

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ЛИПОПЛИСАХАРИДОВ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СПОСОБОВ ВЫДЕЛЕНИЯ

КРАСОЧКО П.А., МАШЕРО В.А., КАПИТОНОВА Е.А.
РНИУП «Институт экспериментальной ветеринарии им.
С.Н.Вышелесского НАН Беларуси», г.Минск

В последние годы вопросу изучения бактериальных липополисахаридов (ЛПС) исследователями уделяется большое внимание. Это обусловлено тем, что они являются поликлональными активаторами В-системы лимфоцитов, т.е. происходи активизация этой субпопуляции как *in vivo*, так и *in vitro*. Даже незначительные дозы ЛПС позволяют активизировать биосинтез антител, повышать функциональную активность лимфоцитов. Часто бактериальные ЛПС используются с целью повышения резистентности или стимуляции поствакцинального иммунитета у животных. Однако при выделении ЛПС из условно-патогенных бактерий - сальмонелл, кишечной палочки, синегнойной палочки, шигелл, после обработки животных часто отмечаются осложнения - отек легких, тахикардия, угнетение общего состояния.

Снижение реактогенности бактериальных ЛПС для животных достигается путем использования в качестве их источника бактерий, непатогенных для теплокровных животных. Такими бактериями могут служить бактерии, выделяемые из насекомых, в частности - возбудители заболеваний пчел.

Целью настоящего исследования явилось отработка оптимального способа выделения бактериального ЛПС из возбудителя европейского гнильца пчел - *Vac.alvei* и оценка иммунологической активности выделенных липополисахаридов.

Накопление бактериальной массы осуществляли на мясо-пептонном агаре путем культивирования при 37 °C в течение 2-х суток. Полученную бактериальную массу смывали стерильным изотоническим раствором натрия хлорида. Получение бактериальных ЛПС осуществляли с помощью гидролиза трихлоруксусной кислотой по Буавену-Месробиану, дистиллированной водой, уксусной кислотой, гидроокисью натрия, гидрокарбонатом натрия.

Иммунологическую оценку бактериальных ЛПС, выделенных различными способами, проводили с помощью реакции бласттрансформации лимфоцитов (РБТЛ) по заключению H^3 тимидина при синтезе ДНК. При этом

использованы различные разведения полисахаридов - 10,0 мкг/мл; 20,0 мкг/мл; 30,0 мкг/мл; 40,0 мкг/мл; 50,0 мкг/мл; 100,0 мкг/мл; 200,0 мкг/мл; 400,0 мкг/мл. В качестве контроля использованы общезвестные митогены - липополисахариды из *E.coli* и *Bact.prodigiosum*. Отношение числа импульсов в минуту в пробе с митогеном к таковому в контроле без митогена принимали за индекс стимуляции.

В результате проведенных исследований установлено, что при использовании 5,0 г сырой бактериальной массы *Bac.alvei* для получения ЛПС получено: с помощью трихлоруксусной кислоты - 29 мг конечного продукта, уксусной кислоты - 125 мг, гидроокиси натрия - 520 мг, гидрокарбоната натрия - 260 мг, дистиллированной воды - 150 мг.

Однако иммунологическая оценка полученных препаратов при постановке РБТЛ оказалась различной. Индекс стимуляции при использовании бактериального ЛПС, полученного при помощи трихлоруксусной кислоты в концентрации 10 мкг/мл был $2,3 \pm 0,08$; 50 мкг/мл - соответственно $4,44 \pm 0,14$; 100 мкг/мл - $1,59 \pm 0,14$; 200 мкг/мл - $1,31 \pm 0,07$; 400 мкг/мл - $1,08 \pm 0,11$.

Индекс стимуляции ЛПС, полученного с помощью уксусной кислоты составлял: 10 мкг/мл - $2,49 \pm 0,08$; 50 мкг/мл - $1,69 \pm 0,58$; 100 мкг/мл - $4,46 \pm 0,07$; 200 мкг/мл - $2,45 \pm 0,04$; 400 мкг/мл - $1,25 \pm 0,11$.

