

4. Тельцов, Л.П. Локализация и образование щелочной фосфатазы в тонком кишечнике плодов крупного рогатого скота [Текст] // Сб. материалов 4-й науч. конф. физиол., биох. и фармакологов Западно-Сибирск. объединения. — Т. 2. Биохим. и фарм. — Красноярск, 1969. — С. 679-681.

5. Сулейманов, С.М. Функциональная морфология органов пищеварения и эндокринных желез новорожденных телят в норме и при диспепсии [Текст] : автореф. дис. ... док. вет. наук. — Казань, 1982. — 46 с.

6. Фомина, Л.С. Определение кишечной щелочной фосфатазы [Текст] // Современные методы в биохимии. Т. 1. — М. : Медицина, 1964. — С. 292-298.

7. Ойвин, И.А. Статистическая обработка результатов экспериментальных исследований [Текст] // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. — Т. 4. — 1960. — С. 76.

8. Дегтярев, В.П. Возрастные и видовые особенности активности пищеварительных ферментов у жвачных [Текст] : автореф. дис. ... док. биол. наук. — М., 1974. — 33 с.

9. Музыка, И.Г. Развитие и ферментативная активность двенадцатиперстной кишки телят красно-пестрой породы на этапе новорожденности [Текст] : автореф. дис. ... к.б.н. / И.Г. Музыка. — Саранск, 2011. — 25 с.

THE COMPARATIVE ANALYSIS OF ACTIVITY
OF ALKALINE PHOSPHATASE OF THE DUODENUM IN THE EMBRYOGENESIS

I.G. MUZYKA, L.P. TELTSOV, T.A. ROMANOVA

Summary. The comparative analysis of activity of alkaline phosphatase of the duodenum during the embryogenesis is represented in this article. There is a connection of alkaline phosphatase in the content of newborn calves of red-motley breed from the speed of the migration of epitheliocytes from the bottom of the villi to its top, extrusion of epithelium, its destruction and the migration of leukocytes in the cavity of intestines.

УДК 619 : 579.842.14

**ПРИМЕНЕНИЕ ФОРМАЛИНА И ТИОМЕРСАЛА
ДЛЯ ИНАКТИВАЦИИ САЛЬМОНЕЛЛ И ИХ ТОКСИНОВ**

Х.М. МУНЗЕР, аспирант

Витебская ордена «Знак Почета» ГАВМ, г. Витебск, Республика Беларусь

Резюме. Проведенная опытная работа свидетельствует о том, что сочетанное применение формалина и тиомерсала позволяет инактивировать сальмонеллы и их токсины при 42 °С в течение 4 суток.

Введение. Специфическую профилактику многих болезней бактериальной и вирусной природы осуществляют инактивированными вакцинами. В качестве инактиванта традиционно используют формалин. Это вещество применяют для инактивации культур сальмонелл при получении противосальмонеллезных вакцин и поливалентного антигена, предназначенного для гипериммунизации волов-продуцентов специфической лечебно-профилактической сыворотки [1, 2]. Для инактивации допускается формалин, содержащий не менее 36% формальдегида. К культуре сальмонелл добавляют 0,3-0,4% формалина и процесс инактивации проводят в течение 20-25 суток при периодическом перемешивании культуры. Недостатком такого способа инактивации является его длительность, возможное нарушение антигенной структуры сальмонелл и в этой связи — снижение иммуногенной активности бактериальных антигенов в составе препаратов для специфической профилактики сальмонеллёза [3, 4].

Поэтому разработка режима щадящей инактивации бактериальной массы — цель наших исследований, результаты которых представлены в данной статье.

Материалы и методы исследований. Выращенные реакторным способом культуры *S. choleraesuis* 370, *S. dublin* 373, *S. typhimurium* 371 и *S. abortusovis* 372 в концентрации 5 и 10 млрд м.к./см³ подвергли воздействию формалина, добавив его к культурам сальмо-

нелл из расчета 0,3% и в сочетании с тиомерсалом — 0,1% формалина + 0,01% тиомерсала. Инактивацию культур проводили при температуре 37 °С, перемешивая их не менее трех раз в течение суток. Спустя 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 и 8 часов делали высевы на МПА и МПБ с целью определения продолжительности периода воздействия инактивантов на бактерии, в течение которого происходит их полная инактивация. Кроме этого, через 2, 3, 5, 7, 10, 15 и 20 суток определяли полноту инактивации токсинов сальмонелл путем внутрибрюшинного введения белым мышам бакмассы, подвергнутой инактивации.

Результаты исследований. Результаты выполненной опытной работы отражает материал таблиц 1, 2.

