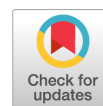


СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА РАЗНЫХ БИОЛОГИЧЕСКИХ МОДЕЛЕЙ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПАТОГЕННЫХ СВОЙСТВ НЕКОТОРЫХ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ВНЕБОЛЬНИЧНЫХ ПНЕВМОНИЙ



А.С. Анисимова, Н.В. Аронова, М.В. Цимбалистова, Н.В. Павлович, А.С. Левченко

ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ростов-на-Дону, Россия

Резюме. В последние годы представляет интерес поиск альтернативных, так называемых суррогатных, моделей для изучения биологических свойств различных микроорганизмов. Целью настоящей работы была оценка применения личинок *Galleria mellonella* для определения патогенного потенциала возбудителей внебольничных пневмоний по сравнению с моделью лабораторных животных (белые мыши). Все исследованные штаммы были выделены из мокроты больных на базе ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора и идентифицированы методом времяпролетной масс-спектрометрии. Вирулентность штаммов оценивали при экспериментальной инфекции белых мышей и личинок *G. mellonella* при заражении различными концентрациями микробов (КОЕ/мл). Как установлено, гипермукоидный вариант клебсиелл вызывал гибель белых мышей в дозе $\leq 10^3$ КОЕ/мышь, тогда как классический морфотип был апатогенным даже в дозе 10^6 КОЕ/мышь. В то же время при инфицировании личинок двумя морфотипами достоверной разницы в патогенности исследуемых морфотипов выявить не удалось. Клинические изоляты семейства *Enterobacteriaceae* не вызывали заболевания у белых мышей даже при дозе заражения 10^6 КОЕ/мышь. При этом *E. coli* и *E. kobei* обуславливали летальный процесс у (90%) *G. mellonella*. Исключение составил *E. cloacae*, который вызывал гибель лишь у 10% особей. В отличие от модели белых мышей такие редко изолируемые условно-патогенные бактерии, как *Stenotrophomonas maltophilia*, *Chryseobacterium gleum*, *Rhizobium radiobacter*, *Pantoea agglomerans*, вызывали 100% гибель личинок. Изучение вирулентности разных видов стафилококков показало, что *S. aureus* и *S. haemolyticus* обладали высоким патогенным потенциалом для личинок, тогда как *S. epidermidis* и *S. saprophyticus* характеризовались достоверно меньшей способностью вызывать инфекцию. При использовании суррогатной модели на клинических изолятах различных видов грибов обнаружено, что наибольшей патогенностью для личинок характеризовались *C. albicans*, *C. tropicalis* и *G. capitatum*, а *C. glabrata* и *C. krusei*, рассматриваемые как более инвазивные виды, вызывали лишь частичную гибель группы особей в отдаленные сроки. Таким образом, изучение патогенности различных видов микроорганизмов требует подбора наиболее адекватной биологической модели.

Ключевые слова: *Galleria mellonella*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus spp.*, дрожжи, дрожжеподобные грибы, патогенность, биомодели.

Адрес для переписки:

Анисимова Анастасия Сергеевна
344002, Россия, г. Ростов-на-Дону, ул. Максима Горького, 117/40,
ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт
Роспотребнадзора.
Тел.: 8 928 177-17-10.
E-mail: anisimova_as@antiplague.ru

Contacts:

Anastasiya S. Anisimova
344002, Russian Federation, Rostov-on-Don,
Maxim Gorky str., 117/40, Rostov-on-Don Anti-Plague
Institute of Rospotrebnadzor.
Phone: +7 928 177-17-10.
E-mail: anisimova_as@antiplague.ru

Для цитирования:

Анисимова А.С., Аронова Н.В., Цимбалистова М.В., Павлович Н.В.,
Левченко А.С. Сравнительная оценка разных биологических моделей
для определения патогенных свойств некоторых возбудителей
внебольничных пневмоний // Инфекция и иммунитет. 2025. Т. 15, № 5.
С. 881–887. doi: 10.15789/2220-7619-CAB-17905

Citation:

Anisimova A.S., Aronova N.V., Tsimbalistova M.V., Pavlovich N.V., Levchenko A.S.
Comparatively assessed biological models for determining the pathogenic
properties of certain pathogens causing community-acquired pneumonia //
Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2025, vol. 15,
no. 5, pp. 881–887. doi: 10.15789/2220-7619-CAB-17905

COMPARATIVELY ASSESSED BIOLOGICAL MODELS FOR DETERMINING THE PATHOGENIC PROPERTIES OF CERTAIN PATHOGENS CAUSING COMMUNITY-ACQUIRED PNEUMONIA

Anisimova A.S., Aronova N.V., Tsimbalistova M.V., Pavlovich N.V., Levchenko A.S.

