

Кандидоз желудочно-кишечного тракта свиней

Е.О. Рысцова, к.с.-х.н., ФГАОУ ВО РУДН; **Т.С. Кубатбеков**, д.б.н., профессор, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА; **Н.П. Сачивкина**, к.б.н., **Е.В. Куликов** к.б.н., **О.В. Березняк**, магистрант, ФГАОУ ВО РУДН

Свиноводство в Российской Федерации является динамично развивающейся отраслью животноводства [1–4]. При этом заболеваемость микозами ежегодно растёт в связи с содержанием животных на ограниченных площадях, увеличением числа и спектра патогенных убиквитарных микроорганизмов, распространением иммунодефицитных состояний, возросшего числа вирусных и бактериальных инфекций, безразборным приёмом антибиотиков и т.д. [5, 6]. Множество патогенных грибов, а также дрожжеподобные грибы рода *Candida*, принадлежат к 4-й группе – условно-патогенных. В большинстве случаев кандидоз вызывают такие представители рода *Candida* как *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. krusei*. Чаще всего они выглядят под микроскопом в виде почкующихся клеток, некоторые имеют псевдомицелий.

C. albicans – паразитирующий грибок, имеющий возможность образовывать как истинный мицелий, так и псевдомицелий с хламидоконидиями. Этот грибок наиболее распространён в организме животных [7, 8], причём одним из уязвимых мест локализаций при развитии кандидоза служит желудочно-кишечный тракт (ЖКТ). Ситуацию могут усугублять острые и хронические заболевания слизистой ротовой полости, болезни ЖКТ (хронические гастриты, воспалительные заболевания кишечника, синдром раздражённого кишечника, травматизация слизистой оболочки), приём антибиотиков, которые ликвидируют все бактерии, в том числе и здоровую микрофлору пищеварительного тракта [9, 10].

Патогенез кандидоза ЖКТ патологии определяется соотношением факторов патогенности микроорганизма и снижением резистентности макроорганизма. Патогенность *C. Albicans* определяют следующие факторы [11]:

- изменчивость за счёт генетических и регуляторных механизмов: полиморфизм, «феномен переключения»;

- способность к грибковой адгезии: к фибриногену, ламинину, фибронектину, системе комплимента;

- активные протеиназы, фосфолипаза, гиалуронидаза, гемолитический фактор, благодаря которым грибы проникают сквозь защитный гликопротеиновый слой слизистой оболочки ЖКТ.

По наличию факторов патогенности *C. albicans* превосходит все прочие виды *Candida*. Анализ генетических детерминант некоторых штаммов *C. albicans* показал широкую распространённость генов резистентности к препаратам-антимикотикам [11–12]. Доказано существование 10 генов, секретирующих аспартат-протеиназы (*SAP1–4*, *SAP6 7*, *SAP9–10* и др.), ведущих к прогрессированию заболевания. Неспецифическая резистентность ЖКТ представлена в основном иммунной системой, ассоциированной с кишечником. Интраэпителиальные лимфоциты, препятствующие проникновению *Candida* через *lamina propria* и агрегации в пейеровых бляшках, а также В-лимфоциты кишечника – продуценты секреторных *IgA* и *IgM*, которые блокируют способность грибов к адгезии, составляют клеточную часть этой системы. Т-клетки вырабатывают интерферон, усиливают фагоцитоз, активируют Т-цитотоксические лимфоциты. *CD4* и *CD8* участвуют в реакциях местного иммунитета. Фагоцитоз (макрофагальный и нейтрофильный) препятствует диссеминации кандидоза инфекции. Нейтрофилы благодаря собственной «киллерной» субстанции через специфический механизм запускают активацию комплемента, который усиливает фагоцитоз [11, 13]. Защитными факторами, препятствующими проникновению грибов *Candida*, становятся также физиологически протекающие процессы в ЖКТ полноценная регенерация эпителиоцитов, кислотно-ферментативный барьер, достаточная перистальтическая активность. Значительную роль, снижающую неспецифическую резистентность, играет длительная кислото-супрессия в желудке. В этих условиях появляются вегетирующие формы, *Candida* активирует патогенные свойства, образуется псевдомицелий или мицелий, повреждающий слизистую оболочку.

Представители постоянной микрофлоры желудочно-кишечного тракта (аэробные лактоба-

циллы, анаэробные бифидум-бактерии, нормальная кишечная палочка и др.), которые выполняют барьерную функцию, уменьшают возможность кандид к инактивации лизоцима и образованию биопленки. Выражается кандидоз ЖКТ тем, что рост дрожжеподобных грибов зачастую наблюдается в многослойном плоском эпителии полости рта и пищевода, менее всего — в однослойном цилиндрическом эпителии кишечника. В верхних отделах ЖКТ происходит инвазия грибов *Candida*, а в нижних отделах — колонизация. При этом в кишечнике даже на стадии адгезии могут наблюдаться клинические проявления неинвазивного кандидоза.

