

# 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. происходит 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 °С 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-Месробяну, дистиллированной водой, уксусной кислотой, гидроокисью натрия, гидрокарбонатом натрия.

Иммунологическую оценку бактериальных ЛПС, выделенных различными способами, проводили с помощью реакции бласттрансформации лимфоцитов (РБТЛ) по заключению Н<sup>3</sup> 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 общеизвестные митогены - липополисахариды из *E.coli* и *Bact.prodigiousum*. 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 *Vac.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. prodigiousum* 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.

## ПРОТИВОПАЗИТАРНАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ АЛЬВЕОЗАНА

С.В.Полоз

РУП «Белорусский научно-исследовательский институт  
экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелецкого»  
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 противопазитарного 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: токсамаскаридами - 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: токсамаскаридами - 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: токсамаскаридами - 55%, токсокарами - 30%, унцинариями - 35%, *Isospora*