Rostov-on-Don Anti-Plague Institute of Rospotrebnadzor, Rostov-on-Don, Russia

Abstract. In recent years, it has been of interest to search for alternative, so-called surrogate models to investigate bacterial pathogenicity. The current work was aimed at comparing two biological models (using white mice and *Galleria mellonella* larvae) to evaluate the pathogenic potential of community-acquired pneumonia agents. All the studied strains were isolated from the sputum of patients at the Rostov-on-Don Anti-Plague Institute of Rospotrebnadzor and identified by time-of-flight mass spectrometry. The virulence of the pathogen strains was evaluated when white mice and *G. mellonella* larvae were experimentally infected by microbes at various doses (CFU/ml). It was found that the hypermucoid variant of *Klebsiella pneumoniae* caused death of white mice at a dose of $< 10^3$ CFU/mouse, whereas the classical morphotype was apathogenic even at a dose of 10^6 CFU/mouse. At the same time, when the larvae were infected with two morphotypes, no difference in pathogenicity was observed. Other clinical isolates of the Enterobacteriaceae family caused no disease in white mice even at an infection dose of 10^6 CFU/mouse. However, *E. coli* and *E. kobei* caused the lethal process in (90%) in *G. mellonella* larvae. The exception was *E. cloacae*, which caused death in as few as 10% of individuals. In contrast to white mice, 100% of larvae died upon infection with *Stenotrophomonas maltophilia*, *Chryseobacterium gleum*, *Rhizobium radiobacter*, and *Pantoea agglomerans*. The virulence study of different staphylococcal species showed that *S. aureus* and *S. haemolyticus* had a high pathogenic potential for larvae, whereas *S. epidermidis* and *S. saprophyticus* were characterized by significantly lower potential to cause infection. In the surrogate model, clinical isolates of various fungal species: *C. albicans*, *C. tropicalis*, and *G. capitatum* — were most pathogenic for larvae, whereas *C. glabrata* and *C. krusei*, known as most invasive species, caused the delayed death of several individuals. Thus, the pathogenicity study of various microbial species requires to choose most appropriate biological model.

Key words: *Galleria mellonella*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus spp.*, yeast, yeast-like fungi, pathogenicity, biomodels.

Введение

Патогенность является генетически обусловленным свойством бактерий вызывать инфекционный процесс [7]. Традиционными лабораторными биологическими моделями для изучения патогенных свойств возбудителей инфекционных болезней являются позвоночные, такие как белые мыши, морские свинки, кролики и др. [10]. Однако, их использование в исследованиях связано с этическими вопросами, что является одной из проблем в современном мире.

В 1986 г. в Страсбурге была принята первая европейская конвенция о защите животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях, которая постоянно пересматривается, а регулирование процесса по их использованию в исследованиях становится более жестким [29]. В основу этой программы легли руководящие принципы, известные как «три R»: замена (Replacement), уменьшение (Reduction) и уточнение (Refinement), впервые предложенные Расселом и Берчем в 1959 г. [30]. Эти правила были выдвинуты не только для того, чтобы помочь исследователям в поиске доступных в настоящее время методов, но и для стимулирования разработки новых инструментов и методологий, выражая фундаментальные цели науки [34].

Все работы по экспериментальному заражению биологических моделей требуют разреше-

ний и соответствия руководящим принципам этического обращения с ними, что приводит к значительному удлинению сроков получения результатов [15].

В качестве альтернативы в последние годы все чаще применяются иные, так называемые суррогатные модели [26]. Например, известны различные виды беспозвоночных, которые применяются для исследования взаимодействий хозяин—паразит, в частности, плодовая мушка *Drosophila melanogaster*, нематода *Caenorhabditis elegans* и большая восковая моль *Galleria mellonella* [25]. Следует особо подчеркнуть, что они не имеют болевых рецепторов (ноцицепторов), следовательно, для них не существует ограничительных этических правил [14].

G. mellonella, а точнее ее личинки, в последние годы являются одними из наиболее изучаемых беспозвоночных для различных целей — оценки вирулентности микроорганизмов, антимикробной эффективности лекарственных препаратов (ЛП) и др. [11, 13, 24, 27, 35, 36]. Исследователями отмечено множество преимуществ личинок по сравнению с млекопитающими, а именно: их низкая стоимость и обслуживание; отсутствие специализированного оборудования и помещений; инкубация при 37°C, то есть оптимальной температуре теплокровных хозяев [20, 21, 33]. Более того, они в качестве биологических моделей позволяют получать результаты экспериментов в более короткие сроки [32].

В литературе имеются сведения о широком использовании личинок в качестве модели инфекции для изучения патогенного потенциала бактериальных и грибковых возбудителей *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus* spp., *Candida* spp. и других [12, 16, 23, 28]. Тем не менее сведения о влиянии индивидуальных межштаммовых различий крайне малочисленны. Поэтому, вопрос о том, насколько эта модель адекватна для характеристики различных видов микроорганизмов, изучен недостаточно.

Целью настоящей работы была оценка адекватности применения личинок *Galleria mellonella* по сравнению с моделью лабораторных животных (белые мыши) для определения патогенного потенциала возбудителей внебольничных пневмоний.

Материалы и методы

Все исследованные штаммы были выделены из мокроты больных с внебольничными пневмониями в период с 2020 по 2024 г. на базе ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора с помощью бактериологического метода в соответствии с регламентирующими документами [5, 6].

