Разработка биолюминесцентного метода определения количества живых бактерий в лиофилизированных вакцинах

Балинер, Лев Михайлович

ОГЛАВЛЕНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

кандидат биологических наук Балинер, Лев Михайлович

ПРИНЯТЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

ВВЕДЕНИЕ

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Специфическая профилактика сальмонеллезов сельскохозяйственных животных

1.2. Производство лиофилизированных бактериальных вакцин 15 1.2. 1. Факторы, влияющие на выживаемость бактерий при изготовлении лиофилизированных вакцин

1. 2. 1. 1. Условия культивирования микроорганизмов . 17 1.2. 1.2. Концентрация бактерии в суспензии 20 1.2. 1.3. Устойчивость разных видов микроорганизмов к замораживанию-высушиванию 23 1.2. 1.4. Защитные среды и криопротекторы 23 1.2. 1.5. Сублимационное высушивание биопрепаратов

2. 1.6. Остаточная влажность препарата 27 1.2. 1.7. Газовая фаза гфи хранении сухих биопрепаратов и повреждающее действие кислорода

1.2. 1.8. Условия хранения высушенных вакцин

1. 2. 2. Контроль лиофилизированных вакцин

1.3. Косвенные методы определение количества жизнеспособных микробных клеток

1. 4. Определение количества жизнеспособных микробных клеток биолюминесцентным методом при помощи люциферинлюциферазной системы светляков 35 1.4. 1. Применение люциферазы светляков для решения биоаналитических задач 36 1. 4. 2. Методология биолюминесцентного определения количества микробной биомассы

1. 4. 2. 1. Подготовка образцов для определения АТФ

1. 4. 2. 2: Методы экстракции внутриклеточного АТФ

1. 4. 2. 3. Применение АТФ-метрии для контроля качества защитных сред при изготовлении лиофилизированных вакцин

ГЛАВА 2. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

2. 1. Вещества, реагенты и материалы 45 2. 2. Объекты исследования 45 2. 3. Использованная аппаратура 46 2. 4. Методики проведения экспериментов 46 2. 4. 1 Получение лиофилизированной вакцины S. typhimurium 46 2. 4. 1. 1. Приготовление культуры S. typhimurium 46 2. 4. 1. 2. Приготовление защитной среды

2. 4. 1.3. Приготовление суспензии бактерий с определенной концентрацией

2.4.1.4. Лиофилизация

2. 4. 1. 5. Контроль остаточной влажности 48 2. 4. 2. Определение количества живых бактерий методом посева предельных разведений 48 2. 4. 3. Измерение концентрации АТФ в бактериальных суспензиях биолюминесцентным методом

2. 4. 3. 1. Приготовление растворов и экстрактов АТФ

2. 4. 3. 2. Измерение биолюминесцентного сигнала •

2. 4. 3. 3. Расчет концентрации АТФ 50 2. 4. 4. Расчет титра клеток по результатам биолюминесцентных измерений

2. 5. Статистическая обработка результатов

2. 6. Результаты и обсуждения

2. 6. 1. Изготовление опытных серий живой вакцины на основе производственного штамма S. typhimurium N3 и изучение влияния рН защитной среды и разных режимов лиофилизации на выживаемость бактерий стр

2. 6. 1. 1. Изучение влияния рН защитной среды на выживаемость бактерий S.typhimurium

2. 6. 1. 2. Разработка оптимального режима сублимационной сушки S. typhimurium

2. 6. 2. Биолюминесцентное определение количества живых бактерий в лиофилизированных вакцинах S.typhimurium

2. 6. 2. 1. Оптимизация измерения концентрации внутриклеточного АТФ в бактериальных суспензиях

2. 6. 2. 2. Определение титра клеток в лиофилизированных вакцинах S.typhimurium с использованием стандартных АТФрастворов (первый способ)

2. 6. 2. 3. Определение титра клеток в лиофилизированных вакцинах S.typhimurium с использованием стандартных АТФэкстрактов (второй способ)

2. 6. 3. Определение титра клеток в лиофилизированных бактериях Е. coli штамм 115 ив промышленных образцах вакцин биолюминесцентным методом

ВЫВОДЫ

ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