

Из культур сальмонелл, инактивируемых различными инактивантами, нами были приготовлены препараты-мазки, окрашены по Граму и подвергнуты микроскопии. В поле 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. dublim* 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 37°C в течение 4 суток, т.е. сокращает продолжительность инактивации в 4 раза.

Литература. 1. Бушуева, Н. Б. Инактивация пастерелл и сальмонелл при изготовлении биопрепаратов / Н. Б. Бушуева, М. Я. Ярцев // *Ветеринария*. – 1997. - № 11. – с. 23-25. 2. Медведев, А. П. Инактивация сальмонелл димером этиленмина / А. П. Медведев, Т. П. Иванова, С. В. Даровских // *Ученые записки УО «Витебская государственная академия ветеринарной медицины»: научно-практический журнал*. – Витебск: УО ВГАВМ, 2005. – т.41, вып. 2 ч. 1. – с. 36-37. 3. Ленев, С. В. Профилактика и диагностика болезней сельскохозяйственных животных / С. В. Ленев, Ю. А. Молохов, В. В. Шорохов // *Сборник научных трудов ВГНКИ*. – Москва, 2001. – Т. 62. – С.52-57.

УДК 619:614.48:636.934.57

ГАЛЬКЕВИЧ М.А., студент

Научный руководитель **КРАСОЧКО И.А.**, д-р вет. наук, профессор

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

ЭФФЕКТИВНЫЙ СПОСОБ ВЫДЕЛЕНИЯ БАКТЕРИАЛЬНОГО ЛИПОПОЛИСАХАРИДА ИЗ БАЦИЛЛ

Введение. В последние годы большое внимание заслуживают разработки иммуномодуляторов, действие которых направлено на повышение резистентности организма животных и специфическую иммуностимуляцию. В мире уже накоплен достаточный опыт по использованию иммуномодуляторов при различных патологиях и для усиления иммунного ответа организма животного при вакцинациях. В мире возрос интерес исследователей к липополисахаридам (ЛПС) клеточной стенки грамотрицательных им грамположительных бактерий.

Биологическая активность молекул ЛПС обуславливает пирогенность, летальную токсичность, антигенность, митогенность, связывание с мембранами эукариотических клеток, антикомплементарную активность, активацию комплемента, индукцию гиперчувствительности I (немедленного) типа, индукцию воспалительной реакции, неспецифическую (поликлональную) иммуностимулирующую активность. Бактериальные липополисахариды прямым действием на микроорганизмы не обладают, повышение устойчивости к инфекциям целиком обусловлено антиинфекционными механизмами макроорганизма - увеличение резистентности наступает через четыре часа после инъекции, достигает максимума через сутки, затем снижается, но остается на достаточном уровне в течение недели. Наиболее отчетливый эффект при их введении отмечается в макрофагах и нейтрофильных гранулоцитах, которые резко увеличивают фагоцитарную функцию, выраженность протеолитических ферментов, окислительно-восстановительные реакции. После введения полисахаридов в крови увеличи-

вается число нейтрофильных гранулоцитов и их поглотительная способность, причем максимум фагоцитарной активности лейкоцитов удерживается значительно дольше, чем лейкоцитов. Препараты ЛПС на первом этапе изучения получали различными методами - экстракцией трихлоруксусной кислотой, смесью петролейного эфира/хлороформа/фенола и с использованием горячей водно-фенольной методики. Далее появились новые методики экстракции - экстрагирование в растворе EDTA-триэтанол-амин (TEAoL) или EDTA-триэтиламина (TEA), афинная хроматография на колонках, содержащих полимиксин-агарозу, посредством щелочного гидролиза бактерий 1%-ным раствором гидроксида натрия, гидролиза в 1% уксусной кислоте.

Исходя из литературных данных, наиболее доступным, продуктивным и эффективным является метод выделения ЛПС посредством щелочного гидролиза бактерий 1%-ным раствором гидроксида натрия, посредством которого в бактериальную суспензию вносят сухой порошок гидроксида натрия, растворяют перемешиванием, подвергают кипячению и центрифугированию, осадок удаляют, а надосадок подвергают осветляющей фильтрации. Недегрированный ЛПС сохраняет почти полностью специфичность О-антигена в реакциях с антисыворотками, а также обнаруживает другие биологические свойства эндотоксина.

Целью настоящего исследования явилась оценка эффективности выделения бактериального липополисахарида из бацилл методом щелочного гидролиза.

Материалы и методы исследований. Исследования проводили в условиях кафедры микробиологии и вирусологии УО ВГАВМ. Объектом исследования служили спорообразующие бактерии - бациллы, в частности - *Bacillus subtilis*. Бактерии выращивали в 1,5-литровых матрасах на мясо-пептонном агаре при температуре 37°C в течение 48 часов. Выросшие бактерии смывали стерильным изотоническим раствором натрия хлорида. В суспензию бактерий добавляли натрия гидроокись до конечной 1% концентрации. Термогидролиз осуществляли при температуре 96-100°C в течение 60 минут. Освобождение взвеси от клеточного шлама проводили в два этапа путем центрифугирования. В работе использовали надосадочную жидкость, содержащую липополисахарид. Осаждение липополисахарида осуществляли соляной кислотой для нейтрализации щелочи и доведения pH 2,5-5,0. Реакционную смесь помещали в 1-2 литровой цилиндр. ЛПС оседал в течение 24 часов, после чего осадок отмывали изотоническим раствором натрия хлорида с pH 4,0-5,0. Осадок растворяли изотоническим раствором натрия хлорида с pH 8,5-10,0. Массовую долю ЛПС определяли путем взвешивания бикса до и после высушивания при температуре 95-100°C. Подлинность определяли методом с использованием фенола и серной кислоты.

Результаты исследований. После выращивания бацилл на МПА и их смыва получено 1000 мл бактериальной взвеси и концентрация составляла 1×10^{10} микробных тел в 1 мл. Полученный раствор липополисахарида из *Bacillus subtilis* имел концентрацию 12,5 мг/мл. Реакция с фенолом и серной кислотой была положительной - в течение 10 мин. полученный раствор приобретал розовое окрашивание, переходящее в желто-коричневый цвет.

Заключение. Таким образом, методика получения бактериального полисахарида с помощью щелочного гидролиза позволила получить конечный продукт высокой концентрации и специфичности.

Литература. 1. Методические рекомендации по использованию бактериальных липополисахаридов для стимуляции иммунной системы животных /Красочко П.А. и др. //Утв. деп. вет. и прод. надзора МСХП РБ № 6704 от 6.11.2013 г.. УП «Арти-Фекс», Минск, 2013. - 40 С.