Видовую идентификацию микроорганизмов проводили методом времяпролетной масс-спектрометрии с матрично-активированной лазерной десорбцией/ионизацией (MALDI-ToF MS) на масс-спектрометре «Autoflexspeed III» (Bruker Daltonics, Германия) с программным обеспечением MALDI Biotyper. Полученные масс-спектры сравнивали с базой данных компании Bruker, версия 3.1.66 (Bruker Daltonics, Германия). Значение показателя Score 2,0–2,3 оценивали как высокую вероятность видовой идентификации. Подготовку образцов для исследования всех видов микроорганизмов, кроме *Candida* spp., выполняли методом прямого нанесения материала на мишень в соответствии с инструкцией к прибору. Для грибов пробоподготовку проводили с помощью экстракции этанолом и муравьиной кислотой [1].

Для индукции инфекционного процесса изучены клинические изоляты *Klebsiella pneumoniae* (классического и гипермукоидного морфотипов), *Enterobacter* spp., *Escherichia coli*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Chryseobacterium gleum*, *Staphylococcus* spp., *Candida* spp., *Geotrichum capitatum* и других редковстречающихся патогенов (*Rhizobium radiobacter*, *Pantoea agglomerans*).

Для эксперимента были использованы суточные культуры микроорганизмов, выращенных на соответствующих питательных средах при температуре 37°C в течение 24 часов.

Вирулентность отобранных штаммов оценивали на традиционной модели эксперимен-

тальной инфекции белых мышей при внутрибрюшинном заражении в дозе 10^3 и 10^6 КОЕ/животное (по 4 мыши на каждую концентрацию) и оценивали по степени гибели животных. В случае гибели от заражающей дозы 10^3 КОЕ/животное культуру рассматривали как вирулентную, а при отсутствии гибели от заражающей дозы 10^6 КОЕ/животное — как слабовирулентную (авирулентную). Протоколы работы с животными одобрены комиссией по биоэтике ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора (протоколы № 14 от 08.12.2022 г., № 10 от 10.10.2023 г., № 2 от 17.01.2024 г., № 9 от 02.04.2024 г., № 13 от 14.05.2024 г.).

Стандартизированных по весу и цвету личинок *G. mellonella* хранили в темноте при 4°C. Для экспериментов отбирали особей массой около 250–300 мг без изменения окраски и инкубировали при комнатной температуре в течение 2 часов перед инъекцией, затем помещали в холодильник на 15–20 мин. (для обездвиживания) и обрабатывали место введения 70% этанолом. Инфицирование осуществляли с использованием шприца Hamilton (10 мкл), в объеме 5–10 мкл бактериальной взвеси в различных концентрациях (КОЕ/мл), а зараженных личинок помещали в чашки Петри, инкубировали при 37°C. Гибель контролировали ежедневно в течение 5–6 дней. Контролем служили группы интактных личинок, которым вводили 5–10 мкл стерильного физиологического раствора [8].

Профили выживаемости *G. mellonella* определяли с использованием критерия логарифмического ранга и графиков выживаемости Каплана–Мейера. Результаты считались статистически значимыми при $p < 0,05$ [4].

Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью Z-теста и критерия хи-квадрат Пирсона. Достоверными считали различия при $p < 0,05$ [4].

Результаты

Проведено сравнительное изучение использования разных биологических моделей для оценки патогенного потенциала клинических изолятов различных видов микроорганизмов.

Ранее нами было отмечено, что большинство гипермукоидных вариантов *K. pneumoniae* обладали достоверно более высокой вирулентностью для белых мышей ($DCL \leq 10^3$ КОЕ/мышь), чем классические, которые не вызывали гибели животных даже при заражении 10^6 КОЕ/мышь ($p < 0,05$) [2]. В то же время представляло интерес изучить патогенность этих же клинических изолятов для другой, так называемой суррогатной, модели — *G. mellonella*. Как уста-

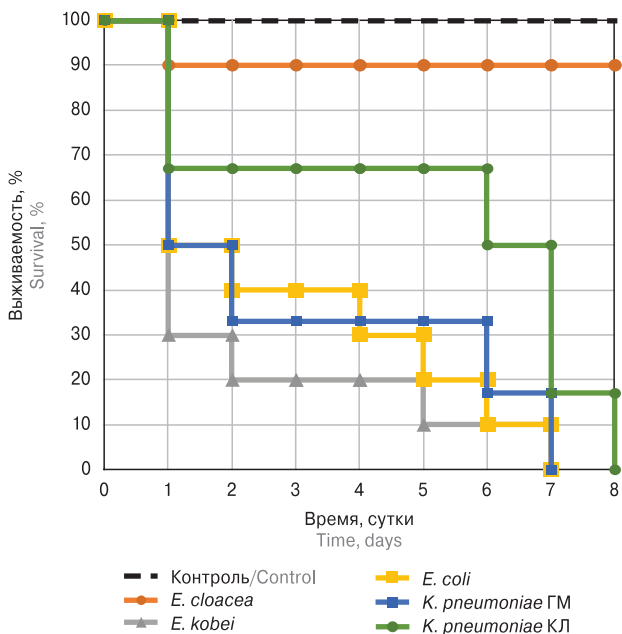


Рисунок 1. Кривая выживаемости личинок экспериментальных групп, зараженных суспензиями штаммов представителей семейства *Enterobacteriaceae* (10^6 КОЕ/личинку). Метод Каплана–Мейера

