

Таблица 1 – Агглютинирующая активность антигенов, приготовленных разными способами

Способ получения Продукта	Активность антигенов в РИД	Титр антител в РА			
		K88	K99	987P	Ф41
Способ №1	1: 8	1:200	1:100	1:200	1:200
Способ №2	1: 16	1:400	1:400	1:400	1:400
Способ №3	1: 8	1:200	1:200	1:200	1:200
Способ №4	1: 32	1:800	1:800	1:800	1:800
Способ №5	1: 8	1:200	1:100	1:200	1:200
Способ №6	1: 16	1:400	1:200	1:200	1:400
Способ согласно НД (контроль)	1: 8	1:200	1:200	1:200	1:200

Из результатов приведенных в таблице 1 видно, что получение адгезинов эшерихий с высокой биологической активностью обеспечивает способ №5.

Таким образом, для повышения выхода и активности адгезинов, экстракцию эшерихий проводят без отделения от культурной среды, полученный экстракт очищать на фильтре ФПКН-3-0,5, а далее их доочищать и концентрировать на мембранах УПМ-5 и УПМ-50.

Заключение. В ходе проведенных исследований получены результаты, на основании которых можно сделать следующие выводы:

1. Получение адгезивного антигена необходимо осуществлять из баксуспензии эшерихий, отделённой от питательного раствора, путем очистки и концентрирования с помощью мембран УПМ-5 и УПМ-50.

2. Разработанные условия очистки и концентрирования адгезивных антигенов эшерихий позволяют получить очищенный препарат, удельная активность которого в 2 – 4 раза выше, чем не очищенного.

Литература: 1. Головкин, А.Н. Средства диагностики и специфической профилактики колибактериоза нового поколения / А.Н. Головкин, В.А. Ушкалов // Ветеринарные и зооинженерные проблемы животноводства. – Витебск, 1996. – 92 с. 2. Гутковский, А.А. К методике исследования превентивных свойств сыворотки крови при разработке противозэшерихиозных биопрепаратов / А.А. Гутковский // Ветеринарные и зооинженерные проблемы животноводства. – Витебск, 1996. – 97с. 3. Гутковский, А.А. Первичный и вторичный колибактериоз поросят-отъемышей в комплексах / А.А. Гутковский // Ветеринарные и зооинженерные проблемы животноводства. – Витебск, 1996. – С.97-98. 4. Зелютков, Ю.Г. Идентификация адгезивных антигенов патогенных эшерихий / Ю.Г. Зелютков // Ученые записки ВГАВМ. – Витебск, 1995. – Т. 32, ч.1. – С. 108-110. 5. Ломако, Ю.В. Получение протективных антигенов на основе фимбриальных адгезинов и исследование их свойств / Ю.В. Ломако // Ученые записки ВГАВМ. – Витебск, 2002. – Т. 38, ч.1. – С. 66-68. 6. De Graat, F.K. Production, purification and characterization of the fimbrial adhesive antigen F41 isolated from calf enteropathogenic *Escherichia coli* strain B41 M / F. de Graat, I. Roorda // Infect. Immun. – 1982. – Vol. 36. – P. 751-753. 7. Evans, D.G. New surface-associated heat-labile colonization factor antigen (CFA/11) produced by enterotoxigenic *E. coli* of serogroups 06 and 08 / D.G. Evans, D.J. Evans // Infect. Immun. – 1978. – Vol. 21. – P. 638-647. 8. Evans, D.G. Detection and characterisation of colonization factor of enterotoxigenic *E. coli* isolated from adults with diarrhea / D.G. Evans, D.J. Evans, W.S. Tjoa // Infect. Immun. – 1978. – Vol. 19. – P. 727-736. 9. Evans, D.G. Purification and characterisation of the CFA/1 antigen of enterotoxigenic *Wscherichia coli* / D.G. Evans, D.J. Evans, S. Clegg // Infect. Immun. – 1979. – Vol. 25. – P. 738-748. 10. Gaastra, W. Hostspecific fimbrial adhesive of noninvasive enterotoxigenic *E. coli* strains / W. Gaastra, F. de Graaf // Microbiol. Rev. – 1982. – Vol. 46. – №2. – P. 129-161. 11. Isaacson, R.E. K99 surface antigen of *E. coli*: purification and partial characterization / R.E. Isaacson // Infect. Immun. – 1977. – Vol. 15/ - P. 272-279. 12. Isaacson, R.E. *Escherichia coli* 987P pili: purification and partial characterization / R.E. Isaacson, P. Richter // J. Bacteriol. – 1981. – Vol. 146. – P. 784-789.