Таблица 1 — Продолжительность инактивации сальмонелл под воздействием формалина

Наименование бактерий	Концентрация сальмонелл (млрд м.к./см ³)	Продолжительность инактивации в течение часов							
		1	2	3	4	5	6	7	8
S. choleraesuis	5	+	+	+	+	+	-	-	-
	10	+	+	+	+	+	-	-	-
S. dublin	5	+	+	+	+	+	-	-	-
	10	+	+	+	+	+	-	-	-
S. typhimurium	5	+	+	+	+	+	-	-	-
	10	+	+	+	+	+	-	-	-
S. abortusovis	5	+	+	+	+	-	-	-	-
	10	+	+	+	+	-	-	-	-

Примечание: «+» — рост бактерий, «-» — роста нет.

Из таблицы 1 видно, что полная инактивация сальмонелл наступает через 6 часов воздействия формалина как на бакмассу с концентрацией 5 млрд м.к./см³, так и с концентрацией ее 10 млрд м.к./см³.

При высевах инактивируемых культур на МПА и в МПБ через 6, 7 и 8 часов после добавления к бакмассе формалина видимого роста обнаружено не было, однако затем из пробирок с МПБ провели пересевы в пробирки со стерильным бульоном для того, чтобы определить, какое бактериостатическое или бактериоцидное действие оказал формалин на бактериальные клетки. Пробирки с бульоном выдерживали в термостате при 37 °С в течение 20 часов и затем просматривали на наличие видимого роста бактерий. При просмотре пересевов роста бактерий не наблюдали. Следовательно, формалин в течение 6-часового, тем более 7- и 8-часового срока инактивации оказывает на бактерии бактериоцидное действие.

Для определения полноты и необратимости инактивации токсинов сальмонелл под действием формалина опыты провели на белых мышах массой 16-18 г, которым инактивируемые культуры вводили внутрибрюшинно в дозе 0,5 см³. На каждую пробу инактивируемой культуры использовали 10 мышей. Результаты опытов сведены в таблицу 2.

Таблица 2 — Токсичность бакмассы сальмонелл в зависимости от срока инактивации

Наименование бактерий	Концентрация сальмонелл (млрд м.к./см ³)	Продолжительность инактивации токсинов сальмонелл						
		2	3	5	7	10	15	20
S. choleraesuis	5	5	3	1	1	0	0	0
	10	5	2	2	1	0	0	0
S. dublin	5	4	3	2	1	0	0	0
	10	4	2	2	2	0	0	0
S. typhimurium	5	4	3	1	2	0	0	0
	10	5	2	1	2	0	0	0
S. abortusovis	5	4	4	2	0	0	0	0
	10	4	3	2	1	0	0	0

Данные таблицы показывают, что концентрация бакмассы сальмонелл существенно не влияет на продолжительность инактивации их токсинов. Действительно, разница в количестве павших мышек от введения им бакмассы с концентрацией 5 и 10 млрд м.к./см³ незначительна. Как свидетельствует материал таблицы, инактивация токсинов сальмонелл полностью завершается в течение 10 суток.

Учитывая результаты проведенных опытов, мы решили определить влияние различных температурных режимов на полноту инактивации токсинов сальмонелл и ее продолжительность. Для этого бакмассу с концентрацией 10 млрд м.к./см³ инактивировали при температуре 37 и 42 °С. Результаты этого эксперимента представлены в таблице 3.

Таблица 3 — Влияние температурного режима на продолжительность инактивации токсинов сальмонелл

Продолжительность инактивации (сутки)	S. choleraesuis		S. dublin		S. typhimurium		S. abortusovis	
	Режим инактивации							
	37 °С	42 °С	37 °С	42 °С	37 °С	42 °С	37 °С	42 °С
1	5/0	5/0	5/0	4/1	5/0	3/2	5/1	3/2
2	4/1	3/2	3/2	2/3	3/2	3/2	4/1	3/2
3	3/2	2/3	3/2	1/4	3/2	4/1	3/2	2/3
4	3/2	1/4	2/3	1/4	3/2	0/5	1/4	1/4
5	2/3	0/5	1/4	0/5	2/3	0/5	1/4	0/5
6	1/4	0/5	1/4	0/5	1/4	0/5	0/5	0/5

Примечание: числитель — количество павших мышей, знаменатель — количество выживших особей.

Анализируя данные таблицы, можно утверждать, что инактивация токсинов сальмонелл при температуре 42 °С происходит более интенсивно и завершается через 5 суток после добавления формалина, т.е. при внутрибрюшинном введении мышам бакмассы, инактивированной в течение указанного срока, гибели их не наблюдается.

Из литературных источников известно, что особого внимания заслуживают способы инактивации токсинов микроорганизмов с применением нескольких химических веществ, которые позволяют сократить срок инактивации, сохранить иммуногенные свойства бактериальных антигенов и, следовательно, превентивную активность приготавливаемых из них биопрепаратов.