Figure 1. Survival curve of larvae of experimental groups infected with suspensions of strains of representatives of the *Enterobacteriaceae* family (10^6 CFU/larva). The Kaplan–Meyer method

The Kaplan–Meyer method

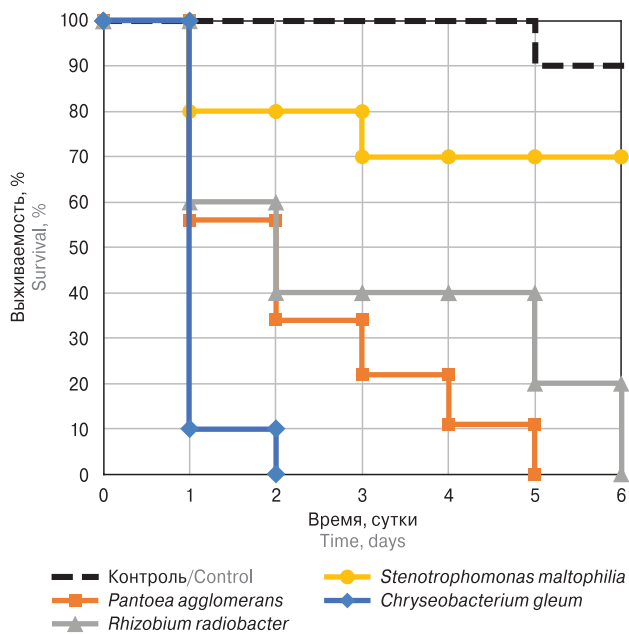


Рисунок 2. Кривая выживаемости личинок экспериментальных групп, зараженных суспензиями штаммов редких патогенов (10^6 КОЕ/личинку). Метод Каплана–Мейера

Figure 2. Survival curve of larvae of experimental groups infected with suspensions of rare pathogen strains (10^6 CFU/larva). The Kaplan–Meyer method

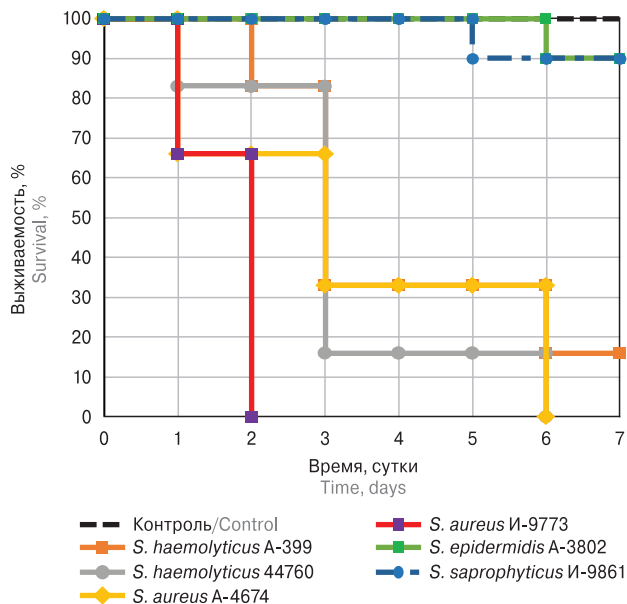


Рисунок 3. Кривая выживаемости личинок групп особей, зараженных суспензиями штаммов *S. haemolyticus*, *S. aureus*, *S. saprophyticus* и *S. epidermidis* (10^6 КОЕ/личинку). Метод Каплана–Мейера

Figure 3. Survival curve of larvae of groups of individuals infected with suspensions of *S. haemolyticus*, *S. aureus*, *S. saprophyticus* and *S. epidermidis* strains (10^6 CFU/larva). The Kaplan–Meyer method

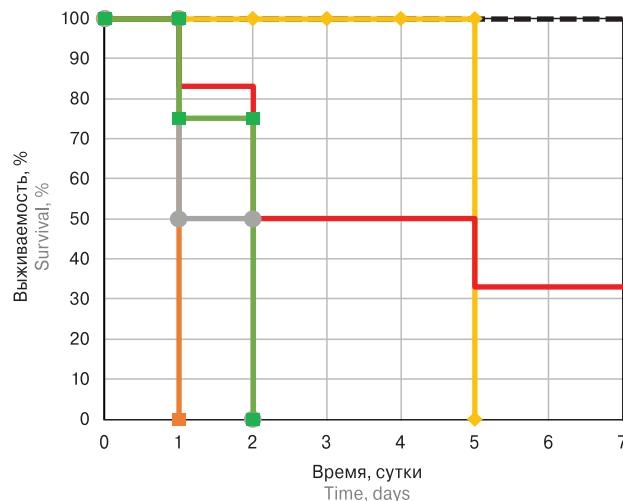


Рисунок 4. Кривая выживаемости групп особей, зараженных суспензиями штаммов грибов (10^6 КОЕ/личинку). Метод Каплана–Мейера

