

**Сенькович С. А.**

*Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет,  
Беларусь*

**Лептеева Т. Н.**

*Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет,  
Беларусь*

**Окулич В. К.**

*Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет,  
Беларусь*

## **ИССЛЕДОВАНИЕ ПРЯМОЙ БАКТЕРИЦИДНОЙ АКТИВНОСТИ ПОЛИКЛОНАЛЬНЫХ IgG ЛИЦ С ГНОЙНО-ВОСПАЛИТЕЛЬНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ В ОТНОШЕНИИ БАКТЕРИЙ С РАЗНОЙ СТРУКТУРОЙ КЛЕТОЧНОЙ СТЕНКИ**

Развитие гнойно-воспалительных осложнений остается актуальной проблемой современной медицины. Более 35 % пациентов хирургического профиля страдают гнойно-воспалительными заболеваниями, на инфекционные осложнения по-прежнему приходится 40–70 % летальных случаев в хирургических стационарах [1, 2].

Современные подходы в здравоохранении предусматривают повышение эффективности проводимого лечения, сокращение длительности лечения хирургической инфекции [3]. Создание и совершенствование новых схем терапии и методов диагностики гнойно-воспалительных заболеваний требует ясного понимания механизмов взаимодействия системы иммунитета макроорганизма с инфекционным агентом.

К настоящему времени показано, что иммуноглобулины способны проникать через неповрежденную цитоплазматическую мембрану эукариотических клеток и ускорять их гибель [4]. Мы предположили, что антитела могут вызывать гибель бактериальных клеток без участия системы комплемента и иммунных клеток.

**Цель исследования:** оценить бактерицидную активность поликлональных IgG в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий без участия комплемента и иммунных клеток.

**Материалы и методы.** Нами исследованы препараты поликлональных IgG, выделенные из сывороток крови пациентов с гнойно-воспалительными заболеваниями, в сравнении с препаратами IgG доноров. Выделение иммуноглобулинов проводилось риванол-сульфатным методом с использованием аффинной хроматографии на протеине А стафилококка.

Все пациенты были разделены на 3 группы: пациенты с хроническими гнойно-воспалительными процессами (трофические язвы нижних конечностей, рецидивирующий фурункулез); лица с распространёнными острыми гнойно-воспалительными процессами (флегмоны мягких тканей различной локализации); с локальными острыми гнойно-воспалительными процессами (фурункулы, локальные абсцессы мягких тканей, панариции).

В качестве грамположительного микроорганизма мы использовали *S. aureus*, грамотрицательного — *E. coli*. Определение способности IgG разрушать бактериальные клетки производили посредством разработанного нами метода. Выращивали культуры бактерий на бульоне Мюллера–Хинтона в течение 16 часов, затем дважды отмывали бактерии от питательной среды 0,9 % NaCl с 0,0025 М фосфатным буфером pH 7,4.

В пробирки типа эппендорф вносили по 0,08 мл взвеси бактерий с оптической плотностью 3 единицы Мак-Фарланда ( $9 \times 10^8$  КОЕ/мл) и раствора иммуноглобулинов G в концентрации 1 мг/мл. В качестве отрицательного контроля использовали 0,9 % раствор NaCl. Все пробы дублировались.

Учёт результатов реакции производили после 6 часовой инкубации при 37 °C. Оценку количества погибших и жизнеспособных бактерий производили в камере Горяева с помощью конфокальной микроскопии после добавления к реакционной смеси для дифференцирования живых и погибших бактерий пропидия йодида до концентрации 20 мкг/мл, с параллельным использованием дополнительно дифференциально-интерференционного трансмиссионного канала. Бактерицидную активность препарата IgG выражали как разность процента погибших бактерий в опытных и контрольных пробах.

Достоверности отличия данных в несвязанных группах определяли по критерию Манна–Уитни, корреляции оценивали методом Спирмена.

