Исследование биопленок и фенотипических признаков грибов рода *Candida*

Е. М. Ленченко¹, Н. П. Сачивкина²

¹ ФГБОУ ВО «Московский государственный университет пищевых производств» (ФГБОУ ВО «МГУПП»), Москва, Россия

² ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» (РУДН), г. Москва, Россия

¹ ORCID 0000-0003-2576-2020, e-mail: lenchenko-ekaterina@yandex.ru

² ORCID 0000-0003-1100-929X, e-mail: sachivkina@yandex.ru

РЕЗЮМЕ

Дрожжеподобные грибы рода *Candida* – возбудители инфекционной патологии слизистой оболочки желудочно-кишечного, дыхательного, урогенитального трактов и кожи млекопитающих, сепсиса и диссеминированной инфекции птиц. Для разработки и совершенствования диагностических и противоэпизоотических мероприятий актуальность представляют изыскание и апробация многоуровневых алгоритмов индикации биопленок при воздействии химиотерапевтических и дезинфицирующих препаратов для блокировки синтеза или разрушения межклеточного матрикса при развитии поверхностных, глубоких и системных кандидозов животных. Установлено, что формирование гетерогенной структуры биопленок представляет собой множество этапов, реализующих процессы межклеточной коммуникации за счет синтеза полимерного матрикса. При оптической микроскопии выявлялась трехмерная структура биопленок в виде плотной сети, состоящей из дрожжевых клеток, гифальных и псевдогифальных форм, окруженных межклеточным полимерным матриксом. При инфицировании восприимчивых видов этиологическая значимость факторов патогенности *Candida* spp. реализуется за счет адгезии, инвазии, секреции гидролаз, диморфизма. Формирование моновидовых или поливидовых биопленок микроорганизмов, в том числе и *Candida* spp., обуславливают развитие поверхностных, глубоких и системных кандидозов. Индикация в большом количестве дрожжевой и мицеллярной фаз у изолятов *C. albicans* и *C. africana* являлась дифференциальным признаком значительной степени колонизации слизистых оболочек гортани, глотки и миндалин при локальных и системных патологиях свиней. Результаты исследований гетерогенной структуры биопленок и фенотипических признаков дрожжеподобных грибов могут быть использованы при сравнительном изучении биологических свойств и выявлении общих закономерностей и дифференциальных признаков микроорганизмов, оптимизации схемы микологической диагностики, а также при разработке антимикотических препаратов.

Ключевые слова: микроскопические грибы, *Candida* spp., биопленки, оптическая плотность, микроскопия, фенотипические признаки.

Благодарность: Авторы благодарят Московский государственный университет пищевых производств (МГУПП) и Российский университет дружбы народов (РУДН) за предоставленные возможности для проведения исследовательской работы.

Для цитирования: Ленченко Е. М., Сачивкина Н. П. Исследование биопленок и фенотипических признаков грибов рода *Candida*. *Ветеринария сегодня*. 2020; 2 (33): 132–138. DOI: 10.29326/2304-196X-2020-2-33-132-138.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Ленченко Екатерина Михайловна, доктор ветеринарных наук, профессор кафедры ветеринарной медицины ФГБОУ ВО «МГУПП», 125080, Россия, г. Москва, Волоколамское шоссе, 11, e-mail: lenchenko-ekaterina@yandex.ru.

Studies of biofilms and phenotypic characteristics of *Candida* fungi

Е. М. Ленченко¹, Н. П. Сачивкина²

¹ Moscow State University of Food Production (FGBOU VO MGUPP), Moscow, Russia

² Peoples' Friendship University of Russia (RUDN), Moscow, Russia

¹ ORCID 0000-0003-2576-2020, e-mail: lenchenko-ekaterina@yandex.ru

² ORCID 0000-0003-1100-929X, e-mail: sachivkina@yandex.ru

SUMMARY

Yeast-like fungi of the genus *Candida* are causative agents of the infectious pathology of the mucous membrane of the gastrointestinal, respiratory, urogenital tracts and skin of mammals, sepsis, and disseminated infection in birds. The search and testing of multilevel algorithms for biofilm identification when exposed to chemotherapeutic and disinfectant drugs for blocking the synthesis or destruction of the intercellular matrix in the development of superficial, deep and systemic candidiasis of animals are relevant for developing and improving diagnostic and antiepidemic measures. It was established that the formation of biofilm heterogeneous structure comprises multiple stages implementing the processes of intercellular communication due to the synthesis of a polymer matrix composites. Optical microscopy revealed a three-dimensional structure of biofilms in the form of a dense network consisting of yeast cells, hyphal and pseudohyphal forms

surrounded by an intercellular polymer matrix. *Candida* spp. pathogenicity factors contribute to infection of susceptible species due to adhesion, invasion, secretion of hydrolases, dimorphism. Formation of mono-species or poly-species biofilms of microorganisms, including *Candida* spp., causes the development of superficial, deep and systemic candidiasis. Detection of a large amount of yeast and micellar phases in *C. albicans* and *C. africana* isolates was a differential sign of a significant degree of colonization of the mucous membranes of the larynx, pharynx, and tonsils in case of local and systemic pathologies in pigs. The results of studies of the biofilm heterogeneous structure and phenotypic signs of yeast-like fungi can be used in a comparative study of biological characteristics and the identification of common patterns and differential signs of microorganisms, optimization of mycological diagnostics, and also in the development of antimycotic drugs.

