

Л.Д. Варбанец,¹ д.б.н., В.В. Шубчинский¹, С.И. Похил², к.м.н.

ХАРАКТЕРИСТИКА ЭНДОТОКСИЧЕСКОГО ЛИПОПОЛИСАХАРИДА PRAGIA FONTIUM DRL 27480

¹Институт микробиологии и вирусологии НАН Украины, г. Киев²Институт микробиологии и эпидемиологии им. И.И. Мечникова МЗ Украины, г. Харьков

В последние годы отмечается увеличение количества больных с тяжелыми заболеваниями, вызванными грамотрицательными бактериями. Ведущую роль в патогенезе этих заболеваний играют эндотоксины, которые, с одной стороны, вызывают серию патофизиологических реакций, в ряде случаев заканчивающихся летальным исходом, а с другой, стимулируют факторы неспецифической резистентности макроорганизма. С химической точки зрения эндотоксины представляют собой липополисахариды (ЛПС), имеющие в составе своих молекул липидный компонент, называемый липидом А, который отвечает за эндотоксические свойства молекулы, а также углеводный компонент: О-специфический полисахарид, определяющий серологическую специфичность, и коровый олигосахарид, играющий существенную роль в поддержании целостности внешней мембраны бактерий. Несмотря на значительный прогресс в исследованиях ЛПС, все еще не изученными остаются ЛПС сапрофитных и условно-патогенных бактерий, роль которых в патогенезе инфекционных заболеваний резко повысилась в последние годы как результат процесса эволюционной конверсии микроорганизмов, интенсифицированный широким и бесконтрольным использованием антибиотиков и ухудшением экологический условий. К этой группе микроорганизмов относится и новый вид Enterobacteriaceae — *Pragia fontium*. В 1988 г. чешские исследователи [1], проанализировав свойства 18 выделенных ими штаммов сероводород- образующих атипич-

ных энтеробактерий, обнаружили новый род в семействе Enterobacteriaceae, представленный одним видом *Pragia fontium*. Средой обитания представителей этого вида является вода, почва, поэтому достаточно часто они встречаются при проведении санитарно- бактериологических исследований. Изредка эти бактерии выделяют из клинического материала, однако медицинское значение их не доказано.

В литературе отсутствуют данные по выделению, характеристике, серологическим свойствам липополисахаридов *P. fontium*. Вместе с тем такие исследования позволят понять механизм индукции и развития биологического действия липополисахарида, а также его функционирования на молекулярном уровне. Данные по строению липополисахарида составляют химическую основу внутривидовых классификационных схем бактерий, необходимых для эпидемиологических целей, в частности, для идентификации штаммов, вызывающих инфекции.

Целью данной работы является изучение состава и биологических свойств липополисахарида *P. fontium*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Объектом исследований служила культура *Pragia fontium* DRL 27480, выделенная из водопроводной воды в г. Vlachovo Brezi (Чехия) в 1988г. [1]. Культуру выращивали на жидкой питательной среде N [2] в условиях качалок (220 об/мин) при температуре 28°C, в течение 24 часов.

Выделение и очистку липополисахаридов из высушенных ацетоном

и эфиром клеток проводили по методу [3]. ЛПС экстрагировали 45% водным фенолом при 65–68°C. Водный слой диализовали против водопроводной, затем дистиллированной воды, очищали от нуклеиновых кислот путем осаждения насыщенным раствором трихлоруксусной кислоты (ТХУ) и трехкратного центрифугирования при 144.000 x g 4 ч, после чего лиофилизировали.

Фракции ЛПС анализировали на наличие белка по методу [4], углеводов — [5], нуклеиновых кислот — [6]. Гептозы определяли реакцией с цистеином и серной кислотой [7], содержание 2-кето-3-дезоксикетовой кислоты (КДО) — реакцией с тиобарбитуровой кислотой [7].

Фракции ЛПС получали путем кислотного гидролиза в 1% уксусной кислоте (4 ч, 100°C). Фракцию липида А осаждали при ультрацентрифугировании гидролизата при 144 000 x g, 40 мин, фракции, соответствующие О-специфической полисахаридной цепи и олигосахариду кора, выделяли гелем-фильтрацией углеводной части деградированного ЛПС на колонке с сефадексом G-50, используя пиридин-ацетатный буфер (рН 4.5).

