

при заданном режиме аэрации обуславливало максимальное накопление сальмонелл до $19,6 \pm 0,18$ млрд/см³, что на 6,5% больше, чем при указанном выше режиме, но при этом содержание жизнеспособных клеток после 12 часов культивирования было ниже на 4,2% и составило 69%.

Наиболее низкое накопление наблюдалось при режиме аэрации 1 дм³/дм³ мин. и скорости вращения мешалки 60 об/мин. Кроме того, культура обладала невысокой жизнеспособностью (52%) и проявляла склонность к диссоциации.

При выращивании пуллорных бактерий в биореакторе газо-вихревого типа наиболее рентабельным и технологичным является режим вращения активатора 1500 – 2000 об/мин. и комбинированный режим аэрации.

При таком режиме установлено наиболее высокое накопление сальмонелл (27,0 – 27,2 млрд/см³) с весьма высокой жизнеспособностью (92,0 – 92,2%). Режимы аэрации глубинным (барботаж) или поверхностным способом не обеспечивают интенсивного накопления бактерий (18,4 – 21,6 млрд/см³).

Необходимо отметить, что при выборе режимов аэрации - перемешивание по предлагаемому способу можно получить несколько режимов, обеспечивающих максимальную продуктивность процесса культивирования.

УДК 576- 8. 083. 33

КИНЕТИКА НАКОПЛЕНИЯ ПОЛИСАХАРИДНОГО АНТИГЕНА В ПРОЦЕССЕ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ САЛЬМОНЕЛЛ

*Зайцева А.В., аспирант кафедры микробиологии и вирусологии
УО «Витебская государственная ордена «Знак Почета»
академия ветеринарной медицины»,
Республика Беларусь*

Полисахаридсодержащий антиген (ПА) сальмонелл и других грамотрицательных бактерий привлекает внимание исследователей как один из возможных компонентов вакцин, диагностических препаратов и также как активное действующее вещество, необходимое для создания иммуностимулирующего препарата.

Большинство ПА из-за их высокой токсичности и обилия побочных эффектов неприемлемо для широкого клинического использования (М.П. Бабина, 2001). Наличие значительных побочных эффектов у иммуномодуляторов этого класса определяет необходимость поиска новых природных ПА, обладающих меньшей токсичностью и пирогенностью, но имеющих такую же высокую иммуностимулирующую активность (М.П. Бабина, 1999).

Применение иммуномодулирующих препаратов из ПА животным и птицам способствует повышению неспецифической резистентности к инфекциям, увеличению бактерицидной и лизоцимной активности сыворотки крови, индуцированию интерферонотропности и т.д.

Поэтому высокая потребность в разработке методов модификации молекул ЛПС с целью получения препаратов, приемлемых для практического использования.

К перспективным методам модификации относятся обработка гидроксиламином, сукцинированием, воздействием ферментами, конъюгация детоксицированных ЛПС с различными носителями.

Доказательством перспективности изыскания новых иммуномодуляторов среди ЛПС является синтез Сальмозана, представляющего полисахаридную фракцию соматического антигена бактерий брюшного тифа. Этот препарат получен путем депротеинизации фенольного антигена с последующим удалением липида А при гидролизе в ацетате.

Сальмозан малотоксичен, практически не содержит белков и липидов. В организме животных он играет роль индикатора пролиферации и дифференциации стволовых клеток, стимулирует антителогенез, фагоцитарную активность лейкоцитов и макрофагов, неспецифическую резистентность, повышает лизоцимную активность сыворотки крови.

Для промышленного получения препаратов на основе ПА необходимо изучить закономерность его накопления в условиях глубинного культивирования сальмонелл в биоферментерах разной конструкции.

В исследованиях использовали сальмонеллезные бактерии разных серогрупп: *S. choleraesuis* № 370, *S. typhimurium* № 371, *S. dubblin* № 373, *S. enteritidis*, *S. gallinarum* - pullorum 10Б, *S. gallinarum* – pullorum 24 КСТ, *S. gallinarum* – pullorum ЛБ, *S. typhimurium* № 3, *S. dubblin* № 6, *S. cholerae suis* TC-177, *S. cholerae suis* № 9.

Сальмонеллы выращивали на питательных средах различного состава: бульоне Хоттингера, оптимизированной двухкомпонентной

среде из гидролизатов белков крови, гидролизатов белков молочной сыворотки (ГБМС) и среде на основе белковых гидролизатов мясокостной муки и сыворотки крови (ГММ и С).

