

**Влияние условий культивирования штаммов различных серотипов
Streptococcus pneumoniae на выход и качество капсульных полисахаридов**

Научный руководитель – Ястребова Наталия Евгеньевна

Барановская Софья Александровна

Аспирант

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

E-mail: sofyabaranovskaya@gmail.com

Капсульный полисахарид (КПС) *Streptococcus pneumoniae* является основным фактором вирулентности и протективным антигеном пневмококка, а также ключевым компонентом конъюгированных противопневмококковых вакцин¹.

Учитывая требовательность *S. pneumoniae* к условиям роста и защитную роль капсулы, особое внимание уделяют параметрам культивирования, в том числе составу питательной среды, поскольку эти условия должны не только обеспечивать ростовые потребности, но и способствовать капсулообразованию.

Целью исследования явилось изучение влияния условий культивирования на рост пневмококка и накопление им КПС, а также на качество и выход получаемых КПС.

В работе использовали штаммы (шт.) эпидемиологически актуальных серотипов (сер.) *S. pneumoniae*: 9N, 9V и 23F, которые культивировали в течение $9,41 \pm 0,38$ ч. в ферментере при заданных параметрах ($t=36-37^{\circ}\text{C}$; $\text{pH}=7,3-7,8$; $V_{\text{мешалки}}$ 50 оборотов в минуту; минимальной подаче воздуха; 5% CO_2) в полусинтетической питательной среде, источником аминокислот в которой был соевый пептон. Ранее эти штаммы выращивали в колбах в стационарных условиях в CO_2 -инкубаторе (5% CO_2 .) Оптическую плотность культуры (ОП) измеряли при помощи фотоэлектроколориметрии; для определения накопления КПС использовали ракетный иммуноэлектрофорез. Получение и очистка КПС включали ультрафильтрацию супернатанта, очистку ферментами и депротеинизацию 70% фенолом. В полученных препаратах определяли содержание белка, углеводов (угл.) и нуклеиновых кислот (НК).

При выращивании различных штаммов в ферментере оптическая плотность культур не имела достоверных различий. При этом оптическая плотность культур при выращивании в стационарных условиях различалась, однако выход препаратов достоверно не различался. Максимальное различие в выходе препарата КПС было выявлено у сер.9V: 5,33 г - при управляемом культивировании и 1,964 г - при стационарном. При выращивании сер.9N и 23F различия в выходе при культивировании в различных условиях были менее значимыми. Препараты, полученные из культур, выращенных в стационарных условиях, содержали 5-11% НК и 4-9% белка. Тогда как в препаратах из культур, выращенных в ферментере, содержалось 2-5% белка и <1% НК. По содержанию угл. препараты достоверно не отличались.

Таким образом, культивирование пневмококка при управляемых условиях позволяло обеспечить оптимальные условия для роста культуры и накопления КПС. Препараты КПС, полученные из культур, выращенных в различных условиях и полученные с использованием одинаковой схемы очистки, отличались по качеству. Так, при одинаковом содержании угл. препараты КПС культур, выращенных в ферментере, содержали меньше примесей белка и НК, чем препараты, полученные из культур при стационарных условиях.

Источники и литература

- 1) Костюкова Н.Н., Бехало В.А.. Факторы патогенности пневмококка и их протективные свойства // Журн. микробиол.- 2014. – 3. – с. 67-77