Для определения жирнокислотного состава ЛПС (10 мг) растворяли в 3 мл 1.5% раствора ацетилхлористого в метаноле и гидролизовали при 100°C в запаянных ампулах (4 ч). Гидролизат трижды экстрагировали гексаном (по 3 мл) и высушивали в вакууме. Метилловые эфиры жирных кислот анализировали на хромато-масс-спектрометре "Agilent" 6890/5973 N.

Для идентификации нейтральных моносахаридов препараты гидролизировали 2N HCl в течение 5 ч при 100°C, а затем анализировали методом газожидкостной хроматографии (ГЖХ) в виде ацетатов полиолов [8] на приборе марки "Chrom-5" с пламенно-ионизационным детектором на колонке (3,0 мм x 1,2м) с 3% неопентилсукцинатом на хромосорбе W (80–100 меш) при режиме хроматографии 170–200°C (3°C/мин).

Содержание аминокислот и гексозаминов определяли после гидролиза 6 N HCl в течение 20 ч при 100°C на анализаторе аминокислот KLA-5 ("Hitachi", Япония).

Антисыворотку к гретой (2,5 ч, 100°C) культуре *P. fontium* шт. 27480 получали в результате четырех внут-

ривенных иммунизаций кроликов возрастающими дозами суспензии микробных тел (от 2×10^6 до 5×10^7 клеток/мл) с интервалами между инъекциями 7 суток. Животных обескровливали на 7-е сутки после последней инъекции (под эфирным наркозом).

Антигенную активность ЛПС изучали реакцией двойной иммунодиффузии в агаре по методу Оухтерлони [9].

Токсичность ЛПС исследовали на мышях, сенсибилизированных галактозамингидрохлоридом, путем определения ЛД₅₀ при внутривенном введении.

Пирогенность ЛПС изучали на кроликах путем внутривенного введения установленной минимальной пирогенной дозы ЛПС с последующей термометрией животных в течение 3 часов.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Открытые более 100 лет тому назад эндотоксины грамотрицательных бактерий не только продолжают оставаться в центре внимания исследователей, но и интерес к их изучению постоянно возрастает. Это связано с тем, что, занимая внешний слой внешней мембраны грамотрицательных бактерий, ЛПС играют важную роль в различных взаимоотношениях хозяин-паразит и при освобождении в циркуляцию вовлекаются в патогенез и токсические проявления бактериальной инфекции, такие как лихорадка, летальная токсичность, пирогенность и др. Таким образом, эндотоксины являются наиболее мощными индукторами локальной и генерализованной воспалительной реакции,

включая синдром сепсиса, от которого в мире погибает от 30% до 80% больных. Вместе с тем эндотоксины проявляют широкий спектр полезных эффектов, таких как индукция цитокинов, интерферонов, проявляют противоопухолевое, антилейкозное действие. Такие биологические свойства являются результатом своеобразного химического состава и структуры ЛПС.

Исследование ЛПС, изолированного водно-фенольным методом из *P. fontium*, показало, что его выход из клеток составлял 9,5%. Это сравнительно выше, чем у других грамотрицательных бактерий (до 5,0%), но близки к таковым *Rahnella aquatilis* — 7,0% — 9,3% [10]. ЛПС, выделенный из *P. fontium*, характеризовался высоким содержанием нуклеиновых кислот — до 30,0%, что вполне логично, учитывая особенности метода его выделения. Вместе с тем высокая степень загрязнения нуклеиновыми кислотами, вероятно, является характерным признаком препаратов ЛПС представителей *P. fontium*, как и *R. aquatilis* [10], *Ralstonia solanacearum* [11]. Очистку ЛПС от нуклеиновых кислот проводили, используя несколько циклов ультрацентрифугирования, а также насыщенный раствор трихлоруксусной кислоты, образующей с нуклеиновыми кислота-

ми нерастворимые комплексы. Оказалось, что этот метод очистки от нуклеиновых кислот более эффективен, чем ультрацентрифугирование, однако при его использовании потери ЛПС были значительно большими, так как определенная часть его выпадала в осадок вместе с нуклеиновыми кислотами. В очищенном ЛПС выявлено высокое содержание углеводов — 70,0%, 0,5% белка и 11,2% нуклеиновых кислот (табл. 1).