УДК 619:615.373

ИЗГОТОВЛЕНИЕ И КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА СЫВОРОТКИ ПРОТИВ РОЖИ СВИНЕЙ, ПОЛУЧЕННОЙ ПО УСОВЕРШЕНСТВОВАННОЙ ТЕХНОЛОГИИ

Зайцев В.В., Дремач Г.Э.

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

Авторами статьи усовершенствована технология изготовления сыворотки против рожы свиней за счет приготовления новой питательной среды для культивирования рожистых бактерий, определения оптимального срока инактивации микроорганизмов, разработки способа очистки сыворотки от балластных веществ, изготовлена опытная партия препарата и проведен контроль его качества.

The technology for porcine erysipelas serum has been developed through the use of a new medium for cultivation, optimization of bacterium inactivation moment, a new method of purification and quality control.

Введение. Инфекционные болезни – одна из сложных проблем ветеринарной науки и практики. В борьбе с ними большое значение имеют специфические биологические препараты, которые предназначены для профилактики этих болезней и лечения больных животных.

Применение биопрепаратов, предназначенных для пассивной иммунизации, значительно улучшают эпизоотическое состояние животноводства, повышает продуктивность и сохранность поголовья, качество продуктов питания и сырья животного происхождения, играют важную роль в охране окружающей среды.

Для пассивной профилактики и лечения животных, больных инфекционными болезнями применяют гипериммунные сыворотки и выделяемые из них иммуноглобулины. Характерной особенностью сывороточ-

ных биопрепаратов является специфичность их действия, направленность против возбудителя, вызвавшего конкретную болезнь [3].

Лечебно-профилактические сыворотки содержат готовые антитела, поэтому пассивный иммунитет у животных наступает практически мгновенно при их введении. Ценность сывороток заключается еще и в том, что сывороточные белки пополняют организм энергетическими и пластическими веществами, оказывают неспецифическое действие на организм, повышают его тонус и способствуют выздоровлению больного организма [4].

Производство сывороточных препаратов – сложный и длительный процесс, который складывается из следующих этапов: поддержание производственных штаммов микроорганизмов, проверка их биологических свойств, приготовление питательных сред, культивирование бактерий и их инактивация, отбор животных в будущие продуценты сыворотки, их гипериммунизация, взятие крови от доноров, ее обработка (сепарация, дефибринация, получение сыворотки, консервация и отстой), расфасовка, укупорка, этикетировка и проверка качества продукции отделом контроля качества (ОКК) предприятия [3].

Выполнение работы по каждому из указанных этапов сопряжено с определенными трудностями.

Технология изготовления сыворотки против рожи свиней весьма трудоемка и энергозатратна. Отдельные технологические этапы требуют усовершенствования [1, 2]. Так, до настоящего времени для культивирования рожистых бактерий используются дорогостоящие питательные среды, не обеспечивающие высокий выход целевого продукта, что обуславливает необходимость поиска новых питательных основ, приготовленных из не дорогих отходов биологического производства, но способствующих высокому накоплению баксуспензии микроорганизмов. Имеются разногласия по вопросу инактивации антигена, фильтрации сыворотки и т.д. В связи с этим возникает необходимость в усовершенствовании технологии изготовления сывороточного биопрепарата.

Цель работы – усовершенствовать технологию изготовления сыворотки против рожи свиней, изготовить биопрепарат опытной серии и провести контроль его качества.

Материалы и методы исследований. Усовершенствование технологии изготовления сыворотки осуществляли по нескольким направлениям: разработке рецептуры питательной среды для культивирования рожистых бактерий, определения оптимального срока инактивации микроорганизмов, используемых для приготовления антигена для гипериммунизации продуцентов, разработке способа очистки сыворотки от балластных веществ.

В работе по разработке рецептуры питательной среды использовали следующие штаммы *E. rhusiopathiae*: ВГНКИ-6, ВР-2 и матрикс Конева. Культивирование штаммов осуществляли на питательной среде на основе гидролизата Хоттингера, включающей следующие компоненты (мас. %): основа – 25-30,0, пептон – 0,5, двузамещенный фосфорнокислый натрий – 1,8, дрожжевой экстракт – 0,5, печеночный экстракт – 5,0, натрий хлористый – 0,2, однозамещенный фосфорнокислый калий – 0,3, глюкоза – 0,1-0,4, твин-80 – 0,05, вода дистиллированная – до 100,0, которую использовали в качестве прототипа.

