3. Ainsworth, G. C. Ainsworth & Bisby's dictionary of the fungi. – Cabi, 2008. 655 rub. DOI:10.1590/S0036-46651996000400018.
- 4.Hizlisoy, H. Clonal diversity and antifungal susceptibility of *Candida* spp. recovered from cow milk / H. Hizlisoy, N. E. Onmaz, F. Karadal [et al]//. – 2020. – Т. 70. – №. 1. – С. 40-49. DOI:10.15567/mljekarstvo.2020.0104.
5. Kidd, S. Descriptions of medical fungi. / S. Kidd, C. Halliday, H. Alexiou [el al]//– the Authors. - 2016. - № Ed. 3. – 278p. ISBN: 9780646951294
6. O'Brien, H.E. Parrent, J.L. Jackson, J.A. Moncalvo, J.M. Vilgalys, R. Fungal community analysis by large-scale sequencing of environmental samples // Applied and environmental microbiology, Sept. 2005, p. 5544–5550 doi: 10.1128/AEM.71.9.5544-5550.2005.

7. Köhler, J.R. The spectrum of fungi that infects humans. / J.R. Köhler, A. Casadevall, J. Perfect // Cold Spring Harb Perspect Med. 2014. doi: 10.1101/cshperspect.a019273.
8. Seyedmousavi, S. et al. Fungal infections in animals: a patchwork of different situations. // Med Mycology. - 2018. - p.165-187. doi: 10.1093/mmy/myx10.
9. Mueller, R. S. Cutaneous candidiasis in a dog caused by *Candida guilliermondii* // Veterinary Record vol. 150. no 23. - June 8, 2002. - pp.728-731 doi: 10.1136/vr.150.23.728.
10. Baldina, P. M. Candidiasis of the urogenital area / P. M. Baldina, D. S. Sorokina // Advances in medical mycology. - 2019. - T. 20. - P. 183-189 - ISSN: 2310-9467/ (In Russ.)
11. Ovchinnikov, R.S. Fungi of the genus *Malassezia* in animal diseases / R.S. Ovchinnikov, M.G. Manoyan, A.G. Gainullina, A.N. Panin, P.P. // Vetpharma Magazine. - 2013. - No. 3(14). - P. 36-52. - ISSN: 2307-4426. (In Russ.)
12. Zhou, Y. Ren, Y. Fan, C. et al. Survey of mycotic mastitis in dairy cows from Heilongjiang Province, China // Tropical Animal Health and Production. - 2013. Nov;45(8):1709-14. doi: 10.1007/s11250-013-0419-y.
13. Krukowski, H. Survey of yeast mastitis in dairy herds of small-type farms in the Lublin region, Poland. Mycopathologia. / H. Krukowski, M. Tietze, T. Majewski [et al] // 2001. doi: 10.1023/a:1011047829414.
14. Prohic, A. Sadikovic, T. J. et al. *Malassezia* species in healthy skin and in dermatological conditions // Int. J. Dermatol. - 2016. - p.494-504. doi: 10.1111/ijd.13116.
15. Seelig, M.S. The role of antibiotics in the pathogenesis of *Candida* infections // Am J Med. - 1966. - p.887-917. doi: 10.1016/0002-9343(66)90204-x.4.
16. Korobtsova, I. P. Skin candidiasis in 2016: WHAT'S NEW? / I. P. Korobtsova, V. Yu. Sergeev // Advances in medical mycology. - 2016. - T. 15. - P. 314-319 - ISSN: 2310-9467. (In Russ.)
17. Baldina, P. M. Candidiasis of the urogenital area / P. M. Baldina, D. S. Sorokina // Advances in medical mycology. - 2019. - T. 20. - P. 183-189 - ISSN: 2310-9467/ (In Russ.)
18. Tarasova, A. D. Candidiasis of the gastrointestinal tract / A. D. Tarasova, D. V. Shayakhmetova // Advances in medical mycology. - 2019. - T. 20. - P. 302-306. (In Russ.)
19. Jadhav, V. J. Human and domestic animal infections caused by *Candida albicans* / V. J. Jadhav, M. Pal//J. Mycopathol. Res. - 2013. - T. 51. - P. 243-249.
20. de Casia dos Santos, R. Marin, J.M. Isolation of *Candida* spp. from mastitic bovine milk in Brazil. Mycopathologia. 2005. doi: 10.1007/s11046-004-2229-2.
21. Ryaposova M.V., Shkuratova I.A., Kadochnikov D.M., Tarasenko M.N. Microbial landscape of mastitis and endometritis in cows in breeding organizations of the Ural region / Russian Journal of Problems of Veterinary Sanitation, Hygiene and Ecology. - 2015. - No. 3. - pp. 53-55. (In Russ.)
22. Mancianti, F. Nardoni, S. Ceccherelli, R. Occurrence of yeasts in psittacines droppings from captive birds in Italy. // Mycopathologia. 2002; doi: 10.1023/a:1014576304894.
23. Korneikova, M.V. Virulence of potentially pathogenic micromycetes isolated from soils of the Kola Peninsula / Advances in medical mycology. - 2016. - T. 15. - P. 26-32. (In Russ.)
24. Elinov, N. P. *Candida* species and candidemia. State of the problem (Review) / J. Medical problems. mycology. - 2001. - T. 3. - No. 2. - pp. 3-5. (In Russ.)
25. Manoyan, M. G. Sokolov, V. Gabuzyan, N. G. Virulence potential and resistance to antifungal drugs of *Candida* genus yeast fungi// Norwegian Journal of Development of the International Science, no. 60-2, 2021, pp.43-49. doi:10.24412/3453-9875-2021-60-2-43-49.
26. Neppelenbroek, K. H. Seo, R. S. Silvia, S. et al. Identification of *Candida* species in the clinical laboratory: a review of conventional, commercial, and molecular techniques. // Oral Diseases, №20, p.329-344. - 2014 - doi: 10.1111/odi.12123. Epub 2013 May 16.
27. Bendel, C. M. Colonization and Epithelial Adhesion in the Pathogenesis of Neonatal

- Candidiasis. *Seminars in Perinatology*, 27 (5), 357-364. 2003. DOI: 10.1016/s0146-0005(03)00059-4
27. Hizlisoy, H. Clonal diversity and antifungal susceptibility of *Candida* spp. recovered from cow milk / H. Hizlisoy, N. E. Onmaz, F. Karadal [et al]//. – 2020. – Т. 70. – №. 1. – С. 40-49. DOI:10.15567/mljekarstvo.2020.0104
28. Brilhante, R. S. N. Yeasts from Scarlet ibises (*Eudocimus ruber*): A focus on monitoring the antifungal susceptibility of *Candida famata* and closely related species. / R. S. N. Brilhante, A. L. Silva, F.O.B. Monterio [et al]// *Med Mycol*. 2017. doi: 10.1093/mmy/myw144.
29. Cafarchia, C. Yeasts isolated from cloacal swabs, feces, and eggs of laying hens. / C. Cafarchia, R. Latta, P. Danesi [et al]// *Med Mycol*. 2019. doi: 10.1093/mmy/myy026.
30. S. de Hoog, G. S. *Atlas of clinical fungi*. , 2019. – №. Ed. 4. 1126p.