

ВЛИЯНИЕ ОСАДКА БЕЛКОВ II+III КРОВИ ЧЕЛОВЕКА НА ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ

Д.В. Володько, магистрант

Научный руководитель – **О.Н. Жук**, к.б.н.

Полесский государственный университет

В условиях современного здравоохранения и постоянного возрастания числа инфекционных заболеваний изучение влияния белков крови на жизнеспособность микроорганизмов приобретает особую актуальность. Одним из перспективных направлений является исследование осадка белков фракции II+III крови человека, который представляет собой главным образом смесь иммуноглобулинов, обладающих в иммунном ответе антимикробными свойствами [1].

Белковые фракции крови II и III, выделяемые путем спиртового осаждения, представляют интерес как биологически активные соединения способны влиять на рост патогенных и условно-патогенных микроорганизмов. Данное свойство особенно важно при изучении механизмов формирования инфекций. Условно-патогенные микроорганизмы, обычно являющиеся частью нормальной микрофлоры, при нарушении иммунного баланса могут превращаться в агрессивных воз-

будителей, поэтому выяснение их реакции на воздействие белкового осадка имеет практическое значение для разработки новых антимикробных средств и профилактических мер [2].

Цель настоящей работы изучить влияние осадка белков фракции II+III крови человека на жизнеспособность различных видов патогенных и условно-патогенных микроорганизмов.

В качестве объектов изучения влияния были использованы 4 штамма бактерий, полученные из коллекции районного центра гигиены и эпидемиологии города Ганцевичи. Донорскую плазму получали на базе филиала РНПЦ города Ганцевичи.

Осадок белка крови II+III получали методом спиртового осаждения. 2,5 л донорской плазмы крови, охлаждали до температуры -1– -3 °С. В плазму при постоянном перемешивании добавляли 96 % этиловый спирт, из расчета 0,073 кг спирта на 1 л плазмы. Суспензию перемешивали в течение двух часов при температуре -2 °С. Тщательно перемешанную смесь центрифугировали при температуре -3 °С при 1000 об/мин, декантировали надосадочную жидкость [3]. К полученному центрифугату добавляли охлажденный до 0 °С ацетатный буфер, доводя значение pH до 5,88. В полученную смесь вводили 96 % этиловый спирт из расчета 0,121 кг спирта на 1 л центрифугата. Суспензию тщательно перемешивали в течение 2 часов при температуре -2 °С и центрифугировали при температуре -3 °С при 1000 об/мин, после чего отобрали белковый осадок [4].

Осадок очищали с помощью метода осветляющей фильтрации [5]. Растворение осадка проводили в воде для инъекций, охлажденной до -2 °С из расчета 4,0 л воды на 1 кг осадка. Полученный раствор белка фильтровали при температуре 3 °С через микрофильтры с диаметром пор 0,8 мкм под давлением 0,6–0,8 МПа [4]. Полученный фильтрат разводили водой для инъекций из расчета 5 л воды на 1 л фильтрата. Раствор фильтровали через ультрафильтрационную кассету с давлением 0,25 МПа на входе и 0,15 МПа на выходе. Ультрафильтрацию проводили до полного исчезновения спирта в растворе, после чего проводили концентрирование раствора белка до 10% [6]. Концентрацию белка в растворе определяли с помощью рефрактометра (формула):

$$P = \frac{n - 1,333}{0,001875}$$

где P – содержание белка, %;

n – показатель преломления исследуемого раствора;

0,001875 – удельный инкремент показателя преломления 1 % раствора белка;

1,333 – показатель преломления воды.

Сконцентрированный раствор стерилизовали с помощью стерилизующей фильтрации. Стерилизующую фильтрацию проводили в стерильном боксе через систему «Millipore» с диаметром пор 0,22 мкм под давлением 0,49–0,68 МПа. Стерильный раствор разливали в стерильные стеклянные флаконы объемом 100 мл, флаконы закупоривали [7].

Опыт осуществляли путем добавления 0,5 мл раствора белка в чашку Петри с твердой питательной средой, затем производили посев микроорганизмов – *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*. Для равномерного распределения раствора и микроорганизмов по поверхности питательной среды, использовали стеклянный шпатель Дригальского. Культивирование проводили в термостате при температуре 37 °С течение 48 часов [8].

Опыт проводили в трёх повторах. Для контроля использовали образец без добавления раствора белка.

Результаты роста микроорганизмов представлены в таблице (таблица).

Таблица – Рост микроорганизмов в присутствии 0,5 мл 10%-ного раствора белка II+III крови человека

Белок II+III	<i>E. coli</i> (среда Эндо)	<i>P. vulgaris</i> (среда МПА)	<i>S. aureus</i> (среда ЖСА)	<i>K. pneumoniae</i> (среда Эндо)
0 (контроль)	+++	+++	+++	+++
Образец 1	+++	++	-	++
Образец 2	++	+++	-	++
Образец 3	+++	++	+	++

Полученные в наших экспериментах данные показывают, что все образцы фракции II+III блокировали рост *S. aureus*: в образце 3 сформировались единичные колонии, в остальных чашках роста не было. Другие исследуемые штаммы микроорганизмов показали бурный рост колоний, характерный для стандартных условий, что говорит об отсутствии влияния изучаемых фракций белков на жизнеспособность данных бактерий.

Результаты данного исследования могут быть использованы для разработки лекарственных средств, в первую очередь для создания препаратов, направленных на борьбу со стафилококковой инфекцией.

Список использованных источников

1. Данилов С. И., Корнеев Л. М. Функциональные особенности белковых фракций крови. – Москва: Научное издательство, 2004. – 256 с.
2. Ковалчук В. П. Современные методы фракционирования плазменных белков. – Киев: Naukova Dumka, 2011. – 300 с.
3. Лобунец К. А. Регламент производства. 5, 10, 20 процентных растворов альбумина / К. А. Лобунец, И. Н. Фатеева, Н. И. Ларичев; М-во здрав. СССР. Киев. НИИ гематологии и переливания крови. – Киев: Б. И., 1975. – 23 с.
4. Регламент производства 10%, 16% раствора гамма-глобулина из донорской плазмы / М-во здравоохранения СССР, Киев. НИИ гематологии и переливания крови. – Киев: Б. И., 1975. – 19 с.
5. Takeuchi T, Ohno H. IgA in human health and diseases: Potential regulator of commensal microbiota // *Frontiers in Immunology* – 2022. – Т. 13. – 248 p.
6. Bertolini J., Goss N., Curling J. Plasma Protein Production... / J. Bertolini, N. Goss, J. Curling. – London : Academic Press, 2016. – 320 p.
7. Woof J. M., Kerr M. A. The function of immunoglobulin A in immunity // *The Journal of Pathology*. – 2006. – Vol. 208, no. 2. – P. 270–282.
- WHO Guidelines for the Use of Plasma-Derived Medicinal Products. – Geneva: World Health Organization, 2019. – 45 p.