В качестве опытных питательных сред применяли среды из гидролизатов белков крови животных, белков мясокостной муки, белков говяжьего мяса с добавлением пептона, сыворотки крови, глюкозы, гидрофосфата натрия, дегидрофосфата калия, натрия хлорида, глицерина, витамина В₁ в различных сочетаниях и соотношениях. Всего было приготовлено 51 комбинация питательных сред.

Культивирование рожистых бактерий осуществляли при температуре 37°C в течение 24 часов.

Об эффективности использования приготовленных питательных сред судили по общей концентрации бактерий и количеству жизнеспособных клеток.

Общую концентрацию бактерий определяли по оптической плотности на приборе ФЭК-М в сравнении со стандартом.

Жизнеспособность бактерий определяли по общепринятой методике по количеству колоний, выросших на МПА в чашках Петри. Для этого готовили разведения культур от 10⁻¹ до 10⁻⁸ в физиологическом растворе и высевали приготовленные баксуспензии по 0,1 см³ в отдельные 3 чашки Петри. Посевы инкубировали 48 часов при температуре 37°C. Количество выросших колоний в каждой из 3 чашек Петри в разведении 10⁻⁷ и 10⁻⁸ суммировали, полученную сумму умножали на 10, степень разведения и исходное разведение культуры на физиологическом растворе (0,5:4,5).

Антиген готовили путем смешивания в одной емкости в равных соотношениях двух штаммов рожистых бактерий – матрикс Конева и № 1689. Выращивание микроорганизмов осуществляли на питательной среде из гидролизатов белков крови животных, содержащей источники азота, углерода, минеральные соли и стимулятор роста определенного состава. Культивирование культур производили при температуре 37°C в течение 13 часов. Инактивацию микроорганизмов проводили во флаконах для выращивания при периодическом перемешивании культур при температуре 37°C в течение 3, 4, 5 и 6 суток.

Для инактивации использовали формалин (36,6%), который добавляли до содержания в конечной среде 0,3% препарата.

Об эффективности оптимального срока инактивации культур судили по наличию роста микроорганизмов.

Сыворотку получали путем гипериммунизации волов-продуцентов приготовленным нами комплексным антигеном. Весь процесс гипериммунизации составил 5 инъекций антигена. Его вводили внутривенно в нарастающих дозах. Интервал между инъекциями составил 7, 4, 7 и 15 дней. Антиген вводили многогоразовым шприцем «Рекорд» сначала с правой стороны тела, затем – с левой.

Для проведения работы по испытанию и оценке эффективности различных схем очистки сыворотки против рожи свиней было разработано 3 схемы очистки.

Согласно первой схемы очистку сыворотки производили путем двухступенчатой глубинной фильтрации через фильтры «Ф» и «СФ», помещенные в фильтрдержателе.

По второй схеме очистку сыворотки производили первоначально путем глубинной фильтрации через фильтркартон по ГОСТ 12290-89 марок «Т», «КФО-1» и «КФМ», далее через фильтрпластины «СФ», помещенные в фильтрдержателе.

Согласно третьей схемы очистку сыворотки производили путем предварительной фильтрации через фильтркартон по ГОСТ 12290-89 марок «Т», «КФО-1» и «КФМ», а финишную очистку через фильтрующий элемент с порогом задержания частиц 0,22 мкм фирмы «Палл».

Об эффективности применяемых схем очистки судили по объему потери сыворотки и содержанию в ней посторонних включений, вымываемых из глубинных фильтров.

Приготовление сыворотки опытной серии проводили в условиях сывороточного цеха УП Витебская биофабрика» согласно промышленного регламента на данный биопрепарат с учетом ранее полученных результатов научных исследований.

Контроль качества полученной сыворотки осуществляли в ОКК УП «Витебская биофабрика» согласно требований ТУ РБ 00028493.147 – 99 «Сыворотка против рожи свиней» по следующим показателям:

- определение внешнего вида, цвета, наличия видимых механических включений;
- определение безвредности;
- определение активности (иммуногенности);
- определение концентрации водородных ионов (рН);
- определение стерильности.

Для проведения контроля качества сыворотки из выборки, предназначенной для испытания, готовили объединенную пробу, для чего отбирали точечные пробы объемом не менее 20 см³ не менее, чем из 10 флаконов с биопрепаратом. Отобранные точечные пробы соединяли вместе и тщательно перемешивали.

