

Оценка вирулентности штаммов *Candida* spp. на личинках *Galleria mellonella*

Горемыкина^{1,2} Е.А./Goremykina¹ E.A.

Слукин² П.В., Подгорная² Н.Н., Хохлова^{1,2} О.Е., Фурсова² Н.К./Slukin² P.V., Podgornaya² N. N., Khokhlova^{1,2} O. E., Fursova² N.K.

Фурсова Н.К./ Fursova N.K.

¹ФГБОУ ВО «Пушкинский государственный естественно-научный институт», Пушкино, Россия/
¹Pushchino State Natural Science Institute, Pushchino, Russia

²ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии», Оболensk, Россия/
²State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Obolensk, Russia

Введение

Candida spp. - условно-патогенные микроорганизмы, вызывающие заболевания человека при иммунодефиците [1]. Классические лабораторные животные (грызуны и зайцеобразные) толерантны к подобным инфекциям. В последние годы популярной биологической моделью для оценки вирулентности *Candida* spp. являются личинки большой восковой моли *Galleria mellonella* [2].

Цель

Определение уровней вирулентности штаммов *Candida* spp., несущих различные сочетания генов вирулентности, на модели личинок *Galleria mellonella*

Материалы и методы

Список штаммов, используемых в исследовании, представлен в таблице 1. Гены вирулентности *HWP1*, *ALS1*, *PLB1*, *LIP1* и *SAP4* определяли методом ПЦР со специфичными праймерами. Уровни вирулентности штаммов *Candida* spp. определяли на модели личинок *G. mellonella* [3], оценивая количество особей, погибших в течение 5 суток после введения им в гемоцель суспензий штамма в дозах 10^3 - 10^9 КОЕ/особь.

Таб.1. Сочетания генов вирулентности штаммов *Candida* spp.

№	Вид	Штамм	ALS1	HWP1	SAP4	PLB1	LIP1	Кол-во генов
Высоковирулентные								
1	<i>C. auris</i>	B48/20	-	-	-	-	-	0
2	<i>C. albicans</i>	B2528/20	-	+	+	+	-	3
3	<i>C. albicans</i>	B2755-1/20	-	+	+	-	+	3
4	<i>C. albicans</i>	B2755-2/20	+	+	+	-	+	4
5	<i>C. albicans</i>	ATCC90028	+	+	-	-	-	2
6	<i>C. albicans</i>	N253	+	+	+	+	-	4
7	<i>C. albicans</i>	2945-1	+	+	+	+	+	5
8	<i>C. albicans</i>	B2560/20	+	+	+	+	+	5
9	<i>C. albicans</i>	C24797/21	+	+	+	+	+	5
10	<i>C. albicans</i>	B2620/20	-	-	+	-	+	2
11	<i>C. albicans</i>	B2527/20	+	+	+	+	-	4
Средневирулентные								
12	<i>C. tropicalis</i>	C7307/19	-	-	-	-	-	0
13	<i>C. dubliniensis</i>	B3340/20	-	-	-	-	-	0
14	<i>C. auris</i>	CBS10913	-	-	-	-	-	0
15	<i>C. inconspicua</i>	C6148/21	+	-	-	-	-	1
16	<i>C. glabrata</i>	B2587/20	+	+	-	-	-	2
17	<i>C. parapsilosis</i>	C2747/21	-	+	-	-	-	1
Низковирулентные								
18	<i>C. lusitanae</i>	C705/19	-	-	-	-	-	0
19	<i>C. parapsilosis</i>	C482/16	-	-	-	-	-	0
20	<i>C. guilliermondii</i>	C9788/18	-	-	-	-	-	0
21	<i>C. kefyri</i>	N14	-	+	-	-	-	1
22	<i>C. parapsilosis</i>	ATCC90018	-	+	-	-	-	1
23	<i>C. kefyri</i>	B2341/20	-	-	-	-	-	0
24	<i>C. krusei</i>	C2080/20	-	-	-	-	-	0
25	<i>C. utilis</i>	C4953/17	+	-	-	-	-	1

Примечание: «+» – наличие гена, «-» – отсутствие гена

Результаты

Показано, что штаммы *C. albicans* несли 2-5 генов вирулентности: *HWP1* и *SAP4* - по 9 штаммов, *ALS1* - 7 штаммов, *PLB1* и *LIP1* - по 6 штаммов. Сочетания генов представлены в таб. 1. По характеру выживаемости личинок *G. mellonella*, после заражения в дозе 10^6 КОЕ/особь, штаммы *Candida* spp. охарактеризованы как высоко- (~100% гибель на 1 сутки), средне- (100% гибель на 5 суток) и низковирулентные (выживаемость >50% на 5 суток) (Рис.1, 2).