В клинической практике оптимальной является классификация кандидоза по локализации и уровню (глубине) поражения. Кандидоз ЖКТ относят к глубоким микозам и выделяют перечисленные ниже локализации:

- орофарингеальный кандидоз;
- кандидозный эзофагит;
- кандидоз желудка;
- кандидоз тонкого и толстого отделов кишечника;
- секреторная диарея, ассоциированная с кандидозом.

Среди осложнений кандидоза выделяют кишечную перфорацию, пенетрацию язв в окружающие ткани и системы, кровотечения, генерализации с поражением паренхиматозных органов и развитием грибкового сепсиса.

Исследование проведено с целью определения отделов ЖКТ свиней, в которых превалирует обнаружение кандид, выявления их видовой принадлежности.

Материал и методы исследования. На станции по борьбе с болезнями животных Северного административного округа г. Москвы за период 2018 — май 2019 гг. были исследованы туши свиней с признаками грибкового заболевания ЖКТ. Осмотр и оценка органов и тканей ЖКТ были произведены специалистами согласно «Правилам ветеринарного осмотра убойных животных и ветеринарно-санитарной экспертизы мяса и мясных продуктов» (утв. Минсельхозом СССР 27.12.1983 г. в ред. от 16.02.2018 г.).

Лабораторную диагностику туши на наличие инфекционных агентов проводили согласно «Порядку санитарно-микробиологического контроля при производстве мяса и мясных продуктов» (утв. Минсельхозпродом России 15.12.1995). Обращали внимание на случаи, когда в ротовой полости слизистая оболочка была покрыта белой рыхлой пленкой; слизистая пищевода покрыта толстым белым налётом, который легко снимается, наблюдается катарально-геморрагическое воспаление; в желудке на стенках находится серовато-жёлтая плёнка, под которой обнаруживается гиперемия слизистой оболочки; в тонком отделе кишечника слизистая оболочка утолщена, набухшая, отёчная,

гиперемированная, с кровоизлияниями и покрыта творожисто-подобными наложениями или слизью; пейеровы бляшки и солитарные фолликулы увеличены; слизистая оболочка толстого отдела набухшая, с белым рыхлым налётом, а под ним — кровоизлияния и изъязвления, иногда покрыта слизью, фибринозными плёнками, с некротическими участками. Особое внимание привлекали увеличенные лимфатические узлы органов брюшной полости, а именно желудочные и брыжеечные.

Желудочные лимфатические узлы (Inn. Gastrici) — один — пять, разной величины, лежат на малой кривизне желудка. Лимфу собирают с желудка, поджелудочной железы, пищевода. Отток лимфы осуществляется в чревный ствол.

Брыжеечные лимфатические узлы (Inn. Mesenteriales) лежат в виде цепи из большого количества узлов в брыжейке всей тонкой кишки, между извилинами ободочной кишки и в короткой брыжейке прямой кишки. Лимфу собирают с соответствующих отделов тонких и толстых кишок, с поджелудочной железы. Отток лимфы осуществляется в поясничную цистерну.

Для уточнения характера заболевания осуществляли микроскопию тканей с разрезов лимфоузлов, фрагментов творожистых наложений со слизистых оболочек с окраской гематоксилин-эозином или генцианвиолетом. Забор материала со слизистых оболочек осуществляли стерильными ватными тампонами. Посев производили на агаризированную среду Сабуро, содержащую 2-процентную глюкозу и хлорамфеникол. Чашки Петри инкубировали при $t=35^{\circ}\text{C}$ в течение четырёх суток, ежедневно просматривая их. При появлении роста проводили микроскопию по Граму, выделение чистой культуры и видовую идентификацию — с помощью масс-спектрометра MALDI-TOF (Bruker Daltonics, США) в соответствии с протоколом исследования компании Bruker). Культуру каждого штамма *Candida spp.* суспендировали сначала в 300 мкл деионизированной воды, затем добавляли 900 мкл 100-процентного этанола, встряхивали и центрифугировали (15000 об., 2 мин). Надосадочную жидкость сливали и центрифугировали при тех же показателях. К осадку добавляли по 50 мкл 70-процентной муравьиной кислоты и ацетонитрила, перемешивали и снова центрифугировали (15000 об., 2 мин). Супернатант парно наносили по 1 мкл на 96-местную стальную пластину, сушили при комнатной температуре и затем наносили по 1 мкл матрицы (насыщенный раствор α -циано-4-гидроксикоричной кислоты).

Результаты исследования. Из исследованных нами туш свиней в выбранный период времени было доказано 47 случаев кандидоза ЖКТ, причём грибы *Candida spp.* были выделены из ротовой полости в 28% ($n=13$) случаев, в тонком отделе кишечника — 49% ($n=23$) и в толстом отделе кишечника — 23% ($n=11$). Частота встречаемости

дрожжеподобных грибов рода *Candida* в тканях и органах иммунной системы коррелировала с выявлением этого возбудителя в пищеварительном тракте. В лимфоузлах отмечали диссеминированный тромбоз, периваскулярный отёк, признаки застойной гиперемии. Как правило, отмечалась гиперплазия лимфатических узлов, пейеровы бляшки и солитарные фолликулы были набухшие, серо-красного цвета. Мезентериальные и брыжеечные лимфатические узлы на разрезе были серо-красного, тёмно-бордового цвета, с мелкими кровоизлияниями (рис. 1); между корковой и мозговой зоной не выявляли чётко очерченных границ. Корковое вещество имело тёмную окраску, обнаруживались близкорасположенные лимфоциты, объём ядра преобладал над объёмом цитоплазмы. Мозговое вещество светлое, лимфоциты имели бобовидные ядра и широкий ободок цитоплазмы, в строме — участки разрежения, а также скопления плазматических клеток.