Для определения внешнего вида, цвета, наличия видимых механических включений все флаконы выборки с сывороткой просматривали визуально в проходящем свете. Одновременно проверяли правильность маркировки.

Безвредность сыворотки проверяли на 5 белых мышах массой 16-18 г, которым препарат вводили подкожно в область спины в дозе 0,5 см³. Сыворотку считали безвредной, если все иммунизированные животные в течение 10 дней наблюдения после ее введения оставались живыми и клинически здоровыми.

Для определения активности от объединенной пробы отбирали 10 см³ сыворотки, разводили физиологическим раствором в соотношении 1:9 и вводили белым мышам подкожно в область спины в дозе 0,2 и 0,3 см³. На каждую дозу сыворотки использовали по 3 лабораторных животных.

Через 24 часа всех иммунизированных и трех контрольных (не подвергнутых обработке сывороткой) мышей заражали подкожно 3-5 ЛД₅₀ бульонной культурой рожистых бактерий штамма *E. rhusiopathiae* № 149.

Сыворотку считали активной (иммуногенной) при выживании не менее 5 иммунизированных и гибели всех контрольных мышей в течение 3-4 суток.

Концентрацию водородных ионов (рН) сыворотки определяли с помощью потенциометра. Исследования проводили трехкратно. За конечный результат принимали среднее арифметическое трех измерений, расхождение между которыми должно не превышать 0,1 ед. рН.

Для определения стерильности использовали 5 флаконов с сывороткой. Из каждого флакона сыворотку в объеме 0,2 см³ высевали в пробирки с МПБ, МПА, средами Сабуро и Китт-Тароцци и во флаконы с МПБ и средой Китт-Тароцци. При этом использовали по 2 пробирки и по 2 флакона с каждой питательной средой. Через 2 суток из жидких питательных сред проводили пересевы на те же питательные среды и в тех же объемах, что и при посеве.

Посевы на среде Сабуро выдерживали в термостате при температуре 20-22^oС, а на остальных средах – при температуре 36-38^o в течение 10 суток первичные посевы, в течение 8 суток – вторичные.

Сыворотку считали стерильной, если ни в одной из засеянных сред не наблюдалось роста микроорганизмов.

Результаты исследований. В ходе исследований по разработке рецептуры питательной среды для культивирования рожистых бактерий нами установлено, что плотность баксуспензии микроорганизмов, выращенных на питательных средах из гидролизатов белков крови животных, белков мясокостной муки, белков говяжьего мяса, зависит от сочетания и соотношения добавляемых к ним компонентов. Нами установлен оптимальный состав питательных сред. Результаты культивирования на них микроорганизмов представлены в таблице 1.

Как видно из данных, представленных в таблице 1, общая концентрация рожистых бактерий, выращенных на приготовленных нами питательных средах, была в 2,4 и более раз выше, чем на среде из гидролизата Хоттингера, а количество жизнеспособных клеток соответственно в 3 и более раз.

В ходе проведенных исследований по определению сроков инактивации рожистых бактерий нами установлено, что при инактивации микроорганизмов в течение 3 суток наблюдается скудный рост микроорганизмов, при инактивации в течение 4 суток отмечается рост единичных культур. Инактивация в течение 5-6 суток обуславливает полное отсутствие роста рожистых бактерий. Следовательно, оптимальным сроком инактивации бактерий является 5 суток.

В ходе выполнения работы по усовершенствованию способа очистки сыворотки от балластных веществ нами проведено испытание и дана оценка эффективности различных схем очистки сыворотки. В работе применили 3 схемы очистки сыворотки. Результаты исследований представлены в таблице 2.

Как видно из представленных в таблице 2 данных, при очистке сыворотки по схемам № 1 и № 2 отмечалась ее потеря до 8-10%, а по третьей – 2-3%.

Кроме того, нами определено, что в сыворотку, очищенную по первым двум схемам, из глубинных фильтров вымывались водорастворимые соединения, которые являются аллергенами и канцерогенами. В

то же время сыворотка, очищенная по схеме № 3, не содержала посторонних включений.

Таким образом, способ очистки сыворотки путем ее фильтрации через фильтркартон марок «Т», «КФО-1» с финишной очисткой через фильтрующий элемент фирмы «Палл» обеспечивает снижение потери сыворотки в процессе очистки в 3-5 раз меньше, чем при использовании других способов, и позволяет избавиться от водорастворимых соединений, поступающих из глубинных фильтров.

