

ви, оптимизированные по содержанию микроэлементов и витаминов. На вышеуказанных питательных средах в оптимизированных глубинных условиях была получена баксупензия сальмонелл с содержанием 83-94 % живых микробных клеток.

Очевидно, оптимизированные условия культивирования сальмонелл уменьшают вероятность повреждения клеток от собственных литических ферментов и их лизис.

Разработанные нами питательные среды используются в производстве биологических препаратов против сальмонеллеза животных.

Главным недостатком при производстве инактивированных вакцин против сальмонеллеза животных является разработанный еще в 60-е годы общепринятый метод инактивации, при котором используют избыточное количество инактиванта, чаще формальдегида, вводимого в бактериальные суспензии, и неоправданно длительный срок инактивации.

Нами был разработан оптимальный режим инактивации сальмонелл при производстве концентрированных формолквасцовых вакцин против сальмонеллеза (паратифа) телят и поросят, позволяющий в 2 раза уменьшить количество формальдегида, вводимого в культуру, и в двое сократить срок инактивации по сравнению с традиционной технологией.

**Закключение.** Совершенствование специфической профилактики сальмонеллезов животных возможно лишь при использовании высокоэффективных моно- и поливалентных вакцин, созданных по современной технологии промышленного производства, основанных на управляемых процессах получения, стабилизации и инактивации бактериальных культур и обеспечивающих высокую стабильность, качество и эффективность применения этих биопрепаратов на практике.

УДК 619: 576.852.17

## **ИЗУЧЕНИЕ РЕАКТИВАЦИИ ЛИОФИЛИЗИРОВАННОЙ КУЛЬТУРЫ РОЖИСТЫХ БАКТЕРИЙ**

**ЗАЙЦЕВ В.В., МАКСИМОВИЧ В.В., ДРЕМАЧ Г.Э., ЗАЙЦЕВА А.В., КУЛЕШОВА И.П.**

Витебская государственная академия ветеринарной медицины,  
Витебская биофабрика

Восстановление жизнедеятельности микроорганизмов после анабиоза изучено недостаточно. Разнообразие механизмов повреждения клеток при выделении их из состояния анабиоза объясняется как природой микроорганизмов, так и множеством повреждающих факторов, особенно на стадии регидротации, когда вследствие нарушения барьерных функций клеточных мембран ценные компоненты выходят в окружающую среду, а вода проникает внутрь клетки, вызывая плазмолиз. Паранекроз и липофанероз при ре-

гидротации также могут привести их к гибели (Упит А.А., 1969; Бекер М.Е., 1981; Ярцев М.Я., 1990).

Период восстановления лиофилизированных культур характеризуется устранением всех деструктивных изменений, реставрацией поврежденных при обезвоживании структур, отторжением и лизисом необратимо инактивированных участков, восстановлением деятельности ферментных систем (Опарин А.И., 1960). Установлено, что быстрее всего восстанавливают свои метаболические функции ядро и митохондрии, медленнее - цитоплазма (Рапопорт А.И., 1974). Для быстрого восстановления всех жизненных функций клеток микроорганизмов большое значение имеет выбор оптимальных условий, при этом решающую роль играют состав растворителя (Джубандыкова М.С., 1978), его температуры и времени экспозиции перед высевом на питательную среду (Ярцев М.Я., 1990). При удачном выборе этих условий выход жизнеспособных микроорганизмов в отдельных случаях увеличивается в десятки раз.

В настоящей работе изучали влияние состава растворителя, его температуры, а также время выдерживания в нем культуры *Erysipelothrix rhusiopathiae* ВР-2 и матрикс Конева на ее жизнеспособность.

В работе использовали культуры *E. rhusiopathiae* ВР-2 и матрикс Конева, лиофилизированные с различными защитными средами: 10%-ным пептоном, 10%-ным пептоном в калиевом буфере, обезжиренным молоком, сывороткой крови овец, сахарозой - желатиной (10 % сахарозы, 1,5 % желатины).