Figure 4. Survival curve of groups of individuals infected with suspensions of fungal strains (10^6 CFU/larva). The Kaplan–Meyer method

новлено, при инфицировании личинок двумя вариантами клебсиелл в дозах 10^4 – 10^7 КОЕ/личинку достоверной разницы в патогенности исследуемых морфотипов выявить не удалось. Следовательно, для этого вида микроорганизмов результаты оценки их патогенности с использованием белых мышей и личинок существенно отличались. Так, в отличие от авирулентного для белых мышей классического варианта *K. pneumoniae*, эти штаммы обуславливали смертельную инфекцию у *G. mellonella* (рис. 1).

Полученные данные обосновывают целесообразность изучения сопоставимости этих двух биологических моделей для других видов инфекционных агентов, в частности, таких представителей семейства *Enterobacteriaceae* как *E. coli*, *E. cloacae*, *E. kobei* (рис. 1). Как оказалось, изученные клинические изоляты этих видов, выделенные в этиологически значимых количествах от больных, не вызывали заболевания у белых мышей даже при дозе заражения 10^6 КОЕ/мышь. Вместе с тем *E. coli* и *E. kobei* обуславливали летальный процесс у (90%) *G. mellonella* в дозе 10^6 КОЕ/личинку. Исключение составил *E. cloacae*, который вызывал гибель лишь у 10% особей (рис. 1).

В последние годы особую настороженность вызывает возрастающая этиологическая роль возбудителей оппортунистических инфекций, которые на фоне снижения общего иммунного статуса человеческой популяции при коронавирусной инфекции приобрели значимость. Поэтому следующий этап исследования включал изучение патогенного потенциала этих микроорганизмов (*S. maltophilia*, *Chryseobacterium gleum*, *Rhizobium radiobacter*, *Pantoea agglomerans*), патогенность которых изучена недостаточно. Выявлено, что если эти виды апатогенны для белых мышей, то они способны вызывать 100% гибель личинок моли (исключение составил *S. maltophilia*, который вызывал гибель только у 30% особей) (рис. 2).

Учитывая тот факт, что разные виды стафилококков занимали значительную долю в этиологической структуре возбудителей ВП, представлялось заманчивым изучение *Staphylococcus* spp. (*S. aureus*, *S. haemolyticus*, *S. epidermidis*, *S. saprophyticus*) на суррогатной модели (*G. mellonella*). Сравнительный анализ вирулентности разных видов стафилококков показал, что *S. aureus* и *S. haemolyticus* обладали высоким патогенным потенциалом, вызывая гибель большинства личинок, тогда как *S. epidermidis* и *S. saprophyticus* характеризовались достоверно меньшей способностью вызывать инфекцию (рис. 3).

Ранее нами была зарегистрирована высокая частота изоляции дрожжей и дрожжеподобных грибов у больных с ВП на фоне коронавирусной инфекции [3]. В работе была проведена оценка

возможности использования суррогатной модели для определения патогенности клинических изолятов различных видов грибов (*C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. krusei* и *G. capitatum*). Результаты проведенного исследования выявили, что наибольшей патогенностью для личинок характеризовались *C. albicans*, *C. tropicalis* и *G. capitatum* (рис. 4).

При этом *C. glabrata* и *C. krusei* вызывали либо частичную гибель группы особей, либо гибель в отдаленные сроки.

Обсуждение

В результате проведенного исследования установлено, что белые мыши позволяют дифференцировать по признаку патогенности гипермукоидные и классические варианты *K. pneumoniae*. В то же время при использовании модели *G. mellonella* нам не удалось выявить достоверную разницу в патогенном потенциале различных морфотипов клебсиелл. Наши данные согласуются с результатами других авторов, также показавших, что использование личинок не позволяет четко разделять гипервирулентные и классические варианты этого вида [31]. Таким образом, показана неадекватность применения суррогатной модели для выявления патогенного потенциала различных морфотипов *K. pneumoniae*.

Согласно данным литературы, известно, что стафилококки являются слабопатогенными для белых мышей при заражении менее 10^8 – 10^9 КОЕ/мл [9, 17]. Более того, для оценки их вирулентности применяются трудоемкие и не гуманные эксперименты (ожоговая модель инфекции, стоматит крыс и т. д.) [22]. При использовании белых мышей, внутрибрюшинно инфицированных стафилококками, нам не удалось зарегистрировать гибель лабораторных животных даже в дозе 10^6 КОЕ/мышь. В противоположность этому, виды *S. aureus* и *S. haemolyticus* обладали высоким патогенным потенциалом при личиночной модели инфекции. Другие изученные виды (*S. epidermidis*, *S. saprophyticus*) характеризовались достоверно меньшей вирулентностью для личинок. В отличие от полученных нами результатов, по данным других исследователей именно гемолитический стафилококк проявлял большую вирулентность для *G. mellonella* [28]. Нельзя исключить, что подобное расхождение результатов обусловлено межштаммовыми различиями, что требует дальнейшего изучения стафилококков на этой модели.

