

БАКТЕРИЦИДНАЯ АКТИВНОСТЬ IG G ЛИЦ С ГНОЙНО-ВОСПАЛИТЕЛЬНЫМИ ПРОЦЕССАМИ В ОТНОШЕНИИ УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ

Лептеева Т. Н., Окулич В. К., Сенькович С. А., Плотников Ф. В.

Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет,
Витебск, Беларусь

Установлена бактерицидная активность поликлональных иммуноглобулинов G в отношении *S. aureus*, *E. coli* и фунгицидная в отношении *C. albicans*.

Цель исследования. Оценить бактерицидную и фунгицидную активность поликлональных иммуноглобулинов G, выделенных от лиц с гнойно-воспалительными процессами; проанализировать ее связь с видом возбудителя инфекционного процесса и клинико-лабораторными проявлениями заболевания.

Материал и методы. С помощью разработанного метода произведено определение способности поликлональных иммуноглобулинов G, выделенных от 46 пациентов с гнойно-воспалительными процессами и 19 доноров, вызывать гибель *S. aureus*, *E. coli* и *C. albicans* без участия иных факторов системы иммунитета. Жизнеспособность микроорганизмов определяли посредством лазерной сканирующей конфокальной микроскопии с использованием пропидия йодида в качестве маркера погибших клеток.

Результаты. Показано, что иммуноглобулины G, выделенные от пациентов с гнойно-воспалительными процессами и доноров, могут обладать собственной бактерицидной и фунгицидной активностью в отношении *S. aureus*, *E. coli* и *C. albicans* без участия системы комплемента и иммунных клеток. Бактерицидная активность иммуноглобулинов у пациентов с гнойно-воспалительными заболеваниями достоверно выше, чем у лиц без гнойно-воспалительных процессов. Проанализирована связь активности иммуноглобулинов в отношении *S. aureus*, *E. coli* и *C. albicans* с клинико-лабораторными проявлениями гнойно-воспалительных заболеваний.

Выводы. Полученные данные свидетельствуют о наличии механизмов антибактериальной и фунгицидной активности иммуноглобулинов G в отношении *S. aureus*, *E. coli* и *C. Albicans*, не связанных с участием системы комплемента и клеток иммунной системы.

Ключевые слова: иммуноглобулин, бактерицидная активность, каталитическая активность, бензоиларгинин-*r*-нитроанилид, гнойно-воспалительные заболевания, пептидогликан, микроорганизм.

Для цитирования: Бактерицидная активность IG G лиц с гнойно-воспалительными процессами в отношении условно-патогенных микроорганизмов / Лептеева Т. Н. [и др.] // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. 2020. Т. 18, № 6. С. 698-703. <http://dx.doi.org/10.25298/2221-8785-2020-18-6-698-703>.

Введение

Проблема профилактики и лечения инфекционных заболеваний – одна из приоритетных в практическом здравоохранении. Несмотря на постоянное совершенствование методов лечения, использование новых лекарственных препаратов, количество пациентов с хирургической инфекцией не имеет тенденции к снижению. Отмечен рост высокорезистентных изолятов бактерий [1]. Устойчивые к антибиотикам бактерии распространяются в лечебных учреждениях, подвергая пациентов риску заражения фатальными заболеваниями. На сегодняшний день на инфекционные осложнения приходится 40-70% летальных случаев в хирургических стационарах [2].

Создание и совершенствование новых схем терапии, мер профилактики инфекции и клинических методов диагностики гнойно-воспалительных заболеваний требует ясного понимания механизмов взаимодействия системы иммунитета макроорганизма с инфекционным агентом.

В развитии иммунного ответа при инфекционном процессе важнейшее значение имеет образование антител против микробных антигенов. Основные механизмы антимикробного действия антител – опсонизация и активация системы комплемента по классическому пути [3].

К настоящему времени показано, что иммуноглобулины способны проникать даже 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, что может иметь серьезное значение в реализации противомикробного иммунитета.

Материал и методы

Исследованы препараты поликлональных иммуноглобулинов G, выделенные из сывороток крови 46 пациентов с гнойно-воспалительными процессами в сравнении с препаратами, полученными от 19 доноров. Все исследованные лица были разделены на 3 группы: пациенты с хроническими гнойно-воспалительными процессами (трофические язвы нижних конечностей, рецидивирующий фурункулез); лица с распространенными острыми гнойно-воспалительными процессами (флегмоны мягких тканей разной локализации); с локальными острыми гнойно-воспалительными процессами (фурункулы, абсцессы мягких тканей, панариции). Все пациенты обследованы стандартными инструментальными и клинико-лабораторными методами.