Активность ЛПС, полученного с помощью гидроокиси натрия была: 10 мкг/мл - $2,41 \pm 0,09$; 50 мкг/мл - $3,78 \pm 0,88$; 100 мкг/мл - $4,22 \pm 0,13$; 200 мкг/мл - $2,01 \pm 0,07$; 400 мкг/мл - $1,35 \pm 0,19$.

ЛПС, полученный с помощью гидрокарбоната натрия активизировал лимфоциты следующим образом: 10 мкг/мл - $1,50 \pm 0,09$; 50 мкг/мл - $1,79 \pm 0,06$; 100 мкг/мл - $2,29 \pm 0,08$; 200 мкг/мл - $1,33 \pm 0,03$; 400 мкг/мл - $1,17 \pm 0,04$.

Использование дистиллированной воды позволило получить ЛПС со следующей активностью: 10 мкг/мл - $1,31 \pm 0,09$; 50 мкг/мл - $2,18 \pm 0,43$; 100 мкг/мл - $1,86 \pm 0,31$; 200 мкг/мл - $1,23 \pm 0,02$; 400 мкг/мл - $1,09 \pm 0,15$.

При постановке РБТЛ с контрольными митогенами установлено, что индекс стимуляции с ЛПС из *E.coli* при концентрации 40 мкг/мл $4,7 \pm 0,75$; 50 мкг/мл - $9,31 \pm 0,96$; 100 мкг/мл - $10,36 \pm 0,86$; 200 мкг/мл - $3,01 \pm 4,03$.

ЛПС из *Bact. prodigiosum* имел следующую активность: при концентрации 40 мкг/мл $3,08 \pm 0,83$; 50 мкг/мл - $16,31 \pm 4,76$; 100 мкг/мл - $21,52 \pm 3,6$; 200 мкг/мл - $4,31 \pm 0,05$.

В результате проведенных исследований установлено, что наибольший выход бактериального ЛПС получен при использовании щелочного гидролиза гидроокиси натрия, а наименьший выход - при кислотном гидролизе

трихлоруксусной кислоты, но иммунологическая активность у изучаемых ЛПС была более высокой при получении с помощью уксусной кислоты. Однако конечный выход липополисахарида, получаемого с помощью уксусной кислоты в 4 раза меньше, чем при использовании гидроокиси натрия, хотя иммунологическая активность полученных препаратов была практически одинакова.

ПРОТИВОПАРАЗИТАРНАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ АЛЬВЕОЗАНА

С.В.Полоз

РУП «Белорусский научно-исследовательский институт
экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышеселесского»
Республика Беларусь, г. Минск

Инвазионные болезни имеют широкое распространение у песцов, выращиваемых на мех в звероводческих хозяйствах Республики Беларусь. Многие антгельминтные препараты оказывают иммунодепрессивное влияние на организм пушных зверей, к тому же они дорогостоящие.

Целью нашей работы было изучение противопаразитарного действия препарата, полученного из бактериальной массы возбудителя европейского гнильца пчел *Vas. alvei* и определение наиболее эффективной дозы. Для этого по принципу аналогов были подобраны 4 группы песцов (по 20 животных в каждой) спонтанно инвазированных гельминтами и простейшими. Трем группам песцов альвеозан задавали 7 дней подряд 1 раз в день с водой. Животные четвертой группы препарат не получали и служили контролем.

Зверям первой группы, зараженность которых составила: токсаскаридами - 60%, токсокарами - 50%, унцинариями - 35%, *Isospora canivelocis* - 25%, *Isospora vulpina* - 25%, применили препарат в дозе 40 мкг/кг живой массы.

Зверям второй группы, зараженность которых составила: токсаскаридами - 45%, токсокарами - 40%, унцинариями - 35%, *Isospora canivelocis* - 25%, *Isospora vulpina* - 20%, применили препарат в дозе 50 мкг/кг живой массы.

Зверям третьей группы, зараженность которых составила: токсаскаридами - 55%, токсокарами - 30%, унцинариями - 35%, *Isospora canivelocis* - 30%, *Isospora vulpina* - 25%, применили препарат в дозе 70 мкг/кг живой массы.