Как было установлено, *C. albicans*, *C. tropicalis* и *G. capitatum* обладали способностью вызывать летальную инфекцию у личинок. При этом удивительно, что *C. glabrata* и *C. krusei*, которые

являются более патогенными для человека, вызывали лишь частичную гибель группы особей в отдаленные сроки [18, 19].

Несмотря на многолетнее использование личинок в качестве модельных организмов для определения патогенного потенциала возбу-

дителей инфекционных болезней, многие вопросы изучены недостаточно. Поэтому для их уточнения необходимо накопление экспериментального материала по изучению различных видов микроорганизмов и адекватности применения той или иной биологической модели.

Список литературы/References

1. Анисимова А.С., Полеева М.В., Аронова Н.В., Цимбалистова М.В., Павлович Н.В. Особенности идентификации грибов рода *Candida* с помощью масс-спектрометрического анализа (MALDI-ToF MS) // Клиническая лабораторная диагностика. 2022. Т. 67, № 4. С. 244–249. [Anisimova A.S., Poleeva M.V., Aronova N.V., Tsimbalistova M.V., Pavlovich N.V. Peculiarities of *Candida* yeast identification by mass spectrometric analysis (MALDI-ToF MS). *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika = Russian Clinical Laboratory Diagnostics*, 2022, vol. 67, no. 4, pp. 244–249 (In Russ.)] doi: 10.51620/0869-2084-2022-67-4-244-249
2. Анисимова А.С., Павлович Н.В., Аронова Н.В., Цимбалистова М.В., Гудуева Е.Н., Пасюкова Н.И., Теплякова Е.Д., Носков А.К. Биологические свойства и антибиотикорезистентность *Klebsiella pneumoniae* и ее роль в этиологической структуре возбудителей внебольничных пневмоний // Антибиотики и химиотерапия. 2023. Т. 68, № 5–6. С. 11–18. [Anisimova A.S., Pavlovich N.V., Aronova N.V., Tsimbalistova M.V., Gudueva E.N., Pasyukova N.I., Teplyakova E.D., Noskov A.K. Biological properties and antibiotic resistance of *Klebsiella pneumoniae* and its role in the etiological structure of community-acquired pneumonia pathogens. *Antibiotiki i khimioterapiya = Antibiotics and Chemotherapy*, 2023, vol. 68 (5–6), pp. 11–18. (In Russ.)] doi: 10.37489/0235-2990-2023-68-5-6-11-18
3. Аронова Н.В., Павлович Н.В., Цимбалистова М.В., Полеева М.В., Анисимова А.С., Водопьянов С.О., Носков А.К. Видовое разнообразие и маркеры резистентности дрожжей рода *Candida* у коронапозитивных и коронанегативных больных с внебольничными пневмониями // Антибиотики и химиотерапия. 2021. Т. 66, № 7–8. С. 38–44. [Aronova N.V., Pavlovich N.V., Tsimbalistova M.V., Poleeva M.V., Anisimova A.S., Vodopyanov S.O., Noskov A.K. Species diversity and resistance markers of *Candida* yeasts in COVID positive and COVID negative patients with community-acquired pneumonia. *Antibiotiki i khimioterapiya = Antibiotics and Chemotherapy*, 2021, vol. 66, no. 7–8, pp. 38–44. (In Russ.)] doi: 10.37489/0235-2990-2021-66-7-8-38-44
4. Гланц С. Медико-биологическая статистика: пер. с англ. М.: Практика, 1999. 459 с. [Glants S. Biomedical statistics. *Moscow: Practice*, 1999. 459 p. (In Russ.)]
5. Лабораторная диагностика внебольничных пневмоний: Методические указания МУК 4.2.3115-13. М., 2013. [Laboratory diagnostics of community-acquired pneumonia: Guidelines MUK 4.2.3115-13. *Moscow*, 2013. (In Russ.)]
6. Лабораторная диагностика внебольничной пневмонии пневмококковой этиологии: методические рекомендации. М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2017. 64 с. [Laboratory diagnosis of community-acquired pneumonia of pneumococcal etiology. Methodical recommendations *Moscow: Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Welfare*, 2017. 64 p. (In Russ.)] URL: https://www.rosпотребнадзор.ru/documents/details.php?ELEMENT_ID=9036
7. Патогенность // Большая российская энциклопедия. [Pathogenicity. The Great Russian Encyclopedia. (In Russ.)] URL: <https://bigenc.ru/c/patogennost-b0e100>
8. Салмова Ю.В., Никифорова Л.Р., Боровкова К.Е. Разработка модели бактериальной инфекции личинок *Galleria mellonella* (большая восковая моль // Лабораторные животные для научных исследований. 2022. Т. 3. С. 40–49. [Salmova J.V., Nikiforova L.R., Borovkova K.E. Development of a bacterial infection model of *Galleria mellonella* larvae (greater wax moth). *Laboratornye zhivotnye dlya nauchnykh issledovaniy = Laboratory Animals for Science*, 2022, vol. 3, pp. 40–49. (In Russ.)] doi: 10.57034/2618723X-2022-03-05
9. Akinkunmi E.O., Adeyemi O.I., Igbeneghu O.A., Olaniyan E.O., Omonisi A.E., Lamikanra A. The pathogenicity of *Staphylococcus epidermidis* on the intestinal organs of rats and mice: an experimental investigation. *BMC Gastroenterol.*, 2014, vol. 14: 126. doi: 10.1186/1471-230X-14-126
10. Baumans V. Science-based assessment of animal welfare: laboratory animals. *Rev. Sci. Tech.*, 2005, vol. 24, no. 2, pp. 503–513.
11. Champion O.L., Wagley S., Titball R.W. *Galleria mellonella* as a model host for microbiological and toxin research. *Virulence*, 2016, vol. 7, no. 7, pp. 840–845. doi: 10.1080/21505594.2016.1203486
12. Curtis A., Binder U., Kavanagh K. *Galleria mellonella* larvae as a model for investigating fungal-host interactions. *Front. Fungal Biol.*, 2022, vol. 3: 893494. doi: 10.3389/ffunb.2022.893494
13. Cutuli M.A., Petronio P.G., Vergalito F., Magnifico I., Pietrangelo L., Venditti N., Di Marco R. *Galleria mellonella* as a consolidated in vivo model hosts: new developments in antibacterial strategies and novel drug testing. *Virulence*, 2019, vol. 10, no. 1, pp. 527–541. doi: 10.1080/21505594.2019.1621649
14. Eisemann C.H., Jorgensen W.K., Merritt D.J., Rice M.J., Cribb B.W., Webb P.D., Zalucki M.P. Do insects feel pain? A biological view. *Experientia*, 1984, vol. 40, pp. 164–167. doi: 10.1007/BF01963580
15. Garcia-Lara J., Needham A.J., Foster S.J. Invertebrates as animal models for *Staphylococcus aureus* pathogenesis: a window into host–pathogen interaction. *FEMS. Immunol. Med. Microbiol.*, 2005, vol. 43, no. 3, pp. 311–323. doi: 10.1016/j.femsim.2004.11.003
16. Giammarino A., Bellucci N., Angiolella L. *Galleria mellonella* as a model for the study of fungal pathogens: advantages and disadvantages. *Pathogens*, 2024, vol. 13, no. 3: 233. doi: 10.3390/pathogens13030233
17. Gunn B.A. Comparative virulence of human isolates of coagulase-negative staphylococci tested in an infant mouse weight retardation model. *J. Clin. Microbiol.*, 1989, vol. 27, no. 3, pp. 507–511. doi: 10.1128/jcm.27.3.507-511.1989

