

Изучение возможностей хранения бактерий *Streptococcus pneumoniae* при положительных и умеренно низких температурах

М.Н. КАЛАШНИКОВА

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

Study of Storage Possibilities for *Streptococcus Pneumoniae* Bacteria Under Positive and Moderately Low Temperatures

M.N. KALASHNIKOVA

Institute for Problems of Cryobiology & Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov

Одной из актуальных проблем медицинской микробиологии является создание коллекций клинических изолятов бактерий *Streptococcus pneumoniae* из различных географических зон. Эта коллекция необходима для современных диагностикумов и поливалентных вакцин, разработки схем рациональной этиотропной терапии. Выделение, идентификация изолятов, транспортировка их из медицинских учреждений в коллекции микроорганизмов осложняются тем, что пневмококки быстро погибают во внешней среде вследствие аутолиза, вызванного высокой активностью внутриклеточных ферментов. Публикации по криоконсервированию пневмококков отсутствуют, а работы, посвященные хранению этих бактерий при умеренно низких температурах, единичны и фрагментарны.

Цель исследования – изучение возможностей хранения бактерий *S. pneumoniae* при субнулевых и умеренно низких температурах.

Объектами исследования служили клинические изоляты бактерий *S. pneumoniae*, которые хранили в мясопептонном бульоне (МПБ), с добавлением 10% одного из защитных веществ: эмбриональной сыворотки крупного рогатого скота (КРС), сахарозы, глицерина. Образцы хранили при 37° (контроль), 4, –25, –70°C. Жизнеспособность определяли чашечным методом Коха по колониеобразованию на кровяном агаре.

Показано, что при 37°C бактерии *S. pneumoniae*, суспендированные в МПБ с добавлением сахарозы, глицерина, эмбриональной сыворотки КРС и в чистом МПБ, погибали соответственно через 2, 3, 4 и 4 суток. В процессе хранения при 4°C бактерии сохраняли жизнеспособность в МПБ 46 суток, в МПБ с добавлением эмбриональной сыворотки КРС – в течение 60 суток (срок наблюдения), МПБ с добавлением сахарозы – 25 суток и в МПБ с добавлением глицерина – 40 суток. При –25°C бактерии оставались жизнеспособными не менее 2-х месяцев (срок наблюдения) во всех средах, а при –70°C – не менее одного года (срок наблюдения).

Представленные результаты свидетельствуют о возможности хранения *S. pneumoniae* при положительных и умеренно низких температурах и могут быть использованы в работе клинических лабораторий.

Creating collections of clinical isolates of *Streptococcus Pneumoniae* bacteria from various geographic areas is one of the actual problems in medical microbiology. These collections are necessary for current diagnostic tests and polyvalent vaccines, to elaborate protocols for rational etiotropic therapy. Isolation and identification of isolates, their transporting from medical institutions to the microorganism collections is complicated because of a rapid death of pneumococci in the environment due to autolysis, caused by a high activity of intracellular enzymes. There are no published reports on pneumococci cryopreservation and the research devoted to these bacteria storage under moderately low temperatures are single and fragmentary.

This research was targeted to study the possibilities for *S. pneumoniae* bacteria storage under subzero and moderately low temperatures.

Clinical isolates of *S. pneumoniae* bacteria, stored into meat-peptone broth (MPB) with adding 10% of one of protective substances such as: calf embryonic serum, sucrose, glycerol served as the investigation object. Samples were stored at 37 (control), 4, –25, –70°C. The viability was determined using the Koch dish method by colony-formation on blood agar.

At 37°C *S. pneumoniae* bacteria, suspended in MPB with sucrose, glycerol, cattle embryonic serum and in pure MPB were shown to die in 2, 3, 4, and 4 days, correspondingly. During storage at 4°C bacteria preserved the viability in MPB within 46 days, in MPB with cattle embryonic serum within 60 days (observation term), in MPB with sucrose for 25 days and 40 days in MPB with glycerol. At –25°C bacteria remained viable not less than 2 months (observation term) in all media, but not longer than 1 year (observation term) at –70°C.

The results presented testify to the possibility of *S. pneumoniae* storage under positive and moderately low temperatures and may be used in clinical laboratories.