Key words: microscopic fungi, *Candida* spp., biofilms, optical density, microscopy, phenotypic characters.

Acknowledgements: The authors are grateful to the Moscow State University of Food Production (FGBOU VO MGUPP) and Peoples' Friendship University of Russia (RUDN) for provided opportunity to perform the research activities.

For citation: Lenchenko E. M., Sachivkina N. P. Studies of biofilms and phenotypic characteristics of *Candida* fungi. *Veterinary Science Today*. 2020; 2 (33): 132–138. DOI: 10.29326/2304-196X-2020-2-33-132-138.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

For correspondence: Ekaterina M. Lenchenko, Doctor of Science (Veterinary Medicine), Professor, Department of Veterinary Medicine, Moscow State University of Food Production, 125080, Russia, Moscow, Volokolamskoye Shosse, 11, e-mail: lenchenko-ekaterina@yandex.ru.

ВВЕДЕНИЕ

Из многочисленных представителей рода *Candida* патогенными для человека признаны 20 видов, из них прежде всего: *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. kefyr*, *C. glabrata*, *C. guilliermondii*, *C. parapsilosis* [1, 2]. Этиологическая структура кандидоза сельскохозяйственных животных представлена видами *C. albicans* и *C. tropicalis*, изолированными при патологии преджелудков (48,07%) и сычуга (75,0%) телят, желудка поросят (88,26%), а также ротовой полости, пищевода и зоба молодняка птицы [3–5]. Клинические признаки болезни наблюдаются в раннем постнатальном периоде (до 2-месячного возраста), в частности творожистоподобные или пленчатые наложения выявляли в многослойном плоском эпителии органов пищеварительной системы (ротовая полость, пищевод, рубец, сетка, книжка) телят и ягнят [3]. При мастите коров из проб молока чаще идентифицировали виды *C. krusei* ($n = 14$) и *C. parapsilosis* ($n = 6$), реже – *C. lipolytica*, *C. lusitaniae*, *C. neoformans* [6]. Висцеральный кандидамикоз поросят, занимающий 4-е место в нозологическом профиле инфекционной патологии, по частоте встречаемости достигает 13,36% [4]. Из тканей и органов свиней с клиническими признаками кандидоза изолированы и идентифицированы 13 (68,42%) культур микроорганизмов *C. albicans* и 6 (31,57%) *C. africana* [7]. При кандидозе серебристо-черных лисиц, собак и кошек регистрируют как незначительные поражения кожи и производных кожного покрова, так и интенсивные поражения в форме язв, гиперкератоза и локальных алопеций [8]. Наиболее восприимчивы к данному заболеванию цыплята и индюшата, не достигшие месячного возраста. Подострый или хронический кандидамикоз протекает у птиц в виде эпизоотических вспышек. Как правило, характеризуется образованием интенсивных наложений желто-серого цвета, плотно прикрепленных к слизистой оболочке пищевода, зоба, при удалении которых обнажаются язвенные очаги [9, 10].

При хронических инфекционных патологиях сельскохозяйственных животных установлены прямые корреляционные связи между морфологическими и денситометрическими показателями биопленок и реализацией факторов вирулентности микроорга-

низмов, в том числе и дрожжеподобных грибов [11–14]. Этиологическая значимость факторов вирулентности патогенных микроорганизмов при инфицировании восприимчивых видов реализуется за счет синтеза полимерных веществ, транскрипционного контроля адгезии, инвазии, секреции токсинов [15–20]. Гетероморфный рост популяций способствует взаимодействию микроорганизмов различных таксономических групп, что обуславливают вирулентность и защиту биопленок микроорганизмов от иммунного ответа, а также от воздействия химиотерапевтических препаратов и дезинфицирующих средств [21–24]. Транспорт матричной РНК *Candida* spp. инактивируется при удалении так называемого адаптера She3, гифы становятся специфически дефектными, что сопровождается нетипичным ростом и снижением способности повреждать монослой эпителиальных клеток за счет снижения продукции фосфолипазы В [25, 26].

Для разработки и совершенствования диагностических и противоэпизоотических мероприятий актуальность представляют изыскание и апробация многоуровневых алгоритмов индикации биопленок при воздействии химиотерапевтических и дезинфицирующих препаратов для блокировки синтеза или разрушения межклеточного матрикса при развитии поверхностных, глубоких и системных кандидозов животных.