Анализ моносахаридного состава ЛПС методом ГЖХ показал (таблица 2, рис. 1А), что преобладающими моносахаридами были глюкоза (33,3%) и рамноза (37,8%). Кроме указанных моносахаридов, в ЛПС *P. fontium* выявлены рибоза (14,7%) и галактоза (6,0%). Характерными компонентами ЛПС *P. fontium* являются гептоза (8,2%) и КДО, которая в недеградированном ЛПС присутствует в следовых количествах. Невозможность выявить КДО в молекуле ЛПС обусловлена проблемами, с которыми исследователи сталкиваются при химическом анализе КДО: ее функциональные группы могут быть замещены другими остатками, что затрудняет их идентификацию. Так, если в КДО в положении 4 (или 5) находится фосфатная группа, а в положении 5 (или 7) углеводная цепь, невозможно обра-

Таблица 1

Характеристика ЛПС *P. fontium* шт. 27480

Препарат	Выход (в % к сухому весу клеток)	Содержание (в % к сухому весу препарата)		
		углеводов	нуклеиновых кислот	белка
ЛПС	9,5	70,0	11,2	0,5

Таблица 2

Моносахаридный состав ЛПС *P. fontium* шт. 27480

Препараты	В % к сумме площадей пиков						В % к сухому весу препарата
	рамноза	рибоза	глюкоза	галактоза	арабиноза	гептоза	КДО
ЛПС	37,8	14,7	33,3	6,0	—	8,2	0,0007
О-ПС	36,6	—	9,8	—	53,6	—	—
ОГ-кора	17,8	6,0	9,0	—	49,9	17,3	*

Примечания: "—" — не обнаружено, "*" — не определяли

зование фрагмента ОНС-CH₂-CO-СООН, который дает положительную реакцию с тиобарбитуровой кислотой [12].

Таким образом, впервые выделенный нами ЛПС *P. fontium* содержит все характерные для этих биополимеров компоненты.

ЛПС — это сложные молекулы, в составе которых, кроме гидрофильной углеводной части: О-специфического полисахарида и корового олигосахарид, присутствует гидрофобная часть — уникальный по структуре гликолипид — липид А, который в природе в свободном виде не существует и является компонентом только ЛПС. Все три структурные компоненты молекулы ЛПС отличаются по степени консервативности. Для их выделения был использован мягкий кислотный гидролиз, в результате которого разрушается связь между остатком КДО, компонента корового олигосахарид, и остатком глюкозамина (II), входящего в состав липида А. Липид А отделяли при центрифугировании гидролизата. Липид А является наиболее консервативной частью молекулы ЛПС, своеобразие его жирнокислотного состава используется как один из хемотаксономических критериев при выяснении филогенетических взаимосвязей между микроорганизмами, а также решения вопросов таксономии. Известно [13], что липиды А разных видов бактерий отличаются между собой составом жирных кислот, в первую очередь гидроксированных, который является довольно стабильным показателем, поэтому может быть использован как один из хемотаксономических критериев. Анализ жирнокислотного состава липида А ЛПС *P. fontium* 27480 (рис. 2) показал наличие жирных кислот с длиной цепи от С12 до С16, а также одного неидентифицированного компонента (31,06%). Преобладающими жирными кислотами являются тетрадекановая (27,9%) и 3-ОН-тетрадекановая (19,9%). Обнаружены также додекановая (4,3%), гексадекановая (8,24%) и гексадеценовая (8,5%). Ненасыщенные жирные кислоты не являются характерными компонентами липида А, хотя в литературе описаны единичные случаи их выявления в составе липида А [14]. Таким образом, как и для всех представите-