Выделение иммуноглобулинов G из сыворотки крови проводили риванол-сульфатным методом с использованием аффинной хроматографии на протеине A золотистого стафилококка. Контроль чистоты полученных препаратов производили с помощью электрофореза в 10% и градиентном 4-20% полиакриламидном геле в присутствии додецил-сульфата натрия в восстанавливающих и не восстанавливающих условиях. Гель окрашивали нитратом серебра [5]. Полученные электрофоретические полосы были гомогенны, дополнительных полос не установлено. Проверка стерильности полученного материала осуществлялась посевом проб иммуноглобулинов на кровяной агар и сахарный бульон. Полученные препараты содержали иммуноглобулины G подклассов 1, 2, 4.

Определение активности иммуноглобулинов G производили в отношении музейных штаммов *S. aureus* (ATCC 6538), *E. coli* (ATCC 25922) и *C. albicans* (ATCC 10231) посредством разработанного нами метода. Выращивали культуру бактерий на бульоне Мюллера-Хинтона в течение 16 часов, затем дважды отмывали бактерии от питательной среды 0,9% NaCl с 0,0025M фосфатным буфером pH 7,4. Для получения суспензии *C. albicans* использовали среду Сабуро.

Эксперименты проводили в пробирках типа «Эппендорф», в которые вносили по 0,08 мл взвеси микроорганизмов с оптической плотностью 3 единицы Мак-Фарланда (9×10^8 КОЕ/мл) и раствора иммуноглобулинов G в концентрации 1 мг/мл. В качестве отрицательного контроля использовали 0,9% раствор NaCl. Учет количества погибших и жизнеспособных микроорганизмов производили после 6-часовой инкубации при 37°C для бактерий и 24 часов инкубации *C. albicans* при 30°C, поскольку гибель кандид при более коротких сроках инкубации полностью отсутствовала как в опытных, так и контрольных пробах. Определение количества жизнеспособных и погибших микроорганизмов производили в камере Горяева, используя лазерный сканирующий конфокальный микроскоп Leica TCS SPE. Для дифференцировки живых и погибших микроорганизмов к их суспензии добавляли до конечной концентрации 20 мкг/мл флюоресцентный краситель пропидия йодид, который окрашивает только нежизнеспособные клетки, поскольку не способен проникать через неповрежденную цитоплазматическую мембрану [6]. Сканирование производили в режиме XYZ (возбуждающий лазер 532 нм, спектральная зона детекции – 570-650 нм) с разрешением 150 нм. Помимо основного канала сканирования дополнительно использовался дифференциально-интерференционный трансмиссионный канал для визуализации контуров бактерий [7]. Бактерицидную и фунгицидную активность препарата иммуноглобулинов G выражали как разность процента погибших бактерий в опытных пробах и в пробах отрицательного контроля.

Определение натрий-бензоил-DL-аргинин-4(р)-нитроанилид (БАПНА) –амидазной (трипсиноподобной) активности иммуноглобу-

линов G производили по методу Эрлангера в нашей модификации [8, 9, 10].

Для определения способности иммуноглобулинов расщеплять пептидогликан получали его из грамположительного *M. lysodeikticus* (ATCC 4698) [11]. Реакционная смесь состояла из 0,4 мл суспензии пептидогликана, меченного конго-красным, и 0,1 мл IgG в концентрации 1 мг/мл. В контрольных пробах вместо препарата IgG использовали 0,9% NaCl. После 24 часов инкубации при 37°C неразрушенные компоненты пептидогликана осаждали центрифугированием (7930 g) на центрифуге MIKRO 120 (Hettich), измеряли оптическую плотность 0,1 мл надосадка на многоканальном спектрофотометре Ф-300ТП при длине волны 492 нм. Результат выражали в единицах оптической плотности (Еоп) как разницу между оптической плотностью опытных и контрольных лунок.