Цель работы – изучить морфометрические и денситометрические показатели биопленок и фенотипические признаки референтных штаммов и изолятов дрожжеподобных грибов *Candida* spp.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Штаммы. Исследование биопленок и фенотипических признаков проводили с использованием референтных штаммов (ATCC): *Candida albicans* ATCC 14053, *C. parapsilosis* ATCC 22019, *C. tropicalis* ATCC 750, *C. glabrata* ATCC 66032 [27]. В опытах также использовали выделенные нами изоляты: *C. albicans* и *C. africana* – из лимфатических узлов свиней при локальных или системных патологиях; *C. albicans* и *C. tropicalis* – из вагинальной слизи собак при наличии клинических признаков кандидоза, а также *C. humilis* – из комбикорма для крупного рогатого скота [7, 25].

Питательные среды. Микроорганизмы культивировали в течение 24 ч при 37, 42, 45 °С, применяя жидкие и плотные питательные среды: сердечно-мозговой бульон (HiMedia, Индия), Сабуро (bioMerieux, Франция), HiCrome Candida Agar (HiMedia, Индия). Наличие хламидоспор учитывали при посеве 24-часовой культуры микроорганизмов с питательной среды Сабуро на рисовый агар (API-System R.A.T., Франция) и культивировали 24 ч при 25 °С.

Для оценки образования проростковых трубок микроорганизмы культивировали в 1,0 мл мясо-пептонного бульона (МПБ) с добавлением сыворотки крови крупного рогатого скота (АО «НПО «Микроген», Россия) при 37 °С в течение 5 ч.

Фенотипические признаки. Изучение морфологических, культуральных и биохимических свойств микроорганизмов проводили общепринятыми методами с использованием дифференциально-диагностических сред и тест-систем [1, 2].

Для учета ферментативных признаков суточные культуры микроорганизмов *Candida* spp. (оптическая плотность OD = 0,5 при длине волны 620 нм) вносили в лунки тест-системы HiCandida Identification Kit (HiMedia, Индия) и культивировали 48 ч при 22,5 °С.

Морфометрические показатели биопленок. Микроорганизмы культивировали 48 ч при 37 °С на покровных стеклах, размещенных в чашках Петри, с 20 мл МПБ и 5 мл взвеси 18-часовых культур микроорганизмов в концентрации 10^5 КОЕ/мл. Препараты фиксировали смесью спирта и эфира (1:1) в течение

10 мин, окрашивали 0,5%-м раствором метиленового синего [12, 21].

Исследование проводили при репрезентативной выборке достоверной частоты встречаемости – $\geq 90,0\%$ поля зрения оптического микроскопа «БИОМЕД МС-1 Стере» (БИОМЕД, Россия).

Денситометрические показатели. При культивировании в 96-луночной планшете (Медполимер, Россия) учитывали степень связывания кристаллического фиолетового (HiMedia, Индия), используя фотометрический анализатор Immunochem-2100 (HTI, USA). В лунки планшетов вносили исследуемые образцы (оптическая плотность OD₅₈₀, длина волны 580 нм) и культивировали при 37 °С в течение 48 ч. Затем жидкость удаляли, лунки планшетов трижды промывали 200 мкл фосфатно-буферного раствора (pH 7,3). Фиксацию проводили 150 мкл 96%-го этанола в течение 15 мин. Затем лунки планшетов подсушивали 20 мин при 37 °С и вносили 0,5%-й раствор кристаллического фиолетового, опять помещали в термостат при 37 °С. Через 5 мин содержимое лунок удаляли, трижды промывали 200 мкл фосфатно-буферного раствора (pH 7,2) и подсушивали. Краситель элюировали 200 мкл 96%-го этанола в течение 30 мин [16, 28, 29].

Полученные при проведении эксперимента данные обрабатывали методом статистического анализа с использованием критерия Стьюдента, результаты считали достоверными при $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Candida spp. – грамположительные овальные почкующиеся микроорганизмы. Дрожжевая фаза изученных видов была представлена относительно крупными округлой или овальной формы почкующимися клетками 2,0–6,0 мкм в диаметре, мицеллярная фаза – группами круглых мелких клеток (бластоспор) и гиф.

Микроорганизмы *C. albicans* и *C. humilis* имели круглые, субсферические, эллиптические формы клеток размером 2,0–3,0 × 3,0–5,0 мкм.

Клетки *C. parapsilosis* и *C. tropicalis* размером 1,7–2,0 × 3,0–4,0 мкм имели эллиптическую вытянутую форму, выявлялся также мицелий с группами круглых мелких клеток – бластоспор (рис. 1).

Индикация в большом количестве дрожжевой и мицеллярной фаз у изолятов *C. albicans* и *C. africana*, выделенных из лимфатических узлов свиней, являлась дифференциальным признаком значительной степени колонизации слизистых оболочек гортани, глотки и миндалин при локальных и системных патологиях.

Популяционная иммобилизация архитектоники зрелой трехмерной биопленки, в соответствии с условиями культивирования, сопровождалась коагрегацией дрожжевых и мицеллярных форм, объединенных экзоцеллюлярным матриксом, наличием длинных разветвленных гифальных форм, формирующих плотные структуры из псевдомицелия. В центральной части микроколонии имели более выраженный матрикс, поэтому дрожжевые формы и мицелий не выявлялись. В периферической части биопленок, как правило, экзоцеллюлярный матрикс постепенно истончался, выявлялись отдельные дрожжевые клетки и мицеллярные формы (рис. 2).