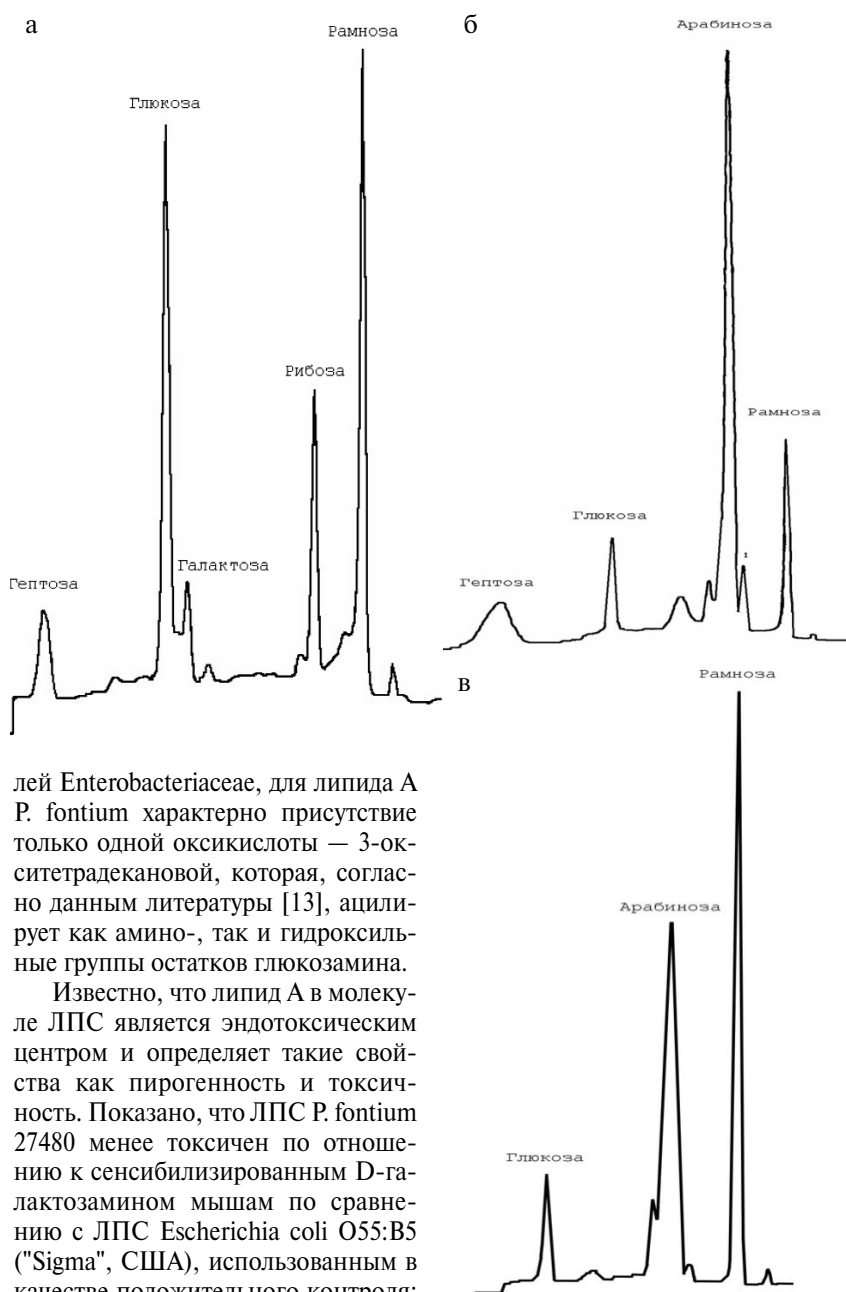


Рисунок 1. Моносахаридный состав:
а — липополисахарида,
б — олигосахарид, в — О-специфического полисахарида

лей Enterobacteriaceae, для липида А *P. fontium* характерно присутствие только одной оксикислоты — 3-окситетрадекановой, которая, согласно данным литературы [13], ацилирует как amino-, так и гидроксильные группы остатков глюкозамина.

Известно, что липид А в молекуле ЛПС является эндотоксическим центром и определяет такие свойства как пирогенность и токсичность. Показано, что ЛПС *P. fontium* 27480 менее токсичен по отношению к сенсibilизированным D-галактозамино мышам по сравнению с ЛПС *Escherichia coli* O55:B5 ("Sigma", США), использованным в качестве положительного контроля: 20 мкг/мышь и 0,14 мкг/мышь, соответственно. Вместе с тем ЛПС *P. fontium* более токсичен, чем ЛПС такого патогена, как *Yersinia pestis*, LD₅₀ которого составляет от 300 до 1000 мкг/мышь [15]. Согласно данным литературы [13], существенную роль в проявлении эндотоксических свойств играют жирные кислоты: липиды А с короткоцепочечными углеродными цепями жирных кислот менее токсичны или совсем не токсичны по сравнению с липидами А, содержащими длинные цепи жирных кислот. Так, липид А *Marinomonas vaga* ATCC 27119 [16], характеризующийся пентаацильным типом структуры, в составе которой обнаруживают исключительно короткоцепочечные жирные кислоты,

в частности 3-оксидекановая и 3-оксидодекановая, проявляет низкую токсичность: LD₅₀ составляет 1,46 мкг/мышь. LD₅₀ *Yersinia pseudotuberculosis* O:16 составляет 0,063 мкг/мышь. Липиды А представителей Enterobacteriaceae, в составе которых присутствует 3-окситетрадекановая кислота, характеризуются высокой токсичностью [13]. Вместе с тем ЛПС *Rhodobacter capsulatus*, в липиде А которого присутствуют две 3-окситетрадекановые кислоты, две 3-оксидекановые и од-