В сравнительном опыте сальмонеллы выращивали в биореакторе с механическим перемешиванием и в газо-вихревом биореакторе «Биок». В газо-вихревом аппарате перемешивание культуральной жидкости осуществляли путем создания в жидкой среде трехмерного движения типа «вращающегося вихревого кольца» (квазистационарный поток с осевым противотоком).

Движение генерируется аэрирующим газовым вихрем за счет перепада давления над поверхностью и силы трения воздушного потока о поверхность суспензии. Аэрирующий газовый вихрь формируется центробежным активатором, установленным над поверхностью суспензии.

В процессе роста культур сальмонелл проводили отбор проб. Культуры сальмонелл экстрагировали щелочью. После чего экстракты антигенного комплекса очищали переосаждением этанолом и исследовали на содержание сухого вещества.

Определение концентрации ПА проводили через 2, 4, 6, 8, 10, 12 и 14 часов культивирования.

В результате проведенной работы нами установлено, что динамика биосинтеза ПА в баксуспензии сальмонелл закономерно изменялась в соответствии с наблюдаемыми фазами роста: лаг, экспоненциальная, замедления скорости роста, максимально стационарная и отмирания.

Определение количественного содержания внутриклеточного ПА показало, что на всех испытанных средах наиболее выраженное его накопление отмечается между 4 – 10 часами инкубации сальмонелл.

Антигенные комплексы, полученные из *S. gallinarum* - pullorum 10Б, *S. choleraesuis* № 9, *S. dublin* № 6, *S. typhimurium* № 3, не исследовались, так как они были плохо растворимы.

Полученные в ходе исследований данные свидетельствуют, что биосинтез ПА в культурах сальмонелл осуществляется линейно в зависимости от времени культивирования.

При этом наиболее высокое накопление ПА к 12 часам инкубации отмечено у *S. gallinarum* – pullorum 24 КСТ, которое составило $1,1 \pm 0,06$ мг/см³ культуры.

Промежуточное положение по уровню биосинтеза ПА занимают штаммы *S. choleraesuis* № 370 ($0,8 \pm 0,04$ мг/см³), *S. enteritidis* ($0,82 \pm 0,03$ мг/см³) и *S. dublin* № 373 ($0,78 \pm 0,04$ мг/см³).

У штаммов *S. gallinarum* - pullorum ЛБ, *S. typhimurium* № 371 и авирулентного *S. choleraesuis* ТС-177 отмечалось весьма низкое накопление ПА и составляло 0,48 – 0,66 мг/см³.

У всех штаммов сальмонелл после 12 часов культивирования биосинтез ПА в клетках тормозился.

Нами также было установлено, что состав среды оказывает влияние на уровень биосинтеза ПА у всех штаммов сальмонелл. Из результатов исследований видно, что максимальный уровень биосинтеза ПА у всех штаммов сальмонелл, кроме *S. choleraesuis* ТС-177, установлен на двухкомпонентной среде из гидролизатов белков крови (1,2 – 2,2 мг/см³). Достаточно высокий уровень биосинтеза установлен и на других средах из непищевого сырья.

Более того, на всех исследованных средах хорошей продукцией ПА отмечается *S. gallinarum* - pullorum 24 КСТ (1,3 – 2,2 мг/см³).

Важно было также исследовать влияние условий глубинного культивирования.

Нами установлено, что газо-вихревой аппарат обеспечивает более благоприятные условия для биосинтеза ПА у всех исследованных штаммов сальмонелл.

Накопление ПА через 12 часов культивирования разных культур сальмонелл в газо-вихревом аппарате в 1,46 – 1,7 раза выше, чем в ферментере с механическим типом перемешивания.

Выводы:

1. Для производственного получения иммуномодулятора целесообразно использовать питательные среды из непищевого сырья, так как они обеспечивают более высокое накопление полисахаридсодержащих антигенов.

2. Для культивирования сальмонелл целесообразно использовать газо-вихревой ферментер, так как обеспечиваются щадящие условия перемешивания и наиболее приемлемые условия массообмена бактериальных клеток.

3. Получение иммуномодулятора целесообразно осуществлять из культур *S. gallinarum* - pullorum 24 КСТ.

Литература

1. Бабина, М.П. Профилактика желудочно-кишечных болезней у цыплят-бройлеров микробным полисахаридом / М.П. Бабина // Ученые записки ВГАВМ. – Витебск, 1999. – Т.35, ч. 1. – С. 157 – 159.

2. Бабина, М.П. Препарат Сальмопул в повышении неспецифической и адаптивной защиты против болезни Ньюкасла / М.П. Бабина // Ученые записки ВГАВМ. – Витебск, 2001. – Т.37, ч. 1. – С. 7 – 8.