При оценке денситометрических показателей культуры микроорганизмов установили, что че-

Рис. 1. Морфология дрожжеподобных грибов.

Рост при 25 °С 24 ч на среде Сабуро. Окрашивание метиленовым синим, ок. 10, об. 100, иммерсия.

Fig. 1. Morphology of yeast-like fungi.

Growth at 25 °C for 24 h in Saburo medium. Methylene blue staining, oc. 10, ob. 100, immersion.

рез 48 ч культивирования *C. albicans* (ATCC 14053) и *C. africana*, выделенных из лимфатических узлов поросят, значения абсолютных величин оптической плотности (OD_s) были в диапазоне от $0,423 \pm 0,11$ до $0,510 \pm 0,19$, а интенсивность формирования биопленок $ID \geq 0,3-0,4$.

Микроорганизмы *C. albicans* и *C. tropicalis* (ATCC 750), выделенные из вагинальной слизи собаки, а также *C. glabrata* (ATCC 66032), *C. parapsilosis* (ATCC 22019) показали значения OD_s в диапазоне от $0,331 \pm 0,10$ до $0,350 \pm 0,08$, интенсивность формирования биопленок $ID \geq 0,2-0,3$.

Микроорганизмы *C. humilis*, выделенные из комбикорма для крупного рогатого скота, продемонстрировали OD_s в диапазоне от $0,208 \pm 0,06$ до $0,288 \pm 0,11$, интенсивность формирования биопленок $ID \geq 0,1-0,2$ (табл. 1).

Референтные штаммы и изоляты дрожжеподобных грибов *Candida* spp., независимо от источника выделения, имели характерный для вида рост, являющийся вполне информативным по наличию осадка, пленки и степени мутности среды. При учете толерантности микроорганизмов к температуре дифференциальным признаком видов *C. africana* и *C. parapsilosis* являлось отсутствие роста на среде Сабуро при 45 °C (табл. 2).

В составе среды HiCrome *Candida* Agar содержится хлорамфеникол, подавляющий рост сопутствующих микроорганизмов. Наличие хромогенных субстратов позволяет дифференцировать колонии микроорганизмов *Candida* spp., которые отличались по разме-

Рис. 2. Морфология дрожжеподобных грибов *C. tropicalis*. Рост при 37 °C 48 ч на среде Сабуро. Окрашивание метиленовым синим, ок. 10, об. 100, иммерсия.

Fig. 2. Morphology of yeast-like fungi *C. tropicalis*. Growth at 37 °C for 48 h in Saburo medium. Methylene blue staining, oc. 10, ob. 100, immersion.

рам, форме, цвету и консистенции. Вместе с тем виды *C. albicans* и *C. africana* на указанной среде формировали сходные зеленого цвета колонии.

Таблица 1
Денситометрические показатели формирования биопленок *Candida* spp.

Table 1
Densitometric parameters of *Candida* spp. biofilm formation

Виды микроорганизмов	Оптическая плотность ($n = 3$)		
	OD_s^*	$\Delta (OD_s - OD_c)^{**}$	Интенсивность (ID) ^{***}
Референтные штаммы			
<i>C. albicans</i> , ATCC 14053	$0,423 \pm 0,11$	$0,325 \pm 0,20$	$\geq 0,3-0,4$
<i>C. tropicalis</i> , ATCC 750	$0,342 \pm 0,13$	$0,244 \pm 0,22$	$\geq 0,2-0,3$
<i>C. parapsilosis</i> , ATCC 22019	$0,350 \pm 0,08$	$0,252 \pm 0,17$	$\geq 0,2-0,3$
<i>C. glabrata</i> , ATCC 66032	$0,288 \pm 0,11$	$0,130 \pm 0,20$	$\geq 0,1-0,2$
Изоляты			
<i>C. albicans</i> (лимфатический узел поросят)	$0,482 \pm 0,09$	$0,384 \pm 0,18$	$\geq 0,3-0,4$
<i>C. africana</i> (лимфатический узел поросят)	$0,510 \pm 0,19$	$0,412 \pm 0,28$	$\geq 0,3-0,4$
<i>C. albicans</i> (вагинальная слизь собаки)	$0,398 \pm 0,16$	$0,300 \pm 0,25$	$\geq 0,2-0,3$
<i>C. tropicalis</i> (вагинальная слизь собаки)	$0,331 \pm 0,10$	$0,213 \pm 0,19$	$\geq 0,2-0,3$
<i>C. humilis</i> (комбикорм)	$0,208 \pm 0,06$	$0,110 \pm 0,15$	$\geq 0,1-0,2$

* OD_s — оптическая плотность образца (optical density of the sample);

** OD_c — оптическая плотность контроля (optical density of the control sample);

*** ID — интенсивность: разность оптической плотности исследуемого образца (OD_s) и контроля (OD_c) (intensity: the difference between the optical density of the test sample (OD_s) and control sample (OD_c)).