В качестве растворителя применяли физиологический раствор, дистиллированную воду, 0,5 %-ный раствор пептона на сложном калийфосфатном буферном растворе (СКФБ), мясопептонный бульон, бульон Хоттингера, гидролизат белков крови, а также разработанный нами растворитель для грамположительных бактерий (РГПБ). Перед высевом суспензии на МПА ее выдерживали при комнатной температуре 5, 30, 60 и 120 минут. Чтобы определить влияние температуры и времени экспозиции в растворителе, суспензию выдерживали при температурах 4-10<sup>0</sup>С, 18-22<sup>0</sup>С и 35-37<sup>0</sup>С, а также высевали на питательную среду через 0,5, 1,0 и 2,0 часа.

Жизнеспособность бактерий определяли по общепринятой методике по количеству колоний, выросших на МПА в чашках Петри.

Для проведения испытания на чистоту и типичность роста рожистые бактерии после ресуспендирования высевали в 2 пробирки с МПА, МПБ, МПЦБ под вазелиновым маслом, среду Сабуро. Питательные среды с посевами выдерживали в течение 48 часов в термостате при температуре 37<sup>0</sup>С (агар Сабуро - при 18-22<sup>0</sup>С в течение 10 суток). О чистоте роста рожистых бактерий судили по отсутствию роста другой микрофлоры. Типичность роста культуры определяли по характеру образования колоний на плотной питательной среде, а также по морфологическим свойствам бактерий в мазках, приготовленных из высевок.

Оценку влияния указанных факторов, а также их смешанного эффекта проводили по схеме однофакторного и двухфакторного дисперсионного анализа (Ветров А.А., Ломовацкий Г.И., 1975).

Проведенные исследования показали, что жизнеспособность культур рожистых бактерий, высушенных с разными средами, при выведении их из состояния анабиоза в значительной степени зависит от состава применяемого для этой цели растворителя.

В качестве растворителя нельзя использовать дистиллированную воду, так как она гипотонична по отношению ко всем бактериальным клеткам и не обладает буферными свойствами.

Так же не подходит для разведения физиологический раствор и фосфатный буфер, поскольку они обладают малой буферной емкостью и изотоничны только по отношению к клеткам млекопитающих. При разведении такими растворителями жизнеспособность культур рожистых бактерий падает на 50 % и более.

Такие растворители, как МПБ, бульон Хоттингера, имеют ряд недостатков: использование для их изготовления дорогостоящего пищевого сырья и не стандартность по составу.

Раствор пептона в калийфосфатном растворе и РГПБ обеспечивали выживаемость бактерий в процессе регидротации в течение 30 минут соответственно 70-86 и 92-100 процентов в зависимости от срока хранения препарата.

Применение растворителя РГПБ рекомендовано нами для бактериологического исследования при определении концентрации жизнеспособных микробных клеток рожистых бактерий в сухих вакцинах, депонированной вакцине против рожи свиней и производственных штаммов. Рецепттура растворителя внесена в научно-техническую документацию.

УДК 615.37.014.4

### **СТАБИЛИЗАЦИЯ САЛЬМОНЕЛЛ ПРИ ИЗГОТОВЛЕНИИ БИОПРЕПАРАТОВ**

**ЗАЙЦЕВ В.В., МАКСИМОВИЧ В.В., ЗАЙЦЕВА А.В., ДРЕМАЧ Г.Э.,  
ХАНЕЦКИЙ Ю.В., БИЛЕЦКИЙ О.Р., КОНСТАНТИНОВ А.В.**

Витебская биофабрика,

Витебская государственная академия ветеринарной медицины

Наиболее распространенным методом консервирования живых микроорганизмов при производстве биопрепаратов является сублимационное высушивание (Доликов К.Е., 1969; Бекер М.Е. и др., 1981; Ураков Н.Н. и др., 1988), которое обеспечивает достаточно длительное сохранение биологических свойств бактерий при положительных значениях температуры. Одно из главных требований в технологии получения сухих живых вакцин - максимальное сохранение жизнеспособности бактериальных клеток.