

УДК 619: 616. 98. 579. 842. 14

ВЛИЯНИЕ КАЧЕСТВА ПОСЕВНОГО МАТЕРИАЛА НА РОСТ САЛЬМОНЕЛЛ ПРИ ГЛУБИННОМ КУЛЬТИВИРОВАНИИ

Медведев А.П., Даровских С.В.

УО "Витебская ордена "Знак Почета" государственная академия ветеринарной медицины",
Республика Беларусь

Юдасин А.М.

Витебская биофабрика, Республика Беларусь

Промышленное производство препаратов для активной и пассивной профилактики сальмонеллеза животных тесно связано с необходимостью получения большого количества биомассы.

На Витебской биофабрике культуры сальмонелл получают путем глубинного выращивания бактерий в реакторах. В качестве посевного материала в реакторы вносят культуры, выращенные в течение 16-18 часов на мясо-пептонном бульоне (МПБ) в стеклянных баллонах. Рост бактерий в баллонах является периодическим, и через указанный промежуток времени культура будет находиться в фазе отмирания.

Известно, что возраст и качество посевного материала могут существенно влиять на концентрацию и длительность роста микроорганизмов при их глубинном культивировании.

Целью данной работы являлось изучение влияния посевного материала, взятого из разных фаз выращивания сальмонелл в баллонах на скорость роста их в реакторах, максимальную концентрацию и длительность лаг-фазы.

Для опытов использовали бактерии *S.cholerae sius* шт.370, которые выращивали на обычном мясо-пептонном бульоне. Концентрацию сальмонелл в питательной среде определяли с помощью стандарта мутности. Выживаемость бактерий устанавливали методом титрования на плотной питательной среде – мясо-пептонном агаре (МПА).

В предварительных опытах нами было выявлено, что длительность лаг-фазы при выращивании сальмонелл в баллонах составила 6 часов, фазы логарифмического роста – 12 часов, а затем наблюдалось постепенное отмирание бактерий, которое составило к концу культивирования 20% от количества сальмонелл в логарифмической фазе роста.

Упомянутый выше штамм сальмонелл культивировали в двух реакторах. Объем питательной среды в каждом реакторе составлял 150 литров. Для производственного опыта была использована среда одной серии, приготовленная в подготовительном цехе фабрики, отвечающая по биохимическим показателям требованиям нормативно-технической документации.

В один реактор в качестве посевного материала внесли 15 литров культуры, выращенной в течение 18 часов, а в другой – такой же объем культуры, но 10-часового роста, т.е. находящейся в экспоненциальной фазе.

Периодическое культивирование в реакторах вели в идентичных условиях (рН – $7,2 \pm 0,3$, температура – $37 \pm 0,5$ °С, скорость перемешивания – 120 об/мин., аэрация – 500 см³ воздуха на 1 литр среды), исследуя через каждые два часа концентрацию бактерий в питательной среде и их выживаемость.

В результате одновременного параллельного культивирования сальмонелл в реакторах были установлены следующие особенности этого процесса.

Рост бактерий в первом реакторе зарегистрирован через 5 часов от начала внесения посевного материала в питательную среду, а концентрация микробных тел достигла максимального значения через 10 часов роста и составила 20 млрд.м.т./см³. Выживаемость сальмонелл в начале логарифмической фазы роста составила 90%, а затем, на протяжении всего процесса культивирования, существенно не менялась и оставалась в пределах 90-92%.

В другом реакторе наблюдалась несколько иная динамика накопления бактерий в питательной среде. Продолжительность лаг-фазы составила 3 часа, скорость роста была более высокой, чем в первом реакторе. Максимальное накопление сальмонелл было зарегистрировано через 8 часов от начала роста и достигло 25 млрд.м.т./см³, а выживаемость бактерий составила 93%.

Таким образом, максимальная скорость размножения сальмонелл и накопление биомассы выявлены при использовании в качестве посевного материала культуры, находящейся в экспоненциальной фазе роста. Использование для посева такой культуры сокращает продолжительность лаг-фазы, время культивирования сальмонелл в реакторе, повышает производительность процесса, экономит время и труд микробиологов.

Литература

1. Воробьев А.А., Быков А.С., Пашкова Е.П., Рыбакова А.М. Микробиология. М.: "Медицина", 1998. – 335 с.
2. Павлович С.А. Основы иммунологии. Мн.: "Вышэйшая школа", 1997.-120с.

УДК 619: 579.842.14

КОНТРОЛЬ ПРОЦЕССА КУЛЬТИВИРОВАНИЯ САЛЬМОНЕЛЛ В РЕАКТОРАХ

Медведев А.П., Даровских С.В.

УО "Витебская орден "Знак Почета" государственная академия ветеринарной медицины",

Республика Беларусь

Юдасин А.М.

Витебская биофабрика, Республика Беларусь

Для активной профилактики сальмонеллеза животных Витебская биофабрика готовит вакцины трех наименований, а пассивной иммунизации и лечения больных подивалентную антитоксическую сыворотку.

Сальмонеллы для изготовления биопрепаратов культивируют глубинным методом в реакторах.

Основными требованиями, которые предъявляются к технологии производства препаратов, а также и к процессу глубинного культивирования микроорганизмов, являются воспроизводимость уровня качества и стандартность получаемого продукта.

Задача глубинного культивирования – максимальное накопление биомассы. Решение этой задачи тесно связано с контролем процесса культивирования бактерий в реакторах.

В вакцинном цехе биофабрики мы провели культивирование производственных штаммов сальмонелл, предназначенных для изготовления противосальмонеллезных вакцин и формолантигена для гипериммунизации волов – продуцентов лечебно – профилактической сыворотки.

Анализ процесса глубинного культивирования бактерий вскрыл необходимость контроля:

- производственных штаммов сальмонелл (*S.dublin*, *S.cholerae sius*, *S.typhimurium*, *S.abortus ovis*);
- питательной среды для микроорганизмов;
- условий их культивирования.

Контроль производственных штаммов сальмонелл предусматривает определение соответствия их биологических свойств паспортным данным. Поэтому необходимо определять морфологию штаммов, их тинкториальные, культуральные, биохимические, агглютиногенные свойства, серогрупповую принадлежность, диссоциацию культур. Исследование свойств штаммов необходимо проводить в соответствии с методиками, регламентированными нормативно – технической документацией на препараты.

Питательную среду проверяли на:

- биохимические показатели (содержание общего азота, аминного азота, триптофана, значение рН);
- стерильность путем посева среды на МПА, МПБ, Китта -Тароци и Сабуро с последующим выдерживанием в термостате и визуальным контролем высевок;
- ростовые свойства, которые определяли посевом сальмонелл на среду, предназначенную для их глубинного культивирования.

Глубинное культивирование сальмонелл в реакторах необходимо контролировать по следующим показателям:

- концентрации водородных ионов;
- чистоте растущей культуры;
- концентрации бактерий в процессе роста;
- стерильности воздуха, подаваемого в реактор;
- температурному режиму.

Концентрацию водородных ионов определяли с помощью электропотенциометра в соответствии с инструкцией, прилагаемой к прибору. Оптимальное значение рН должно быть в пределах 7,2 – 7,4. Чистоту растущей культуры контролировали путем микроскопии препаратов – мазков, окрашенных по Граму. Рост других микроорганизмов исключается.