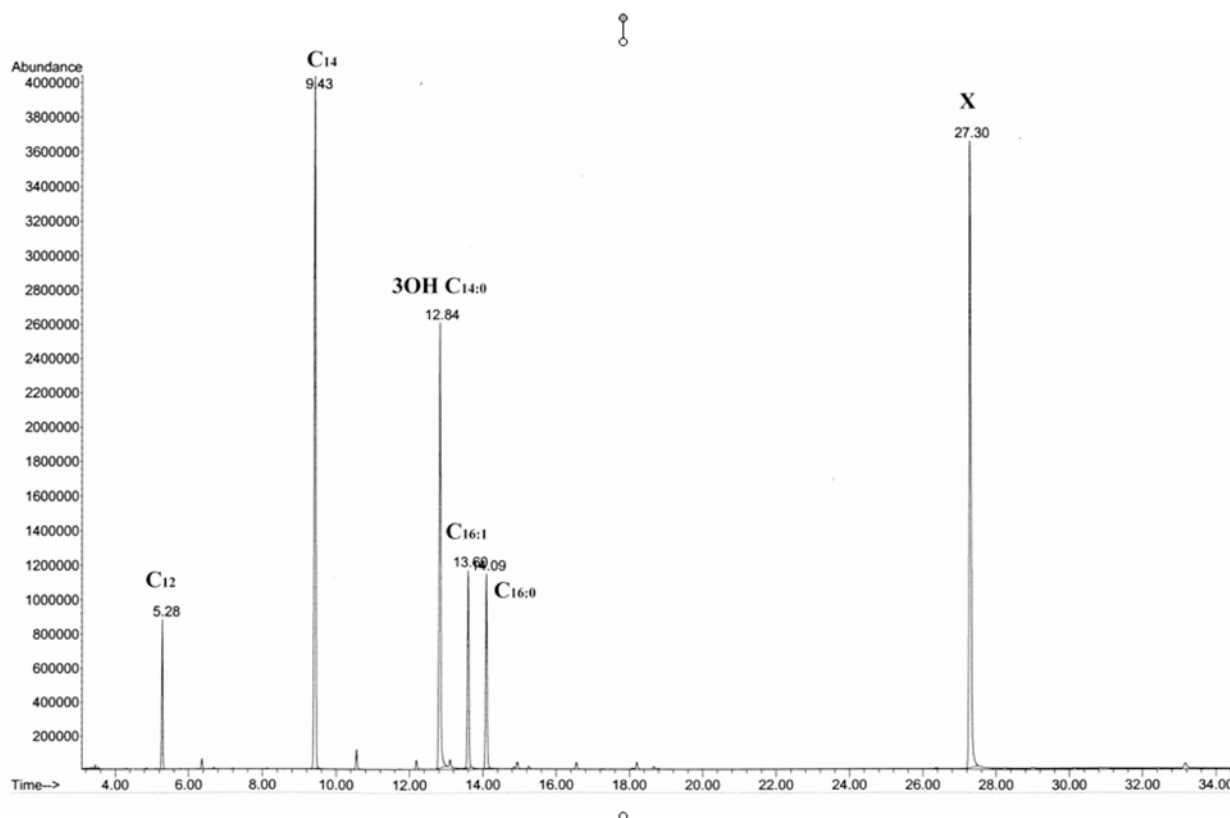


Рисунок 2. Жирнокислотный состав липида А ЛПС *P. fontium*

на 3-оксидодеценую кислоту (то есть всего 5 жирных кислот), не обладают эндотоксической активностью. Показано [17], что липид А *Salmonella minnesota*, включающий в себя нестехиометрически 7-ую жирную кислоту — гексадекановую, которая ацилирует 3-ОН-С₁₄:О в положении 2 редуцирующего GlcN₁, а также ЛПС *Rhodocyclus gelatinosus*, в липиде А которого присутствуют жирные кислоты с короткими углеродными цепями (С=10), проявляют высокую токсичность и пирогенность.

Анализ приведенных довольно противоречивых данных дает возможность предположить, что важную роль в проявлении эндотоксической активности играет не только длина углеродной цепи жирной кислоты, а и другие факторы: количество жирных кислот, наличие остатков фосфора, конформация молекулы липида А, а также, возможно, и другие компоненты.