Статистическая обработка полученных результатов проводилась с помощью пакета прикладных программ «Statistica» (Version 10, StatSoftInc., США, лицензия № СТАФ999К347156W). Поскольку тип распределения данных отличался от нормального, для описания количественных признаков вычисляли медиану, нижний 25-й и верхний 75-й процентиля. Для сравнения достоверности различия данных в несвязанных группах использовали критерий Манна-Уитни, корреляции оценивали методом Спирмена. Для определения достоверности превышения доли погибших бактерий в опытных пробах в сравнении с контролем использовали критерий χ -квадрат.

Результаты и обсуждение

При исследовании бактерицидной активности поликлональных препаратов иммуноглобулинов G в отношении *S. aureus* (табл.1) установлено, что у всей совокупности пациентов с гнойно-воспалительными процессами она была достоверно выше (медиана – 0,6%; 25-75 процентиля – 0-3,9; $n=46$; $p<0,05$), чем у лиц без гнойно-воспалительных заболеваний (0%; 0-0; $n=19$). Уровень бактерицидной активности иммуноглобулинов был достоверно выше в каждой из опытных групп в сравнении с контрольной. При сравнении результатов в группах лиц с разными гнойно-воспалительными процессами достоверных различий не выявлено. Важно отметить, что после воздействия на пробы иммуноглобулинов температуры 56°C в течение 60 минут не происходило снижения их бактерицидной активности, что дополнительно подтверждает отсутствие в препаратах иммуноглобулинов компонентов системы комплемента.

При сравнении в группах количества лиц с достоверно положительной бактерицидной активностью (то есть доля погибших бактерий в опытной пробе достоверно превышала долю погибших бактерий в контроле), обнаружено, что в группах лиц с хроническими и распространенными острыми гнойно-воспалительными процессами таких пациентов было достоверно больше, чем в группе лиц без гнойно-воспалительных процессов.

Таблица 1. – Бактерицидная активность поликлональных препаратов иммуноглобулинов G в отношении *S. aureus*Table 1. – Bactericidal activity of polyclonal immunoglobulins G preparations against *S. aureus*

Группа		n	Медиана, 25-75 проценти	Достоверность различий
1	Локальные острые гнойно-воспалительные процессы	12	0,5% (0-2,5)	$P_{1-4} < 0,05$ $P_{2-4} < 0,05$ $P_{3-4} < 0,005$ $P_{1,2,3} > 0,05$
2	Хронические гнойно-воспалительные процессы	14	0% (0-4,3)	
3	Распространенные острые гнойно-воспалительные процессы	20	1,7% (0-4,5)	
4	Контрольная группа	19	0% (0-0)	

Таблица 2. – Количество лиц с достоверно положительной бактерицидной активностью в отношении *S. aureus*Table 2. – Number of persons with significantly positive bactericidal activity against *S. aureus*

Группа		n	Количество проб IgG с достоверно положительной бактерицидной активностью	Достоверность различий
1.	Локальные острые гнойно-воспалительные процессы	12	3 (25%)	$P_{2-4} < 0,05$ $P_{3-4} < 0,05$ $P_{1-4} > 0,05$
2.	Хронические гнойно-воспалительные процессы	14	5 (35,7%)	
3.	Распространенные острые гнойно-воспалительные процессы	20	7 (35%)	
4.	Контрольная группа	19	1 (5,3%)	

При исследовании связи уровня бактерицидной активности IgG с видом микроорганизма, выделенного из гнойного очага, оказалось, что у пациентов, от которых был выделен *S. aureus*, уровень активности иммуноглобулинов (1,8%; 0-7,2; $n=17$) был достоверно ($p < 0,05$) выше, чем у лиц, от которых выделены из исследуемого материала другие микроорганизмы (0%; 0-0,6; $n=13$).

При определении связи бактерицидной активности препаратов иммуноглобулинов G с клинико-лабораторными проявлениями гнойно-воспалительных заболеваний (температура, уровень лейкоцитов крови, СОЭ, показатели лейкоцитарной формулы, длительность лихорадки, степень отека и боль в области раны, площадь раны, степень гиперемии в области раны, сроки появления грануляций) выявлены достоверно статистически значимые прямые корреляции с площадью раневой поверхности ($r=0,35$; $p < 0,05$; $n=28$) и степенью гиперемии в области раны ($r=0,53$; $p < 0,005$; $n=29$). С другими показателями достоверных корреляций не выявлено.