Таблица 2
Фенотипические признаки *Candida* spp.

Table 2
Phenotypic characteristics of *Candida* spp.

Виды микроорганизмов	Дифференциальные признаки через 48 ч культивирования			
	Среда Сабуро			HiCrome Candida Agar
	37 °C	42 °C	45 °C	
Референтные штаммы				
<i>C. albicans</i> , ATCC 14053	+	+	+	зеленый цвет колоний
<i>C. tropicalis</i> , ATCC 750	+	+	+	голубой цвет колоний
<i>C. parapsilosis</i> , ATCC 22019	+	+	–	бледно-розовый цвет колоний
<i>C. glabrata</i> , ATCC 66032	+	+	+	кремовый цвет колоний
Изоляты				
<i>C. albicans</i> (лимфатический узел поросят)	+	+	+	зеленый цвет колоний
<i>C. albicans</i> (вагинальная слизь собаки)	+	+	+	зеленый цвет колоний
<i>C. africana</i> (лимфатический узел поросят)	+	+	–	зеленый цвет колоний
<i>C. tropicalis</i> (вагинальная слизь собаки)	+	+	+	голубой цвет колоний
<i>C. humilis</i> (комбикорм)	+	+	+	сиреневый цвет колоний

«+» – присутствие характерного для вида роста (species characteristic growth is observed);

«–» – отсутствие характерного для вида роста (species characteristic growth is not observed).

Диагностический тест наличия проростковых трубок, являющихся предшественниками истинных гиф, позволяет дифференцировать грибы через 5 ч при 37 °C культивирования микроорганизмов в МПБ с добавлением сыворотки крови крупного рогатого скота. Изученные виды микроорганизмов были способны расти в присутствии циклогексимида, уреазной активностью не обладали. Микроорганизмы *C. africana*, в отличие от других видов, сбраживали сахарозу и рафинозу и не сбраживали мальтозу, виды *C. humilis* и *C. glabrata* не сбраживали галактозу и ксилозу, *C. parapsilosis* не сбраживали трегалозу (табл. 3).

В целом формирование гетерогенной структуры биопленок референтных штаммов и изолятов дрожжеподобных грибов *Candida* spp. представляет собой множество этапов, реализующих процессы межклеточной коммуникации за счет синтеза полимерного матрикса. Результаты исследований гетерогенной структуры биопленок, фенотипических признаков и факторов вирулентности микроорганизмов расширяют границы познания общей и частной микологии, а прикладные аспекты – выявление общих закономерностей и дифференциальных признаков сапрофитов, потенциально патогенных и патогенных микроорганизмов – имеют перспективы применения для оптимизации схемы диагностики инфекционной патологии и разработки антимикотических препаратов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При изучении морфометрических показателей биопленок референтных штаммов и изолятов дрожжеподобных грибов *Candida* spp. выявляли трехмерную структуру биопленок в виде плотной сети, состоящей из дрожжевых клеток, гифальных и псевдогифальных форм, окруженных межклеточным полимерным матриксом. Индикация в большом количестве дрожжевой и мицеллярной фаз у изолятов *C. albicans* и *C. africana* являлась дифференциальным признаком значительной степени колонизации слизистых оболочек гортани, глотки и миндалин при локальных и системных патологиях свиней.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ (п. п. 6, 10, 11, 13, 14, 16–18, 22, 24–29 см. REFERENCES)

1. Мороз А. Ф., Снегирева А. Е. Методические рекомендации. Грибы рода *Candida* (методы выделения, идентификации на видовом уровне и определение чувствительности к противогрибковым препаратам): утв. директором НИИЭМ им. Н. Ф. Гамалеи РАМН 20.04.2009. М.; 2009; 58 с. Режим доступа: <http://www.himedialabs.ru/download/fungal.pdf>.
2. Саттон Д., Фотергилл А., Ринальди М. Определитель патогенных и условно-патогенных грибов: пер. с англ. К. Л. Тарасова, Ю. Н. Ковалева; под ред. И. Р. Дорожковой. М.: Мир; 2001. 468 с.
3. Агольцов В. А. Кандидоз, аспергиллез и мукороз животных (диагностика и меры борьбы): автореф. дис. ... д-ра вет. наук. Н. Новгород; 2006. 50 с. Режим доступа: <http://disus.ru/r-raznoe/272146-1-kandidoz-aspergillez-mukoroz-zhivotnih-diagnostika-meri-borbi.php>.
4. Лысху Т. Н. Висцеральный кандидамикоз поросят: эпизоотические особенности, клинические и патоморфологические проявления,

Таблица 3

Дифференциально-диагностические признаки *Candida* spp.

Table 3

Differential diagnostic characteristics of *Candida* spp.