ЛПС *P. fontium* проявлял пирогенность, аналогичную ЛПС типового штамма *Rahnella aquatilis*, представителя нового вида *Enterobacteriaceae*, изученного нами ранее [18] и был более пирогенен, чем "Пирогенал" — фармацевтический препарат, полученный на основе

ЛПС *Shigella typhi*: отклонение температур составляло +0.88, +1.11, +1.41 и +0.69, +0.50, +0.71 через 1, 2 и 3 ч, соответственно, после их введения.

Известно, что препараты ЛПС всегда гетерогенны, что в первую очередь связано с присутствием в S-формах бактерий молекул с различной длиной полисахаридной цепи и молекул R-форм, лишенных полисахаридных цепей. О существовании такой гетерогенности свидетельствует наличие высокомолекулярной фракции О-специфического полисахарида (ОПС, фракция I) и низкомолекулярных фракций корового олигосахарида (фракции II и III), полученных при гель-фильтрации на Сефадексе G-50 водорастворимых продуктов гидролиза ЛПС (рис. 3). Такого рода гетерогенность ЛПС обусловлена особенностями его биосинтеза и может способствовать более плотной упаковке молекул ЛПС, что создает определенную топографию клеточной поверхности, необходимую для функционирования бактериальной клетки.

Анализ моносахаридного состава корового олигосахарида, более варибельной по сравнению с липидом А частью молекулы ЛПС, пока-

зал (табл. 2, рис. 2Б), что преобладающими компонентами кора были арабиноза (49,9%) и рамноза (17,8%). Гептоза и глюкоза, характерные компоненты корового олигосахарида многих видов грамотрицательных бактерий, составляли 17,3% и 9,0%, соответственно. Содержание рибозы составляло 6,0%. Арабиноза считается редко встречающимся моносахаридом корового олигосахарида. Ранее она была выявлена в олигосахаридах коры *Proteus mirabilis* R45/1959 [19] и ряде штаммов *R. solanacearum* [11].

Наиболее варибельной частью молекулы ЛПС является О-специфический полисахарид, который стремится обмануть иммунную систему хозяина, изменяя в процессе эволюции состав и структуру и, тем самым, защищая бактерии от неблагоприятных воздействий окружающей среды. Преобладающими моносахаридами ОПС *P. fontium* являются арабиноза (53,6%) и рамноза (36,6%). Содержание глюкозы составляло 9,8% (табл.2, рис. 2В). Анализ известных структур О-специфических полисахаридов липополисахаридов, как представителей энтеробактерий, так и других грамотрицательных бактерий, свидетель-

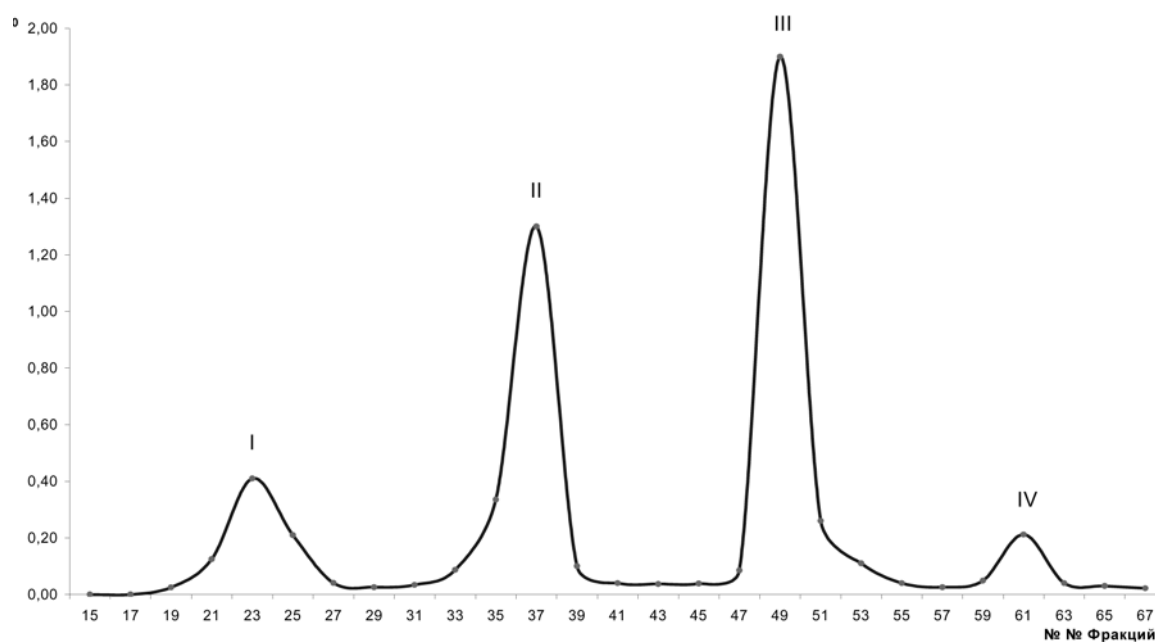


Рисунок 3. Профиль элюции на сефадексе G-50 углеводной части деградированного ЛПС *P. fontium*