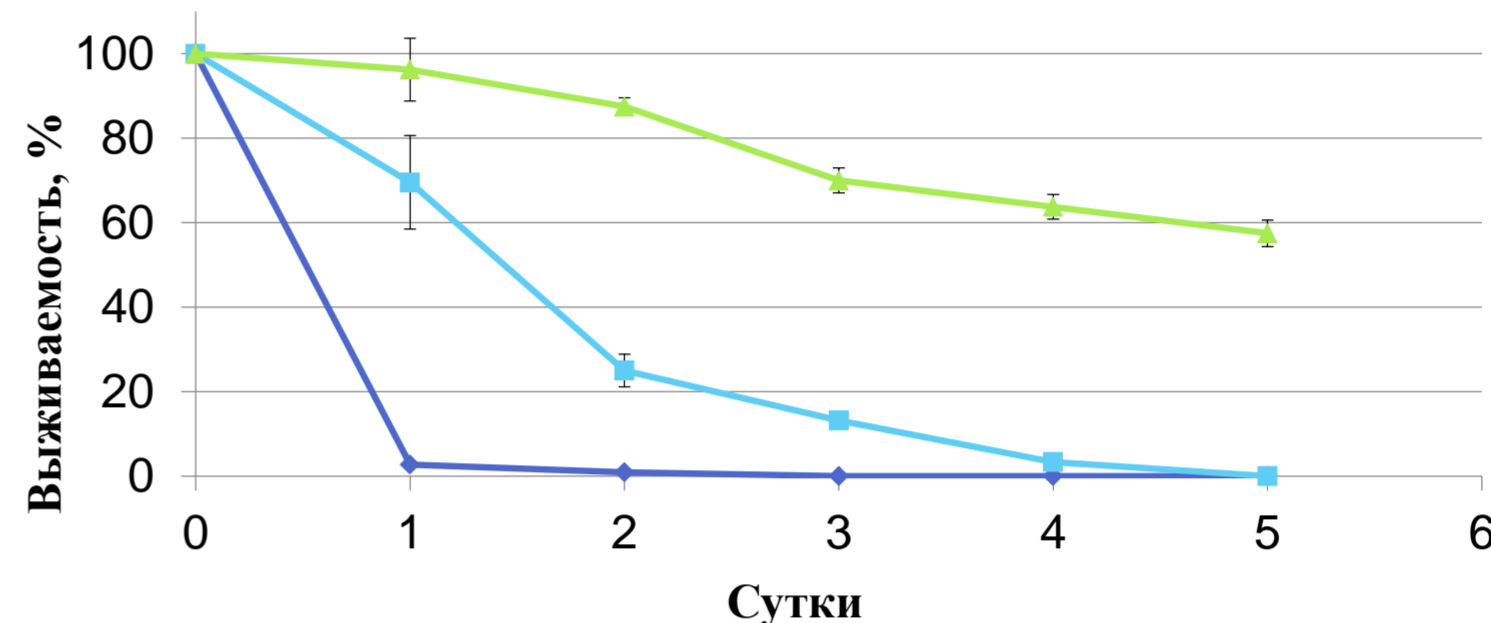


Рис.1. График выживаемости личинок *G. mellonella* при заражении штаммами *Candida* spp.