18. Hassan Y., Chew S.Y., Than L.T.L. *Candida glabrata*: pathogenicity and resistance mechanisms for adaptation and survival. *J. Fungi (Basel)*, 2021, vol. 7, no. 8: 667. doi: 10.3390/jof7080667
19. Jamiu A.T., Albertyn J., Sebolai O.M., Pohl C.H. Update on *Candida krusei*, a potential multidrug-resistant pathogen. *Med. Mycol.*, 2021, vol. 59, no. 1, pp. 14–30. doi: 10.1093/mmy/myaa031
20. Kavanagh K., Sheehan G. The use of *Galleria mellonella* larvae to identify novel antimicrobial agents against fungal species of medical interest. *J. Fungi (Basel)*, 2018, vol. 4, no. 3: 113. doi: 10.3390/jof4030113
21. Lemaitre B., Hoffmann J. The host defense of *Drosophila melanogaster*. *Annu. Rev. Immunol.*, 2007, vol. 25, pp. 697–743. doi: 10.1146/annurev.immunol.25.022106.141615
22. Liang H., Wang Y., Liu F., Duan G., Long J., Jin Y., Chen S., Yang H. The application of rat models in *Staphylococcus aureus* infections. *Pathogens*, 2024, vol. 13, no. 6: 434. doi: 10.3390/pathogens13060434
23. Mai D., Wu A., Li R., Cai D., Tong H., Wang N., Tan J. Identification of hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* based on biomarkers and *Galleria mellonella* infection model. *BMC Microbiol.*, 2023, vol. 23, no. 1: 369. doi: 10.1186/s12866-023-03124-0
24. Ménard G., Rouillon A., Cattoir V., Donnio P.Y. *Galleria mellonella* as a suitable model of bacterial infection: past, present and future. *Front. Cell. Infect. Microbiol.*, 2021, no. 11: 782733. doi: 10.3389/fcimb.2021.782733
25. Nathan S. New to *Galleria Mellonella*. *Virulence*, 2014, vol. 5, no. 3, pp. 371–374. doi: 10.4161/viru.28338
26. Pereira T.C., de Barros P.P., Fugisaki L.R.O., Rossoni R.D., Ribeiro F.C., de Menezes R.T., Junqueira J.C., Scorzoni L. Recent advances in the use of *Galleria mellonella* model to study immune responses against human pathogens. *J. Fungi (Basel)*, 2018, vol. 4, no. 4: 128. doi: 10.3390/jof4040128
27. Pereira M.F., Rossi C.C., da Silva G.C., Rosa J.N., Bazzolli D.M.S. *Galleria mellonella* as an infection model: an in-depth look at why it works and practical considerations for successful application. *Pathog. Dis.*, 2020, vol. 78, no. 8: ftaa056. doi: 10.1093/femspd/ftaa056
28. Qin M., Chen P., Deng B., He R., Wu Y., Yang Y., Deng W., Ding X., Yang F., Xie C., Yang Y., Tian G.B. The emergence of a multidrug-resistant and pathogenic ST42 lineage of *Staphylococcus haemolyticus* from a hospital in China. *Microbiol. Spectr.*, 2022, vol. 10, no. 3: e0234221. doi: 10.1128/spectrum.02342-21
29. Richmond J. The 3Rs — Past, Present and Future. *Scand. J. Lab. Anim. Sci.*, 2000, vol. 27, no. 2, pp. 84–92. doi: 10.23675/sjlas.v27i2.19
30. Russell W.M.S., Burch R.L., Hume C.W. The principles of humane experimental technique. London: Methuen, 1959, 238 p.
31. Russo T.A., MacDonald U. The *Galleria mellonella* infection model does not accurately differentiate between hypervirulent and classical *Klebsiella pneumoniae*. *mSphere*, 2020, vol. 5, no. 1: e00850-19. doi: 10.1128/mSphere.00850-19
32. Serrano I., Verdial C., Tavares L., Oliveira M. The virtuous *Galleria mellonella* model for scientific experimentation. *Antibiotics (Basel)*, 2023, vol. 12, no. 3: 505. doi: 10.3390/antibiotics12030505
33. Sheehan G., Garvey A., Croke M., Kavanagh K. Innate humoral immune defences in mammals and insects: The same, with differences? *Virulence*, 2018, vol. 9, no. 1, pp. 1625–1639. doi: 10.1080/21505594.2018.1526531
34. Tannenbaum J., Bennett B.T. Russell and Burch's 3Rs then and now: the need for clarity in definition and purpose. *J. Am. Assoc. Lab. Anim. Sci.*, 2015, vol. 54, no. 2, pp. 120–132.
35. Tsai C.J.-Y., Loh J.M.S., Proft T. *Galleria mellonella* infection models for the study of bacterial diseases and for antimicrobial drug testing. *Virulence*, 2016, vol. 7, no. 3, pp. 214–229. doi: 10.1080/21505594.2015.1135289
36. Wojda I., Staniec B., Sulek M., Kordaczuk J. The greater wax moth *Galleria mellonella*: biology and use in immune studies. *Pathog. Dis.*, 2020, vol. 78, no. 9: ftaa057. doi: 10.1093/femspd/ftaa057