ствует о довольно своеобразном химическом составе О-специфического полисахарида *P. fontium*. Дальнейшие исследования, направленные на установление структуры О-специфического полисахарида, покажут, насколько она уникальна для исследуемого штамма.

ЛПС являются основными термостабильными антигенами грамотрицательных бактерий и определяют ее серологическую специфичность. При проведении серологических исследований в качестве антител была использована кроличья поликлональная антисыворотка, полученная к прогретой культуре *P. fontium* 27480. Антигеном служил ЛПС, выделенный из этого штамма. В реакциях копреципитации и

агглютинации были установлены титры исследуемой антисыворотки, которые составляли 1:80 000 и 1:51 200, соответственно. Результаты двойной иммунодиффузии в агаре (рис. 4) свидетельствуют о том, что ЛПС *P. fontium* 27480 является серологически активным в гомологичной системе, то есть, как и ЛПС других исследованных грамотрицательных бактерий, является антигеном микробной клетки.

Таким образом, нами впервые из представителя нового вида семейства Enterobacteriaceae — *Pragia fontium* DRL 27480 выделен ЛПС, получены и химически охарактеризованы его структурные компоненты. ЛПС проявляет токсичность и пирогенность, что свойственно эн-

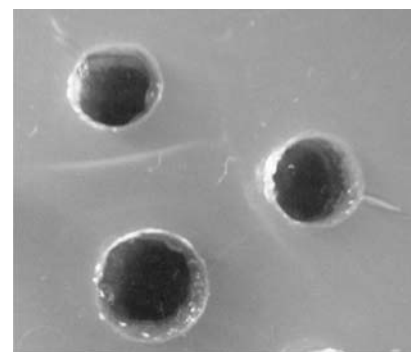


Рисунок 4. Двойная иммунодиффузия в агаре по Оухтерлони ЛПС (1) *P. fontium* с гомологичной антисывороткой (А)

дотоксическим ЛПС. Выделенный ЛПС проявляет активность антигена в гомологичной системе.

ЛИТЕРАТУРА

1. Aldova E., Hausner O., Brenner J. *Pragia fontium* gen. nov., sp. nov. of the family Enterobacteriaceae, isolated from water // Int. J. System. Bacteriol. — 1988. — 38. — P. 183-189.
2. Vidaver A. Synthetic and complex media for the rapid detection of fluorescence and phytopathogenic pseudomonas: effect of carbon source // Appl. Microbiol. — 1967. — 15, №6. — P. 1523-1524.
3. Westphal O. and Jann K. Bacterial lipopolysaccharides extraction with phenol — water and further application of the procedure. // In: Methods in Carbohydrate Chemistry (Whistler, R.L. and Wolfrom, M.L., Eds.) — , New York: Academic Press, 1965. — 5. P. 83 — 91.
4. Lowry O., Rosenbrogh N., Farr A., Randall R. Protein measurement with the Folin reagent // J. Biol. Chem. — 1951. — 133, № 1. — P. 265 275.
5. Dubois M., Gilles K., Hamilton J., Rebers P.A., Smith F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances // Annal. Chem. — 1956. — 28, № 2. — P. 350 356.
6. Спирин А.С. Определение нуклеиновых кислот // Биохимия. — 1958. — 23, № 5. — С. 656-662.
7. Захарова И.Я., Косенко Л.В. Методы изучения микробных полисахаридов. — Киев: Наук. думка, 1982. — 189с.
8. Albershein P., Neviss D.J., English P.D., Karr A. A method for analysis of sugars in plant cell-wall polysaccharides by gas-liquid chromatography // Carbohydr. Res. — 1976. — № 3. — P. 340-345.
9. Ouchterlony O. Diffusion-in-gel methods for immunological analysis // Prog. Allergy. — 1962. — 6. — P. 3 15.
10. Варбанец Л.Д., Остапчук А.Н., Винарская Н.В. Выделение и характеристика липополисахаридов *Rahnella aquatilis* // Микробиол. журн. — 2004. — 66, №2. — С. 25 — 34.
11. Варбанец Л.Д., Васильев В.Н., Броварская О.С. Характеристика липополисахаридов *Ralstonia solana-cearum*