◆ – высоковирулентные; ◆ – средневирулентные; ◆ – низковирулентные

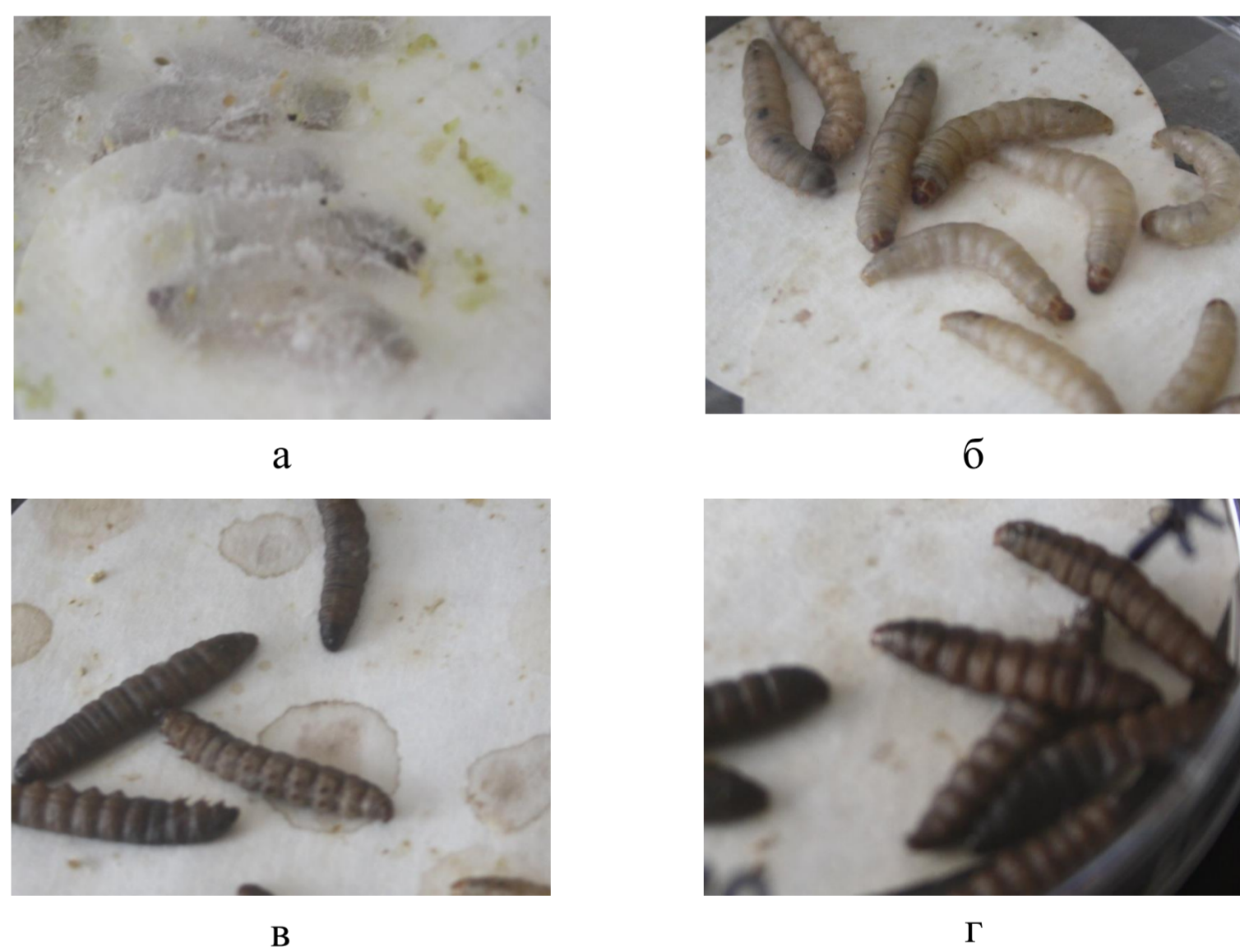


Рис.2. Внешний вид личинок *G. mellonella* контрольной группы (а), высоковирулентной (б), средневирулентной (в) и низковирулентной (г) групп штаммов *Candida* spp. в дозе 10^6 КОЕ/особь на 5 сутки после заражения.

Интересно отметить, что все штаммы *C. albicans* были отнесены к высоковирулентным, при этом у высоковирулентного штамма *C. auris* B48/20 не обнаружено ни одного из тестируемых генов вирулентности (Таб.1), что, предположительно, связано с наличием у него других факторов вирулентности. Все штаммы, отнесенные к средне- и низковирулентным для личинок *G. mellonella*, несли 0-2 гена вирулентности.

Выводы

Исследуемые штаммы *C. albicans*, несущие 2-5 генов вирулентности, обладают высокой вирулентностью на модели личинок *G. mellonella*, в то время как высоковирулентный штамм *C. auris* B48/20 не имеет тестируемых генов вирулентности. Работа выполнена в рамках Отраслевой программы Роспотребнадзора.

Библиография

- El-Houssaini H.H. et al. Correlation between antifungal resistance and virulence factors in *Candida albicans* recovered from vaginal specimens // *Microb. Pathog.* 2019. Vol. 128. P. 13–19.
- Maione A, Bellavita R, de Alteriis E, Galdiero S, Albarano L, La Pietra A, Guida M, Parrilli E, D'Angelo C, Galdiero E, Falanga A. WMR Peptide as Antifungal and antibiofilm against *albicans* and non-*albicans* *Candida* species: Shreds of Evidence on the Mechanism of Action. *Int J Mol Sci.* 2022 Feb 15;23(4):2151
- Alghoribi M.F., Gibreel T.M., Dodgson A.R., Beatson S.A., Upton M. *Galleria mellonella* infection model demonstrates high lethality of ST69 and ST127 uropathogenic *E. coli*. *PLoS One.* 2014;9(7): e101547.



Всероссийский конгресс по медицинской микробиологии,
клинической микологии и иммунологии (XXV Кашкинские чтения)
8-10 июня 2022 г., Санкт-Петербург, Россия