Виды	Углеводы											
	Уреаза	Мелибиоза	Лактоза	Мальтоза	Сахароза	Галактоза	Целлобиоза	Инозит	Ксилоза	Дульцит	Рафиноза	Трегалоза
Референтные штаммы												
<i>C. albicans</i> , ATCC 14053	–	–	–	+	+	+	–	–	+	–	–	+
<i>C. tropicalis</i> , ATCC 750	–	–	–	+	+	+	+	–	+	–	–	+
<i>C. parapsilosis</i> , ATCC 22019	–	–	–	+	+	–	–	–	+	–	–	–
<i>C. glabrata</i> , ATCC 66032	–	–	–	+	–	–	–	–	–	–	–	+
Изоляты												
<i>C. albicans</i> (лимфатический узел поросят)	–	–	–	+	+	+	–	–	+	–	–	+
<i>C. albicans</i> (вагинальная слизь собаки)	–	–	–	+	+	+	–	–	+	–	–	+
<i>C. africana</i> (лимфатический узел поросят)	–	–	–	–	+	+	–	–	+	–	+	+
<i>C. tropicalis</i> (вагинальная слизь собаки)	–	–	–	+	+	+	+	–	+	–	–	+
<i>C. humilis</i> (комбикорм)	–	–	–	+	–	+	–	–	+	–	–	+

«+» – положительный тест (positive test result);

«–» – отрицательный тест (negative test result).

лечебно-профилактические мероприятия: автореф. дис. ... канд. вет. наук. Ставрополь; 2001. 18 с. Режим доступа: https://rusneb.ru/catalog/000200_000018_RU_NLR_bibl_560584/viewer.

5. Себряков Е. В. Структурно-функциональная характеристика грибов рода *Candida* и патогенетические особенности кандидамикоза сельскохозяйственных животных: автореф. дис. ... д-ра вет. наук. М.; 1991. 51 с. Режим доступа: https://rusneb.ru/catalog/000199_000009_000347294/viewer/?page=8.

7. Сачивкина Н. П., Ленченко Е. М., Лисейцев А. В. Диагностика кандидоза у свиней. *Ветеринария*. 2018; 11: 26–30. DOI: 10.30896/0042-4846.2018.21.11.26-30.

8. Апанасенко Н. А. Специфические терапия и профилактика кожного кандидоза плотоядных животных: автореф. дис. ... канд. вет. наук. М.; 2010. 24 с. Режим доступа: https://rusneb.ru/catalog/000199_000009_004613111/viewer.

9. Бессарабов Б. Ф., Вашутин А. А., Воронин Е. С., и др. Инфекционные болезни животных. Под. ред. А. А. Сидорчука М.: КолосС; 2007. 671 с. Режим доступа: https://www.studmed.ru/view/bessarabov-bf-vashutin-aa-voronin-es-i-dr-infekcionnye-bolezni-zhivotnyh_30a18b3684f.html?page=1.

12. Ленченко Е. М., Блюменкранц Д. А. Изучение биопренок энтеробактерий, образующихся при болезнях органов пищеварения животных. *Ветеринария*. 2020; 1: 25–29. DOI: 10.30896/0042-4846.2020.23.1.25-29.

15. Ленченко Е. М., Мансурова Е. А., Моторыгин А. В. Характеристика токсигенности энтеробактерий, выделенных при желудочно-кишечных болезнях сельскохозяйственных животных. *Сельскохозяйственная биология*. 2014; 2: 94–104. DOI: 10.15389/agrobiology.2014.2.94rus.

19. Маноян М. Г., Соколов В. В., Гуршева А. С., Габузян Н. А., Панин А. Н. Оценка рисков возникновения резистентности к антимикотическим средствам. *Успехи медицинской микологии*. 2019; 20: 706–711. eLIBRARY ID: 38171260.

20. Хайтович А. Б., Гаффарова А. С. Факторы патогенности *Candida albicans* и определение их генных детерминант. *Таврический медицинский биологический вестник*. 2016; 19 (3): 121–126. eLIBRARY ID: 27687028.

21. Ленченко Е. М. Морфофункциональные свойства и популяционная изменчивость иерсиний, поражающих сельскохозяйственных животных, в зависимости от температурного фактора. *Сельскохозяйственная биология*. 1996; 6: 88–95.

23. Елинов Н. П. Новое в таксономии *Candida* species (лекция). *Проблемы медицинской микологии*. 2010; 12 (3): 3–9. Режим доступа: http://www.rusmedserv.com/mycology/html/mapo_3_2010.pdf.