Авторы:

Анисимова А.С., младший научный сотрудник лаборатории природно-очаговых и зоонозных инфекций ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ростов-на-Дону, Россия;

Аронова Н.В., к.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории природно-очаговых и зоонозных инфекций ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ростов-на-Дону, Россия;

Цимбалистова М.В., к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории природно-очаговых и зоонозных инфекций ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ростов-на-Дону, Россия;

Павлович Н.В., д.м.н., главный научный сотрудник, и.о. начальника отдела природно-очаговых и зоонозных инфекций ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ростов-на-Дону, Россия;

Левченко А.С., зав. питомником (виварием) ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ростов-на-Дону, Россия.

Authors:

Anisimova A.S., Junior Researcher, Laboratory of Natural Focal and Zoonotic Infections, Rostov-on-Don Anti-Plague Institute of Rosпотребнадзор, Rostov-on-Don, Russian Federation;

Aronova N.V., PhD (Biology), Leading Researcher, Laboratory of Natural Focal and Zoonotic Infections, Rostov-on-Don Anti-Plague Institute of Rosпотребнадзор, Rostov-on-Don, Russian Federation;

Tsimbalistova M.V., PhD (Medicine), Senior Researcher, Laboratory of Natural Focal and Zoonotic Infections, Rostov-on-Don Anti-Plague Institute of Rosпотребнадзор, Rostov-on-Don, Russian Federation;

Pavlovich N.V., DSc (Medicine), Head Researcher, Acting Head of the Department of Natural Focal and Zoonotic Infections, Rostov-on-Don Anti-Plague Institute of Rosпотребнадзор, Rostov-on-Don, Russian Federation;

Levchenko A.S., Head of the Nursery (Vivarium), Rostov-on-Don Anti-Plague Institute of Rosпотребнадзор, Rostov-on-Don, Russian Federation.