Таблица 1 – Влияние состава питательных сред на общую концентрацию рожистых бактерий и количество жизнеспособных клеток

Состав питательной среды	Штаммы	Концентрация рожистых бактерий, млрд.м.к./см ³	Количество жизнеспособных клеток, млрд.м.к./см ³
Питательная среда из гидролизатов белков крови животных	ВР-2	9,6	9,0
	матрикс Конева	9,6	7,8
	ВГНКИ-6	9,0	7,8
Питательная среда из гидролизатов белков мясокостной муки	ВР-2	9,4	8,3
	матрикс Конева	9,7	7,9
	ВГНКИ-6	8,5	7,8
Питательная среда из гидролизатов белков говяжьего мяса	ВР-2	10,9	10,8
	матрикс Конева	9,8	9,4
	ВГНКИ-6	11,1	10,9
Питательная среда из гидролизата Хоттин-гера (прототип)	ВР-2	3,5	2,6
	матрикс Конева	2,8	1,7
	ВГНКИ-6	3,3	2,0

Таблица 2 – Эффективность различных схем очистки сыворотки

Схема очистки сыворотки	Потеря объема сыворотки после очистки, %
Схема № 1 (двухступенчатая глубинная фильтрация через фильтрпластины «Ф» и «СФ»)	8-9
Схема № 2 (фильтрация через фильтркартон марок «Т», «КФО-1», далее через фильтрпластины «СФ»)	9-10
Схема № 3 (фильтрация через фильтркартон марок «Т», «КФО-1», финишная очистку через фильтрующий элемент фирмы «Палл»)	2-3

При определении внешнего вида и цвета приготовленной сыворотки нами установлено, что она представляет собой прозрачную жидкость светло-желтого цвета без наличия жироподобной пленки и осадка, что допускается при длительном хранении биопрепарата.

Видимые механические включения в сыворотке отсутствуют.

Результаты контроля качества биопрепарата по биологическим свойствам представлены в таблице 3.

Как видно из данных таблицы 3, приготовленная сыворотка против рожи свиней опытной серии, отвечает требованиям действующих технических условий на данный биопрепарат.

Заключение. В ходе проведения научных исследований усовершенствована технология изготовления сыворотки против рожи свиней, получена опытная серия биопрепарата и проведен контроль его качества.

Выводы: 1. Усовершенствована технология изготовления сыворотки за счет приготовления питательной среды для культивирования бактерий, определения оптимального срока инактивации микроорганизмов, используемых для приготовления антигена для гипериммунизации продуцентов, разработки способа очистки сыворотки от балластных веществ.

2. Приготовленная сыворотка опытной серии по своему качеству соответствует требованиям действующих ТУ на данный биопрепарат.

Таблица 3 – Биологические свойства сыворотки против рожи свиней опытной серии

Наименование показателей	Характеристика и норма	Полученные результаты
Стерильность	Должна быть стерильной	Сыворотка стерильная – роста микрофлоры не наблюдается
Безвредность	Должна выдержать испытание	Сыворотка безвредная – все иммунизированные животные в течение 10 суток остались живыми и клинически здоровыми
Активность (иммуногенность)	Должна выдержать испытание	Сыворотка активная – все иммунизированные белые мыши после заражения остались живыми, а контрольные – пали в течение 3-4 суток
Концентрация водородных ионов (рН)	6,8-7,6	7,2

Литература: 1. Исаев, Е.В. Получение антигена для иммунизации продуцентов противорожистой сыворотки / Е.В. Исаев // Ветеринарная биотехнология: настоящее и будущее: материалы Межд. науч.-практ. конф., посвященной 80-летию ФГУП «Щелковский биокомбинат», Щелково, 20-23 сентября 2004. – Щелково, 2004. – С. 177-178. 2. Исаев, Е.В. Оценка активности рожистого в зависимости от способа его получения / Е.В. Исаев, Е.Э. Школьников // Ветеринарная биотехнология: настоящее и будущее: материалы Межд. науч.-практ. конф., посвященной 80-летию ФГУП «Щелковский биокомбинат», Щелково, 20-23 сентября 2004. – Щелково, 2004. – С. 178-180. 3. Медведев, А.П. Проблемы производства противобактериальных биопрепаратов для пассивной профилактики и лечения животных / А.П. Медведев, А.А. Вербицкий, С.В. Даровских / Ученые записки УО ВГАВМ. – Витебск, 2006. – Т. 42. – Вып. 1, ч. 2. – С. 37-40. 4. Медведев, А.П. Противобактериальные лечебно-профилактические сыворотки: монография / А.П. Медведев. – Витебск: УО ВГАВМ, 2007. – 379 с.