REFERENCES

- Moroz A. F., Snegireva A. E. Methodical recommendations. Fungi of the genus *Candida* (methods of isolation, identification at the species level and determination of sensitivity to antifungal drugs) [Metodicheskie rekomendacii. Griby roda *Candida* (metody vydeleniya, identifikacii na vidovom urovne i opredelenie chuvstvitel'nosti k protivogribovym preparatam)]: approved by the Director of NIIE, after N. F. Gamalei RAMS 20.04.2009. M.; 2009; 58 p. Available at: <http://www.himedialabs.ru/download/fungal.pdf>. (in Russian)
- Sutton D., Fothergill A., Rinaldi M. Identifier of pathogenic and opportunistic fungi [Opredelitel' patogennyh i uslovno patogennyh gribov]: trans. from English K. L. Tarasova, Yu. N. Kovaleva; ed. by I. R. Dorozhkova. M.: Mir; 2001. 468 p. (in Russian)
- Agoltsov V. A. Candidiasis, aspergillosis and animal mucorosis (diagnosis and control measures) [Kandidoz, aspergillez i mukoroz zhivotnyh (diagnostika i mery bor'by)]: Author's abstract. thesis ... Doctor of Sciences (Vet. Med.). N. Novgorod; 2006. 50 p. Available at: <http://disus.ru/r-raznoe/272146-1-kandidoz-aspergillez-mukoroz-zhivotnih-diagnostika-meri-borbi.php>. (in Russian)
- Lysuho T. N. Visceral candidiasis of piglets: epizootic features, clinical and pathomorphological manifestations, treatment and prophylactic measures [Visceral'nyj kandidamikoz porosyat: epizooticheskie osobennosti, klinicheskie i patomorfologicheskie proyavleniya, lechenno-profilakticheskie meropriyatiya]: Author's abstract. thesis ... Cand. of Sciences (Vet. Med.). Stavropol; 2001. 18 p. Available at: https://rusneb.ru/catalog/000200_000018_RU_NLR_bibl_560584/viewer. (in Russian)