**Результаты и обсуждение.** При исследовании бактерицидной активности поликлональных препаратов IgG в отношении *S. aureus* оказалось, что она была достоверно ( $p < 0,05$ ) ниже у лиц без гнойно-воспалительных заболеваний (медиана — 0 %; 25–75 перцентили — 0–0;  $n = 16$ ), чем у всей совокупности пациентов с гнойно-воспалительными процессами (0,6 %; 0–3,9;  $n = 45$ ). Также уровень бактерицидной активности иммуноглобулинов был достоверно выше в каждой из опытных групп в сравнении с контрольной. При сравнении результатов между опытными группами достоверных отличий не выявлено.

При исследовании бактерицидной активности поликлональных IgG в отношении *E. coli* достоверной разницы между контрольной группой (0 %; 0–0,3;  $n = 9$ ) и всей совокупностью пациентов с гнойно-воспалительными процессами (0,05 %; 0–1,6;  $n = 30$ ) не выявлено ( $p > 0,05$ ), что может быть связано с малой мощностью исследования. Достоверной разницы между опытными группами и контрольной также не обнаружено (табл.).

Не выявлено достоверных отличий между способностью IgG вызывать гибель *S. aureus* и *E. coli* как при анализе всей совокупности препаратов IgG, так и в отдельных группах. Не обнаружено достоверной корреляции между бактерицидным действием IgG в отношении *S. aureus* и *E. coli*.

Таблица

**Бактерицидная активность поликлональных препаратов IgG в отношении *S. aureus* и *E. coli***

Группа	Бактерицидная активность в отношении <i>S. aureus</i> ; медиана, 25–75 перцентили	Бактерицидная активность в отношении <i>E. coli</i> ; медиана, 25–75 перцентили
Локальные острые гнойно-воспалительные процессы	0,5 (0–2,5) $n = 12$	0,05 (0–3,8) $n = 8$

	P1-4 < 0,01	
Хронические гнойно-воспалительные процессы	0 (0-0,48) n = 13 P2-4 < 0,05	0 (0-0,6) n = 11
Распространенные острые гнойно-воспалительные процессы	1,7 (0-0,45) n = 20 P3-4 < 0,001	0,3 (0-4,4) n = 11
Практически здоровые люди	0 (0-0) n = 16	0 (0-0,3) n = 9

**Выводы.** Показано, что IgG лиц с гнойно-воспалительными процессами и доноров могут обладать собственной бактерицидной активностью в отношении *S. aureus* и *E. coli* без участия системы комплемента и иммунных клеток.

Показано, что бактерицидная активность IgG пациентов с гнойно-воспалительными процессами в отношении *S. aureus* достоверно выше, чем IgG доноров.

Не обнаружено достоверной корреляции между бактерицидным действием IgG в отношении *S. aureus* и *E. coli*.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. *Проблема* внутрибольничных инфекций в Республике Беларусь : основные направления, перспективы борьбы и профилактики / Е. И. Гудкова [и др.] // Белорусский медицинский журнал. 2005. № 2. С. 4-7.

2. *Антибиотикопрофилактика, антибиотикотерапия и микробиологическая ситуация* в хирургическом стационаре / В. Н. Оболенский [и др.] // Антибиотики и химиотерапия. 2004. № 10. С. 13-19.

3. *Косинец, А. Н.* Инфекция в хирургии : учеб. для слушателей системы доп. образования взрослых по мед. специальностям. / А. Н. Косинец, В. А. Косинец, Ю. В. Стручков. 2-е изд., перераб. и доп. Минск : Беларуская Энцыклапедыя імя Петруся Броўкі, 2012, 495 с.

4. *Собирзянова, А. З.* Влияние антител класса IgG к нативной ДНК на моноциты человека *in vitro* / А. З. Собирзянова, Т. А. Невзорова // Учен. зап. Казан. ун-та. Сер. естеств. науки. 2008. Т. 150. Кн. 2. С. 186-200.