Для обнаружения возбудителя болезни проводили микроскопические исследования фрагментов творожистых наложений со слизистых оболочек и срезов лимфатического узла, сделанных микрономом. При окрашивании генцианвиолетом отчётливо различались крупные овальные дрожжевидные клетки, иногда псевдомицелий, и отторгнутые, дистрофически изменённые клетки.

Культуральный микологический метод основан на посеве биоматериалов со слизистых оболочек на среду Сабуро с дальнейшим поэтапным выделением чистой культуры. В настоящее время в арсенале современных лабораторий имеется несколько диагностических систем для определения видовой принадлежности грибов — от культуральных и биохимических до молекулярно-генетических. Однако при идентификации *Candida spp.* методами *MALDI-TOF MS* результаты получают достаточно быстро и менее трудоёмко.

В результате идентификации частота выделения *C. albicans* составляла 81% ($n=38$), далее следовали *C. parapsilosis* — 9% ($n=4$), *C. tropicalis* — 4% ($n=2$), *C. glabrata* — 2% ($n=1$). Также была зарегистрирована сочетанная контаминация *albicans* — *parapsilosis* и *albicans* — *glabrata* по одному случаю (по 2%).

Выводы. При микробиологическом мониторинге, проведённом в течение 2018—2019 гг., установлено, что случаи диагностирования кандидоза

разных отделов пищеварительного тракта свиней были зафиксированы и в ротовой полости (28%), и в тонком (49%), и в толстом отделах кишечника (23%). Причём преобладало выделение вида *C. albicans* (81%). Специалистами было принято решение: поскольку кандидоз не относится к категории особо опасных инфекций и законодательных нормативов по распределению таких туш нет, то с мясом следует поступить как в случаях с аспергиллёзом. А именно, все внутренние органы были утилизированы, а мясо в виде полутуши было отправлено на реализацию.

Литература

1. Перевойко Ж.А., Косилов В.И. Основные биохимические показатели крови хряков и свиноматок крупной белой породы // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. 2014. № 5 (49). С. 196—199.
2. Косилов В.И., Перевойко Ж.А. Воспроизводительные качества свиноматок крупной белой породы при сочетании с хряками разных линий // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. 2014. № 6 (50). С. 122—127.
3. Перевойко Ж.А., Косилов В.И. Воспроизводительная способность свиноматок крупной белой породы и её двух-трёхпородных помесей // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. 2014. № 6 (50). С. 161—163.
4. Косилов В.И., Перевойко Ж.А. Биохимические показатели сыворотки крови молодняка свиней крупной белой породы разных генотипов // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. 2015. № 3 (53). С. 194—196.
5. Сергеев А.Ю., Сергеев Ю.В. Кандидоз. Природа инфекции, механизмы агрессии и защиты, лабораторная диагностика, клиника и лечение. М.: Триада-Х, 2001. 472 с.
6. Сачивкина Н.П. Влияние микробного фермента литиказы на развитие экспериментального кандидозного вагинита: дис. ... канд. биол. наук. М., 2010. 117 с.
7. Abdullahi, Umar Faruk. Intrigues of biofilm: A perspective in veterinary medicine / Veterinary Worl. 2016. 9(1): 12—18.
8. Сачивкина Н.П., Ленченко Е.М., Лисейцев А.В. Диагностика кандидоза у свиней // Ветеринария. 2018. № 11. С. 26—30.
9. Карамян А.С., Савочкина А.Ю., Ватников Ю.А. НПВП-индуцированные гастроэнтеропатии // Международный научно-исследовательский журнал. 2016. № 11—5 (53). С. 24—26.
10. Чеботарь И.В., Паршиков В.В. Исследование действия антимикотических препаратов на биопленки, сформированные грибами рода *Candida* // Акушерство и гинекология. 2013. № 5. С. 98—102.
11. Козлова И.В. Кандидоз желудочно-кишечного тракта /И.В. Козлова, Л.И. Лекарева, А.П. Быкова [и др.] // Экспериментальная клиническая гастроэнтерология. 2016. № 3 (127). С. 40—46.
12. Ramage G., Vande Walle K., Wickes B.L., Lopez-Ribot J.L. Standardized method for in vitro antifungal susceptibility testing of *Candida albicans* biofilms. Antimicrob. Agents Chemother. 2001. 45(9): 2475—2479.
13. Бурова С.А. Современные представления о кандидозе пищеварительного тракта // Успехи медицинской микологии. 2006. № 8. С. 113—116.