5. Sebyakov Ye. V. Structural and functional characteristics of fungi of the genus *Candida* and pathogenetic features of candidiasis in farm animals [Strukturno-funktsional'naya kharakteristika gribov roda *Candida* i patogeneticheskie osobennosti kandidamikoza sel'skokozyajstvennykh zhivotnykh]: Author's abstract. thesis ... Doctor of Sciences. (Vet. Med.). M.; 1991. 51 p. Available at: https://rusneb.ru/catalog/000199_000009_000347294/viewer/?page=8. (in Russian)
6. Du J., Wang X., Luo H. Epidemiological investigation of non-albicans *Candida* species recovered from mycotic mastitis of cows in Yinchuan, Ningxia of China. *BMC Vet. Res.* 2018; 14:251. DOI: 10.1186/s12917-018-1564-3.
7. Sachivkina N., Lenchenko E. M., Lyseizev A. V. Diagnostic of swine candidiasis. *Veterinariya.* 2018; 11: 26–30. DOI: 10.30896/0042-4846.2018.21.11.26-30. (in Russian)
8. Apanasenko N. A. Specific therapy and prevention of cutaneous candidiasis of carnivores [Specificheskie terapiya i profilaktika kozhnogo kandidoza plotoyadnykh zhivotnykh]: Author's abstract, thesis ... Cand. of Sciences (Vet. Med.). M.; 2010. 24 p. Available at: https://rusneb.ru/catalog/000199_000009_004613111/viewer. (in Russian)
9. Bessarabov B. F., Vashutin A. A., Voronin Ye. S., et al. Infectious diseases of animals [Infektsionnye bolezni zhivotnykh]. Ed. by A. A. Sidorchuk. M.: KolosS; 2007. 671 p. Available at: https://www.studmed.ru/view/bessarabov-bf-vashutin-aa-voronin-es-i-dr-infektsionnye-bolezni-zhivotnykh_30a18b3684f.html?page=1. (in Russian)
10. Asfaw M., Dawit D. Review on major fungal disease of poultry. *British J. Poultry Sci.* 2017; 6 (1): 16–25. DOI: 10.5829/idosi.bjps.2017.16.25.
11. Laffey S. F., Butler G. Phenotype switching affects biofilm formation by *Candida parapsilosis*. *Microbiology.* 2005; 151 (Pt 4): 1073–1081. DOI: 10.1099/mic.0.27739-0.
12. Lenchenko E. M., Blumenkrants D. A. Study of biofilms of enterobacteria appeared in animals with alimentary diseases. *Veterinariya.* 2020; 1: 25–29. DOI: 10.30896/0042-4846.2020.23.1.25-29. (in Russian)
13. Ruiz A. C., Calderón D. M., Gómez J. E. Molecular variation of *Candida* spp. isolates using Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD), from women in Armenia, Colombia. *Infectio.* 2009; 13 (1): 21–35. DOI: 10.1016/S0123-9392(09)70140-7.
14. Kaneko Y., Miyagawa S., Takeda O., Hakariya M., Matsumoto S., Ohno H., et al. Real-time microscopic observation of *Candida* biofilm development and effects due to micafungin and fluconazole. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2013; 57 (5): 2226–2230. DOI: 10.1128/AAC.02290-12.
15. Lenchenko E. M., Mansurova E. A., Motorygin A. V. Characterization of toxigenic *Enterobacteriaceae* from farm animals with gastrointestinal diseases. *Agricultural Biology [Sel'skokhozyaistvennaya biologiya]*. 2014; 2: 94–104. DOI: 10.15389/agrobiology.2014.2.94rus. (in Russian)
16. Lenchenko E., Lozovoy D., Strizhakov A., Vatnikov Yu., Byakhova V., Kulikov Eu., et al. Features of formation of *Yersinia enterocolitica* biofilms. *Vet. World.* 2019; 12 (1): 136–140. DOI: 10.14202/vetworld.2019.136-140.
17. Lenchenko E., Blumenkrants D., Sachivkina N., Shadrova N., Ibragimova A. Morphological and adhesive properties of *Klebsiella pneumoniae* biofilms. *Vet. World.* 2020; 13 (1): 197–200. DOI: 10.14202/vetworld.2020.197-200.
18. Mannapova R. T., Shajhulov R. R. Dynamics of *Lactobacillus* spp. against the backdrop of candidiasis in the digestive tract of geese. *Materials of the International Conference: Scientific Research of the SCO Countries: Synergy and Integration.* Beijing: PRC; 2018. 248–252.
19. Manoyan M. G., Sokolov V. V., Gursheva A. S., Gabuzyan N. A., Panin A. N. Assessment of the risks of antimycotic drug resistance [Ocenka riskov vozniknoveniya rezistentnosti k antimikoticheskim sredstvam]. *Advances in Medical Mycology.* 2019; 20: 706–711. eLIBRARY ID: 38171260. (in Russian)
20. Khaitovich A. B., Gaffarova A. S. Pathogenicity factors of *Candida albicans* and determination of their genes. *Tavrisheskiy Mediko-Biologicheskii Vestnik.* 2016; 19 (3): 121–126. eLIBRARY ID: 27687028. (in Russian)
21. Lenchenko E. Morphofunctional properties and population variability of *Yersinia* affecting farm animals, depending on the temperature factor [Morfofunktsional'nye svoystva i populyatsionnaya izmenchivost' iersinij, porazhayushchih sel'skokozyajstvennykh zhivotnykh, v zavisimosti ot temperaturnogo faktora]. *Agricultural Biology [Sel'skokhozyaistvennaya biologiya]*. 1996; 6: 88–95. (in Russian)
22. Lenchenko E. M., Vatnikov Yu. A., Kulikov E. V., Lozovoy D. A., Gavrilov V. A., Gnezdilova L. A., et al. Aspects of Salmonellosis pathogenesis using chicken models. *Bali Med. J.* 2019; 8 (1): 206–210. DOI: 10.15562/bmj.v8i1.920.
23. Yelinov N. P. News in *Candida* species taxonomy (lecture). *Problems in Medical Mycology.* 2010; 12 (3): 3–9. Available at: http://www.rusmedserv.com/mycology/html/mapo_3_2010.pdf. (in Russian)
24. Treviño-Rangel R. de J., González G. M., Martínez-Castilla A. M., García-Juárez J., Robledo-Leal E. R., González J. G., et al. *Candida parapsilosis* complex induces local inflammatory cytokines in immunocompetent mice. *Med. Mycol.* 2015; 53 (6): 612–621. DOI: 10.1093/mmy/myv021.
25. Sachivkina N., Lenchenko E., Strizhakov A., Zimina V., Gnesdilova L., Gavrilov V., et al. The evaluation of intensity of formation of biomembrane by microscopic fungi of the *Candida* genus. *Int. J. Pharmaceutical Res.* 2018; 10 (4): 738–744. DOI: 10.31838/ijpr/2018.10.04.128.
26. Wu Y., Min F., Pan J., Wang J., Yuan W., Zhang Yu., et al. Systemic *Candida parapsilosis* infection model in immunosuppressed ICR mice and assessing the antifungal efficiency of Fluconazole. *Vet. Med. Int.* 2015; 2015:370641. DOI: 10.1155/2015/370641.
27. ATCC: The Global Bioresource Center. Available at: <https://www.lgcstandards-atcc.org>.
28. Chandra J., Mukherjee P. K. *Candida* Biofilms: Development, Architecture, and Resistance. *Microbiol. Spectr.* 2015; 3 (4). DOI: 10.1128/microbiolspec.MB-0020-2015.
29. Chandra J., Kuhn D. M., Mukherjee P. K., Hoyer L. L., McCormick T., Ghannoum M. A. Biofilm formation by the fungal pathogen *Candida albicans*: development, architecture, and drug resistance. *J. Bacteriol.* 2001; 183 (18): 5385–5394. DOI: 10.1128/jb.183.18.5385-5394.2001.

Поступила 09.03.2020

Принята в печать 12.05.2020

Received on 09.03.2020

Approved for publication on 12.05.2020

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Ленченко Екатерина Михайловна, доктор ветеринарных наук, профессор кафедры ветеринарной медицины Московского государственного университета пищевых производств, г. Москва, Россия.

Сачивкина Надежда Павловна, кандидат биологических наук, доцент кафедры микробиологии и вирусологии медицинского института Российского университета дружбы народов, г. Москва, Россия.

Ekaterina M. Lenchenko, Doctor of Science (Veterinary Medicine), Professor, Department of Veterinary Medicine, Moscow State University of Food Production, Moscow, Russia.

Nadezda P. Sachivkina, Candidate of Science (Biology), Associate Professor, Department of Microbiology and Virology, Medical Institute, Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russia.