- // Микробиология. — 2003. — 72, №1. — С. 19-25.
12. Caroff M., Lebbar S., Szabo L. Do endotoxins devoid of 3 — deoxy — D — manno — 2 — octulosonic acid exist // Biochem. Biophys. Res. Comm. — 1987. — 143. — P. 875 — 884.
 13. Takayama K., Qureshi N. Chemical structure of lipid A. In: Morison DC, Ryan JL (Eds): "Bacterial endotoxic lipopolysaccharides". — 1992. — 1. — P. 43-60.
 14. Akiyama Y., Nishckawaji S., Eda S. Lipopolysaccharide of *Pseudomonas solanacearum* // Agr. Biol. Chem. — 1985. — 49, N4. — P. 1193-1194.
 15. Павлович Н.В., Тынянова В.И. Возможные механизмы реализации токсического потенциала липополисахаридов патогенных бактерий // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. — 2005. — №2. — С. 9-12.
 16. Капустина Н.В., Красикова И.Н., Исаков В.В., Горшкова Н.М., Соловьева Т.В. // Структура липида А из липополисахарида *Marinomonas vaga* ATCC 27119т // Биохимия. — 2004. — 69, №4. — С. 504-510.
 17. Mayer H., Krauss J.H., Yokota A., Weckesser J. Natural variants of lipid A. In Friedman H., Klein T.W., Nakano M., Nowotny A. (Eds): "Endotoxin". — Amsterdam: Elsevier, 1990. — P. 45-70.
 18. Остапчук А.Н., Варбанец Л.Д. Биологическая активность нативных и модифицированных липополисахаридов *Rahnella aquatilis* // Микробиол. журн. — 2004. — 66, №6. — С. 31-36.
 19. Holst O. Chemical structure of the core region of lipopolysaccharides // Endotoxin in health and disease /Eds. Brade H. et al. — New York: Marcel Decker, 1999. — 928 p.

Л.Д. Варбанець, В.В. Шубчинський, С.І. Похил

ХАРАКТЕРИСТИКА ЕНДОТОКСИЧНОГО ЛІПОПОЛІСАХАРИДУ PRAGIA FONTIUM DRL 27480

Вперше з *Pragia fontium* DRL 27480 — представника нового виду Enterobacteriaceae, виділений ліпополісахарид (ЛПС) та його структурні компоненти: О-специфічний полісахарид, коровий олігосахарид і ліпід А. Домінуючими жирними кислотами ліпиду А є тетрадеканова (27,9%) і 3-окситетрадеканова (19,9%). Коровий олігосахарид представлений арабінозою (49,9%), рамнозою (17,8%), гептозою (17,3%) та глюкозою (9,0%), в той час як О-специфічний полісахарид — арабінозою (53,6%), рамнозою (36,6%) та глюкозою (9,8%). ЛПС *P. fontium* є токсичним і пірогеним. В реакції подвійної імунодифузії в агарі проявляє серологічну активність з гомологічною анти сироваткою.

L.D. Varbanets, V.V. Shubchinskyi, S.I. Pohyl

CHARACTERIZATION OF ENTOTOXIC LIPOPOLYSACCHARIDE OF PRAGIA FONTIUM DRL 27480

The endotoxic lipopolysaccharide (LPS) from the *Pragia fontium* DRL 27480 has been isolated and investigated for the first time. The structural components of LPS molecule such as lipid A, core oligosaccharide and O-specific polysaccharide were isolated by mild acidic hydrolysis. In lipid A, 3-hydroxytetradecanoic (19,9%) and tetradecanoic (27,9%) acids were found to be predominant fatty acids. In the core oligosaccharide, arabinose (49,9%), rhamnose (17,8%), heptose (17,3%) and glucose (9,0%) were shown to be the major monosaccharides. The O-specific polysaccharide consist of arabinose (53,6%), rhamnose (36,6%) and glucose (9,8%). Lipopolysaccharide of *P. fontium* is toxic and pyrogenic. In the reactions of double immunodiffusion in agar by Ouchterlony LPS reacted with antiserum raised against the *P. fontium* DRL 27480 cells.