Результаты определения бактерицидной активности иммуноглобулинов по отношению к

S. aureus и *E. coli* оказались сходными, но активность против *E. coli* была менее выражена (табл. 3). Достоверно статистически значимые различия зафиксированы между группой лиц с распространенными гнойно-воспалительными процессами и контрольной группой. Между остальными группами достоверных различий не выявлено, что может быть связано с недостаточным объемом исследования. Не установлено достоверных различий уровня бактерицидной активности иммуноглобулинов в отношении *S. aureus* и *E. coli*, хотя во всех группах показатели активности в отношении стафилококка были выше. Не обнаружено также корреляционной связи между активностью иммуноглобулинов в отношении *S. aureus* и *E. coli*.

При оценке количества проб с достоверно положительной бактерицидной активностью в отношении *E. coli*, показано, что в группах пациентов с гнойно-воспалительными процессами такие препараты иммуноглобулинов встречались, но их количество было не слишком велико и не отличалось достоверно от аналогичного показателя в контрольной группе (табл. 4).

Таблица 3. – Бактерицидная активность поликлональных препаратов иммуноглобулинов G в отношении *E. coli*Table 3. – Bactericidal activity of polyclonal immunoglobulins G preparations against *E. coli*

Группа		n	Медиана, 25-75 проценти	Достоверность различий
1	Локальные острые гнойно-воспалительные процессы	11	0,1% (0-4,2)	$P_{3-4} < 0,05$ $P_{1,2,4} > 0,05$
2	Хронические гнойно-воспалительные процессы	12	0% (0-0,8)	
3	Распространенные острые гнойно-воспалительные процессы	18	1,2% (0-2,8)	
4	Контрольная группа	9	0% (0-0)	

Таблица 4. – Количество лиц с достоверно положительной бактерицидной активностью *E. coli*
 Table 4. – Number of persons with significantly positive bactericidal activity against *E. coli*

Группа		n	Количество проб IgG с достоверно положительной бактерицидной активностью	Достоверность различий
1.	Локальные острые гнойно-воспалительные процессы	11	2 (18,2%)	P>0,05
2.	Хронические гнойно-воспалительные процессы	12	2 (16,7%)	
3.	Распространенные острые гнойно-воспалительные процессы	18	4 (22,2%)	
4.	Контрольная группа	9	0 (0%)	

Таблица 5. – Способность IgG разрушать пептидогликан клеточной стенки бактерий
 Table 5. – The ability of IgG to destroy peptidoglycan of the bacterial cell wall

Группа		n	Медиана, 25-75 процентиля	Достоверность различий
1.	Локальные острые гнойно-воспалительные процессы	6	0,13(0,11-0,18)	P ₁₋₄ <0,01 P ₂₋₄ <0,05 P ₃₋₄ <0,05
2.	Хронические гнойно-воспалительные процессы	9	0,16 (0,10 -0,20)	
3.	Распространенные острые гнойно-воспалительные процессы	13	0,15 (0,13-0,22)	
4.	Контрольная группа	11	0,24 (0,17-0,29)	

Таблица 6. – Бактерицидная активность поликлональных препаратов иммуноглобулинов G в отношении *C. albicans*
 Table 6. – Fungicidal activity of polyclonal immunoglobulins G preparations against *C. albicans*

Группа		n	Медиана, 25-75 процентиля	Достоверность различий
1	Локальные острые гнойно-воспалительные процессы	8	0,6% (0-3,7)	P>0,05
2	Хронические гнойно-воспалительные процессы	9	1,3% (0-3,1)	
3	Распространенные острые гнойно-воспалительные процессы	17	1,1% (0-3,9)	
4	Контрольная группа	12	2,7% (0-7,1)	

Не выявлено связи между бактерицидной активностью иммуноглобулинов в отношении *E. Coli* и видом возбудителя инфекционного процесса, клинико-лабораторными проявлениями гнойно-воспалительных заболеваний.

Нами предполагалось, что прямая бактерицидная активность иммуноглобулинов может быть обусловлена наличием у них собственной каталитической активности, что ведет к разрушению компонентов клеточной стенки бактерий. Для проверки данной гипотезы у выделенных препаратов иммуноглобулинов была определена способность расщеплять пептидогликан. Помимо того, нами оценена корреляция антимикробной активности иммуноглобулинов с уровнем их БАПНА-амидазной активности.

Наше предположение не подтверждено, так как способность иммуноглобулинов разрушать пептидогликан оказалась достоверно выше в контрольной группе (табл. 5). Статистически значимых различий этого показателя между опытными группами не наблюдалось.

