

ОТБОР ШТАММОВ *STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE* ДЛЯ ВЫДЕЛЕНИЯ ТЕЙХОВЕВЫХ КИСЛОТ

Н.Г. Сидоров

Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, Москва, Россия.

Streptococcus pneumoniae – грамположительная условно-патогенная бактерия, которая является возбудителем многих инвазивных заболеваний. Современные методы диагностики не всегда способны обнаружить оптохинрезистентные изоляты или бескапсульные формы пневмококка, которые также играют существенную роль в развитии пневмококковых инфекций [1]. Поиск новых методов для идентификации пневмококка является актуальной задачей. В настоящее время известно о применении иммунохроматографического теста, который использует антитела, специфичные для обнаружения тейхоевых кислот (ТК) *S. pneumoniae* в образцах мочи или цереброспинальной жидкости [2]. Интерес к использованию ТК для идентификации пневмококка остается высоким. При этом для получения ТК необходимо подобрать штамм и оптимальные условия его культивирования. Пневмококк требователен к условиям культивирования, поэтому важно выбрать штамм, способный расти в условиях искусственного выращивания без потери первоначальных биологических свойств, обладающий стабильным ростом и высоким уровнем выхода биомассы.

Цель работы – изучить ростовые свойства ряда штаммов *S. pneumoniae* на полноценных питательных средах с добавлением лецитина и/или глюкозы, и отобрать штамм для выделения ТК.

В ходе исследования использовали штаммы *S. pneumoniae*: № 3391 (K-R), № 3405 (K-4), № 16082 (K-14), № 16010 (K-5), № 16050 (K-9V), полученные из Коллекции микроорганизмов III и IV групп патогенности ЦКП НИИВС им. И.И. Мечникова. Культивирование проводили в сердечно-мозговом бульоне с дополнительным внесением глюкозы и/или лецитина при 37 °C в инкубаторе с 5 % содержанием CO₂, при постоянном перемешивании на шейкере. Процесс осуществляли с постоянным динамическим контролем показателей роста. После получения биомассы штаммов осажденные клетки дезинтегрировали с помощью механического и ультразвукового воздействия. С помощью дифференциального центрифугирования, экстракции раствором 10 % трихлоруксусной кислотой и последующего осаждения спиртом выделяли ТК. Полученные ТК лиофилизировали и идентифицировали с помощью ядерно-магнитной резонансной спектроскопии (ЯМР).

Оценка влияния лецитина и глюкозы на ростовые свойства различных штаммов *S. pneumoniae* показала, что добавление глюкозы оказывало влияние на штамм № 16082 (K-14) и увеличивало выход биомассы на 64 %. Лецитин влиял на штаммы № 3391 (K-R) и № 3405 (K-4), увеличивая выход биомассы на 37,5 % и 10 % соответственно. Добавление лецитина и / или глюкозы не способствовало увеличению выхода биомассы штамма № 16010 (K-5). Совместное добавление этих веществ увеличивало выход биомассы штамма № 16050 (K-9V) на 20 %. Штамм № 16082 (K-14) демонстрировал стабильный рост на протяжении трёх пассажей, при каждом из которых он идентифицировался с высокой степенью достоверности (значение «score value» > 2) при проведении MALDI-TOF масс-спектрометрии. Посредством ЯМР была идентифицирована и подтверждена структура ТК в полученных препаратах. Выход ТК статистически не отличался во всех случаях.

Таким образом, изучены ростовые свойства пяти различных штаммов *S. pneumoniae* в условиях добавления глюкозы и/или лецитина. Отобран наиболее продуктивный вариант и выделены препараты ТК для получения антисывороток с целью проведения дальнейшей иммунохимической характеристики.

Литература

1. Jia J. et al. Identification and molecular epidemiology of routinely determined *Streptococcus pneumoniae* with negative Quellung reaction results // *Journal of Clinical Laboratory Analysis*. 2022. Vol. 36(4). Article 24293. doi: 10.1002/jcla.24293.
2. Song JY, Eun BW, Nahm MH. Diagnosis of pneumococcal pneumonia: current pitfalls and the way forward // *Infect Chemother*. 2013. Vol. 45(4). P. 351–66. doi: 10.3947/ic.2013.45.4.351.