УДК 619 : 615. 371 / 372 : 616. 986. 7

РАЗРАБОТКА МЕТОДА КОНЦЕНТРИРОВАНИЯ ЛЕПТОСПИР

*Зайцев В.В., **Дремач Г.Э.
УП «Витебская биофабрика»

** УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»,
Республика Беларусь

Авторами статьи приводятся сведения о разработке нового метода концентрирования лептоспир. Концентрат антигена в небольших дозах обеспечивает адекватный иммунный ответ, характеризуется малой иммунизирующей дозой, обладает высокой устойчивостью лептоспир в процессе длительного хранения.

The article contains the data on a new method for concentration of leptospira bacteria. The obtained antigen in small doses gains on adequate immune response, requires small immune dose and a high endurance of leptospirae during storage.

Введение. Перекрестный иммунитет между лептоспирами различных серогрупп, а в ряде случаев и сероваров, либо не создается, либо очень слабо выражен. Поэтому вакцина, которая могла бы быть эффективна против всех лептоспир, должна содержать большинство сероваров. Изготовление такой вакцины технически не осуществимо, поэтому в каждом отдельном случае целесообразно определить – вакцина какого состава необходима для животных данного вида в определенном регионе.

Проведенное изучение этиологической структуры болезни позволило нам с достаточным основанием включить в состав биопрепарата для специфической профилактики лептоспироза крупного рогатого скота серогруппы возбудителя: Pomona, Tarassovi, Grippotyphosa, Sejroe; в вакцину против лептоспироза свиней – лептоспиры серогрупп Pomona, Tarassovi, Icterohaemorrhagiae.

Эпизоотологические показатели свидетельствуют о необходимости дальнейшего совершенствования средств специфической профилактики лептоспироза животных.

С 1990 года проводится работа по усовершенствованию технологии изготовления вакцины против лептоспироза [2, 3, 4, 5, 7, 11, 12].

В 1990 году в России внедрили концентрированную вакцину против лептоспироза [10], а с 1997 года – сухую вакцину [1, 6]. Однако она не получила практического применения из-за выпадения не разбивающегося осадка при длительном хранении.

Биологическая промышленность России в настоящее время выпускает вакцину против лептоспироза депонированную ВГНКИ и сухую вакцину [8, 9].

В нашей стране выпускается только депонированная вакцина против лептоспироза животных, содержащая в 1 см³ препарата 70 млн. лептоспир.

Цель настоящих исследований – разработка метода концентрирования лептоспир.

Материалы и методы. При выполнении научных исследований в работе использовали производственные штаммы лептоспир Grippotyphosa ВГНКИ-1, Icterohaemorrhagiae ВГНКИ-2, Canicola ВГНКИ-3, Tarassovi ВГНКИ-4, Sejroe Hardjo и Pomona ВГНКИ-6.

Культуру каждого штамма в дозе 7 млн.м.к./см³ внутривенно вводили кроликам с последующим исследованием сыворотки крови в РМА через 20-22 дня после введения культуры.

Исследуемый штамм считали активным в антигенном отношении:

а) если он давал положительную РМА на 2-4 креста не менее чем до половины титра сыворотки гомологичной серогруппы;

б) при титре антител в сыворотке крови кролика не менее чем 1:800.

Проверенные культуры лептоспир адаптировали к питательным средам, используемым для культивирования. Для их изготовления использовали сыворотку и лизированную кровь овец и гидролизат казеина.

Кровь овец брали в стерильные бутылки вместимостью 5 дм³, увлажненные физиологическим раствором. После свертывания крови бутылки встряхивали для отделения кровяного сгустка от стенок и помещали для отстоя сыворотки на 24 часа при температуре 2-10⁰С. Отстоявшуюся сыворотку сливали в стерильный бутыль, который помещали в водяную баню с температурой 57-58⁰С и прогревали при периодическом перемешивании в течение 30 минут.

Инактивированную сыворотку фильтровали через осветляющие и стерилизующие фильтры. Профильтрованную сыворотку проверяли на стерильность. Для этого сыворотку высевали на следующие пита-