Не выявлено корреляции между бактерицидной активностью иммуноглобулинов и их способностью к расщеплению пептидогликана. Нельзя исключить, что это обусловлено различиями в структуре пептидогликана разных видов бактерий. Не удалось также обнаружить корреляции между бактерицидной активностью и уровнем БАПНА-амидазной активности им-

муноглобулинов G. Таким образом, не получено подтверждения связи прямой бактерицидной активности иммуноглобулинов с их каталитической активностью.

При изучении фунгицидной способности иммуноглобулинов в отношении *C. albicans* максимальная активность обнаружена в группе доноров, но отличие от опытных групп было недостоверным (табл. 6).

Количество проб иммуноглобулинов с достоверно положительной фунгицидной активностью соответствовало средним значениям активности (табл. 7).

Представляет интерес наличие сильной корреляции (0,6; p<0,005, n=23) фунгицидной и БАПНА-амидазной активности иммуноглобулинов у лиц с гнойно-воспалительными процессами.

Выводы

1. Показано, что иммуноглобулины G пациентов с гнойно-воспалительными процессами и доноров могут обладать собственной бактерицидной и фунгицидной активностью без участия прочих факторов системы иммунитета. Бактерицидная активность достоверно выше у лиц с гнойно-воспалительными заболеваниями, что может быть связано с ее формированием в процессе иммунного ответа на бактериальную инфекцию.

2. Выявлена связь уровня бактерицидной активности иммуноглобулинов G в отношении

Таблица 7. – Количество лиц с достоверно положительной фунгицидной активностью в отношении *C. albicans*Table 7. – Number of persons with significantly positive fungicidal activity against *C. albicans*

Группа		n	Количество проб IgG с достоверно положительной бактерицидной активностью	Достоверность различий
1.	Локальные острые гнойно-воспалительные процессы	8	2 (25%)	P>0,05
2.	Хронические гнойно-воспалительные процессы	9	3 (33,3%)	
3.	Распространенные острые гнойно-воспалительные процессы	17	7 (41,2%)	
4.	Контрольная группа	12	6 (50%)	

S. aureus с наличием данного микроорганизма среди возбудителей гнойно-воспалительного процесса, что также свидетельствует о формировании этой активности вследствие контакта с инфекционным агентом.

3. Формирование прямой антимикробной активности иммуноглобулинов может иметь значение при недостаточной эффективности других факторов системы иммунитета. Отсутствие

корреляции активности иммуноглобулинов в отношении *S. aureus* и *E. coli* может свидетельствовать о разных механизмах реализации бактерицидной активности.

4. Установлена способность иммуноглобулинов G разрушать пептидогликан клеточной стенки грамположительных бактерий, что, возможно, является одним из механизмов бактерицидного действия иммуноглобулинов.

Литература

- Шлепотина, Н. М. Микробный пейзаж у пациентов с гнойно-некротическими формами синдрома диабетической стопы / Н. М. Шлепотина, О. Л. Колесников, Л. Л. Плоткин // Российский иммунологический журнал. – 2015. – Т. 9, № 2-1. – С. 710-712.
- Aslam, S. Role of antibiofilm-antimicrobial agents in controlling device-related infections / S. Aslam, R. O. Da-rouiche // Int J Artif Organs. – 2011. – Т. 34, № 9. – P. 752-758. – doi: 10.5301/ijao.5000024.
- Окулич, В. К. Микробиологические и иммунологические аспекты инфекций, вызванных условно-патогенными бактериями, образующими биопленку / В. К. Окулич // Вестник Витебского государственного медицинского университета. – 2016. – Том 15, № 5. – С. 52-63. – doi: 10.22263/2312-4156.2016.5.52.
- Собирзянова, А. З. Влияние антител класса IgG к нативной ДНК на моноциты человека in vitro / А. З. Собирзянова, Т. А. Невзорова // Учен. зап. Казан. университета. Серия естественные науки. – 2008. – Т. 150, кн. 2. – С. 186-200.
- Иммунологические методы / под ред. Г. Фримеля. – Москва : Медицина, 1987. – 472 с.
- Double-staining method for differentiation of morphological changes and membrane integrity of *Campylobacter coli* cells / J. L. Alonso [at al.] // Appl Environ Microbiol. – 2002. – Vol. 68, № 10. – P. 5151-5154. – doi: 10.1128/aem.68.10.5151-5154.2002.
- Halbhuber, K. J. Modern laser scanning microscopy in biology, biotechnology and medicine / K. J. Halbhuber, K. König // Ann. Anat. – 2003. – Vol 185, № 1. – P. 1-20. – doi: 10.1016/S0940-9602(03)80002-X.
- Erlanger, B. F. The preparation and properties of two new chromogenic substrates of trypsin / B. F. Erlanger, N. Kokowsky, W. Cohen // Arch Biochem Biophys. – 1961. – Vol. 95. – P. 271-278. – doi: 10.1016/0003-9861(61)90145-x.
- Определение БАПНА-амидазной активности микроорганизмов, сывороток крови и иммуноглобулинов класса G : инструкция по применению 6-0101 : утверждена Министерством