Поэтому нами проведена экспериментальная работа по апробации сочетанного применения формалина и тиомерсала для инактивации сальмонелл и их токсинов.

Формалин добавляли к бакмассе из расчета 0,1%, а тиомерсал — в количестве 0,01%. Инактивацию сальмонеллезной бакмассы в концентрации 10 млрд м.к./см³ проводили при температуре 42 °С. Такая концентрация сальмонелл и температурный режим определены нами на основании результатов выше проведенной работы. Инактивацию бакмассы сальмонелл провели в течение 7 суток. Ежедневно брали пробы инактивируемых культур и по 0,5 см³ культуры каждого сероварианта сальмонелл вводили внутрибрюшинно белым мышам. Наблюдение за мышами вели в течение 7 суток, отмечая павших и выживших особей. Кроме этого, через 1, 2, 3, 4, 5 часов делали высевы проб культур на МПА и в МПБ с целью определения срока инактивации бактерий.

Результаты опытной работы по определению срока инактивации токсинов сальмонелл представлены в таблице 4.

Исходя из данных таблицы 4, можно утверждать, что сочетанное применение формалина и тиомерсала приводит к полной инактивации токсинов сальмонелл в течение четырех суток.

Высевом проб инактивируемых культур на МПА и в МПБ установлено, что в течение трех часов воздействия формалина и тиомерсала на сальмонеллы видимого роста их на питательных средах обнаружено не было, т.е. за указанное время наступила полная инактивация бактерий.

Таблица 4 — Инактивация токсинов сальмонеллезных культур формалином в сочетании с тиомерсалом

Срок инактивации (сутки)	Наименование сальмонелл							
	S. choleraesuis		S. dublin		S. typhimurium		S. abortusovis	
	Пало	Выжило	Пало	Выжило	Пало	Выжило	Пало	Выжило
1	5	0	4	1	5	0	4	1
2	3	2	3	2	4	1	4	1
3	2	3	1	4	4	1	3	2
4	0	5	0	5	0	5	0	5
5	0	5	0	5	0	5	0	5
6	0	5	0	5	0	5	0	5
7	0	5	0	5	0	5	0	5

Из культур сальмонелл, инактивированных различными инактивантами при различных значениях температурного режима, нами были приготовлены препараты-мазки, окрашены по Граму и подвергнуты микроскопии. В поле зрения светового микроскопа морфология бактерий была типичной для рода *Salmonella*. Бактерии представляли собой грамотрицательные палочки с закругленными концами, располагались одиночно, попарно, небольшими скоплениями неопределенной формы.

Агглютинирующую активность сальмонелл, подвергнутых воздействию формалина, а также формалина и тиомерсала, определили в РА. Несмотря на применение различных инактивантов, титр агглютининов составил в среднем для *S. choleraesuis* 1:800 ± 100, *S. dublin* 1:1600 ± 200, *S. typhimurium* 1:800 ± 200, *S. abortusovis* 1:800 ± 100. Эти данные косвенно свидетельствуют о щадящем воздействии инактивантов на сальмонеллы.

Заключение. Проведенная опытная работа свидетельствует о том, что сочетанное применение формалина и тиомерсала позволяет инактивировать сальмонеллы и их токсины при 42 °С в течение четырех суток.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бушуева, Н.Б. Инактивация пастерелл и сальмонелл при изготовлении биопрепаратов [Текст] / Н.Б. Бушуева, М.Я. Ярцев // Ветеринария. — 1997. — № 11. — С. 23-25.
2. Медведев, А.П. Инактивация сальмонелл димером этиленмина [Текст] / А.П. Медведев, Т.П. Иванова, С.В. Даровских // Учёные записки УО «Витебская государственная академия ветеринарной медицины»: научно-практ. журнал. — Витебск: УО ВГАВМ, 2005. — Т. 41. — Вып. 2. — Ч. 1. — С. 36-37.
3. Костина, Г.И. К вопросу о механизмах химической инактивации микроорганизмов [Текст] / Г.И. Костина // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. — 1981. — № 8. — С. 25-32.
4. Джавадов, Э.Д. Разработка инактивированной вакцины против сальмонеллёза птиц [Текст] / Э.Д. Джавадов // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. — 2010. — № 2. — С. 45-48.

USE OF FORMALINUM AND THIOMERSAL FOR INACTIVATION OF SALMONELLAE AND THEIR TOXINS

KHORD MUNSER MUKHAMMAD

Summary. The carried out experimental work gives evidence that the combined use of Formalinum and Thimersal allows inactivating salmonellae and their toxins at temperature of 42 °C for 4 days.