образования Республики Беларусь 17.05.2002 / В. К. Окулич [и др.] ; Витебский государственный медицинский университет. – Витебск, 2002. – 8 с.

- Оценка способности сывороток крови, иммуноглобулинов G пациентов с гнойно-воспалительными процессами и ряда ферментов к разрушению экзополимерного матрикса биопленок / В. К. Окулич [и др.] // Хирургия. Восточная Европа. – 2014. – Т. 11, № 3. – С. 9-17.
- Гончарова, А. И. Определение лизоцима с использованием пептидогликана из клеточной стенки культуры *Micrococcus lysodeikticus* / А. И. Гончарова, В. Ю. Земко, В. К. Окулич // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 2018. – №1. – С. 48-55. – doi: 10.14427/jipai.2018.1.48

References

- Shlepota NM, Kolesnikov OL, Plotkin LL. Mikrobnyj pejzazh u pacientov s gnojno-nekroticheskimi formami sindroma diabeticheskoy stopy [Microbial landscape in patients with purulent-necrotic forms of diabetic foot syndrome]. *Rossijskij immunologicheskij zhurnal* [Russian journal of immunology]. 2015;9(2-1):710-712. (Russian).
- Aslam S, Darouiche RO. Role of antibiofilm-antimicrobial agents in controlling device-related infections. *Int J Artif Organs*. 2011;34(9):752-8. doi: 10.5301/ijao.5000024.
- Okulich VK. Mikrobiologicheskie i immunologicheskie aspekty infekcij, vyzvannyh uslovno-patogennymi bakterijami, obrazujushhimi bioplenku [Microbiological and immunological aspects of infections caused by opportunistic bacteria that form biofilm]. *Vestnik Vitebskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta* [Vestnik of Vitebsk state medical university]. 2016;15(5):52-63. doi: 10.22263/2312-4156.2016.5.52. (Russian).
- Sabirzyanova AZ, Nevzorova TA. Vlijanie antitel klassa IgG k nativnoj DNK na monocity cheloveka in vitro [Influence of IgG Antibodies to Native DNA on Human Monocytes in vitro]. *Uchenye Zapiski Kazanskogo Universiteta* [Proceedings of Kazan University]. 2008;150(2):186-200. (Russian).
- Frimel G, editor. *Immunologicheskie metody*. Moscow: Medicina; 1987. 472 p. (Russian)

6. Alonso JL, Mascellaro S, Moreno Y, Ferrús MA, Hernández J. Double-staining method for differentiation of morphological changes and membrane integrity of *Campylobacter coli* cells. *Appl Environ Microbiol.* 2002;68(10):5151-4. doi: 10.1128/aem.68.10.5151-5154.2002.
7. Halbhauer KJ, König K. Modern laser scanning microscopy in biology, biotechnology and medicine. *Ann Anat.* 2003;185(1):1-20. doi: 10.1016/S0940-9602(03)80002-X.
8. Erlanger BF, Kokowsky N, Cohen W. The preparation and properties of two new chromogenic substrates of trypsin. *Arch Biochem Biophys.* 1961;95:271-8. doi: 10.1016/0003-9861(61)90145-x.
9. Okulich VK, Kosinets AN, Senkovich SA, Konopelko EA, inventors; Vitebsk State Medical University, assignee. *Opređenje BAPNA-amidaznoj aktivnosti mikroorganizmov, syvorotok krvi i immunoglobulinov klasa G. Instrukcija po primeneniju BY 6-0101.* 17.05.2002. Vitebsk; 2002. 8 p. (Russian).
10. Okulich VK, Senkovich SA, Plotnikov FV, Kabanova AA. Ocenka sposobnosti syvorotok krvi, immunoglobulinov G pacientov s gnojno-vospalitel'nymi processami i rjada fermentov k razrusheniju jekzopolimernogo matriksa bioplenok [Assessment of the ability of serum, immunoglobulin G from patients with purulent-inflammatory processes and some enzymes to destruct matrix of the biofilms]. *Hirurgija. Vostochnaja Evropa* [Surgery. East Europe]. 2014;11(3):9-17. (Russian).
11. Goncharova AI, Ziamko VY, Okulich VK. Opređenje lizocima s ispolzovaniem peptidoglikana iz kletocnoj stenki kultury micrococcus lysodeikticus [Lysozyme activity determination using peptidoglycan from the cell wall of *Micrococcus lysodeikticus*]. *Immunopatologija, allergologija, infektologija* [Immunopathology, allergology, infectology]. 2018;(1):48-55. doi: 10.14427/jipai.2018.1.48. (Russian).

IG G BACTERICIDAL ACTIVITY OF PERSONS WITH PURULENT INFLAMMATORY PROCESSES AGAINST CONDITIONALLY PATHOGENIC MICROORGANISMS

Lepteeva T. N., Okulich V. K., Senkovich S. A., Plotnikov Ph. V.

Vitebsk State Medical University, Vitebsk, Republic of Belarus

The bactericidal activity against S. aureus, E. coli and fungicidal activity against C. albicans of polyclonal immunoglobulins G was established.

Objectives. To evaluate the bactericidal and fungicidal activity of polyclonal immunoglobulins G isolated from patients with purulent-inflammatory diseases and to analyze its relationship with the type of pathogen of the infectious process and clinical and laboratory manifestations of the disease.

Material and methods. Using the developed method the ability of polyclonal immunoglobulins G isolated from 45 patients with purulent-inflammatory diseases and 16 donors was determined to have bactericidal activity against S. aureus, E. coli and fungicidal activity against C. albicans without the participation of complement and immune cells. The ratio of viable and dead bacteria was evaluated by laser scanning confocal microscopy using propidium iodide as a marker of dead bacteria.

Results. It was shown that immunoglobulins G isolated from patients with purulent-inflammatory diseases and donors may have their own bactericidal activity against S. aureus, E. coli and C. albicans without participation of the complement system and immune cells, while in patients with purulent-inflammatory diseases this activity is significantly higher than in persons without purulent-inflammatory processes. The relationship between the activity of immunoglobulins against S. aureus, E. coli and C. albicans with clinical and laboratory manifestations of pyoinflammatory diseases was analyzed.

Conclusion. The findings suggest the presence of mechanisms of immunoglobulins G bactericidal activity against S. aureus, E. coli and fungicidal activity against C. albicans, which is not associated with participation of the complement system and immune cells.

Keywords: *immunoglobulin, bactericidal activity, catalytic activity, benzoilarginin-p-nitroanilid, pyoinflammatory diseases, peptidoglycan, microorganism.*

For citation: For citation: Lepteeva TN, Okulich VK, Senkovich SA, Plotnikov PhV. IG G bactericidal activity of persons with purulent inflammatory processes against conditionally pathogenic microorganisms. Journal of the Grodno State Medical University. 2020;18(6):698-703. <http://dx.doi.org/10.25298/2221-8785-2020-18-6-698-703>.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Исследование проведено без спонсорской поддержки.
Financing. The study was performed without external funding.

Соответствие принципам этики. Исследование одобрено локальным этическим комитетом.
Conformity with the principles of ethics. The study was approved by the local ethics committee.

Об авторах / About the authors

*Лептеева Таисия Николаевна / Lepteeva Taisiya, e-mail: taisiyalepteeva@yandex.by
ORCID: 0000-0002-5364-9909

Окулич Виталий Константинович / Okulich Vitaliy, e-mail: vokul@mail.ru

Сенькович Сергей Алексеевич / Senkovich Sergei, e-mail: s_senkovich@mail.ru

Плотников Филипп Викторович – / Philipp Plotnikov, e-mail: dr.plotnikov@mail.ru

* – автор, ответственный за переписку / corresponding author

Поступила / Received: 04.09.2020

Принята к публикации / Accepted for publication: 17.11.2020