

ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ *BLASTOCYSTIS HOMINIS* К АНТИПРОТОЗОЙНЫМ ПРЕПАРАТАМ

Проведено исследование чувствительности к антипротозойным препаратам бластоцист, выделенных у гастроэнтерологических больных с разной продолжительностью заболеваний, а также в зависимости от их стадии – обострение или ремиссия. В качестве антипротозойных препаратов были изучены метронидазол, тинидазол и орнидазол.

Ключевые слова: бластоцистоз, бластоцисты, антипротозойные препараты, метронидазол, тинидазол и орнидазол.

Нормальный микробиоценоз представляет собой своеобразную систему макроорганизма. Учитывая определенное постоянство микробиоценоза в норме и его высокую чувствительность к изменениям внешней и внутренней среды, нормальную микрофлору можно рассматривать как индикатор здоровья человека [1, 2].

В течение последних лет получены данные о значительной роли паразитарных инвазий кишечника (бластоцистоз) в патогенезе гастроэнтерологических заболеваний.

Особенно выраженный вред паразитические простейшие наносят больным с патологией органов пищеварения, что приводит к распространению вторичных иммунодефицитных состояний и, как следствие, изменяет поведение некоторых комменсальных членов протозойной фауны кишечника. В этой ситуации проведение комплексного обследования и получение достоверных данных о пораженности паразитарными болезнями, определяющими качество здоровья населения, имеет исключительную важность.

Антибиотикорезистентность является одной из важнейших характеристик патогенности микроорганизмов [3, 4].

Целью нашего исследования явилось изучение чувствительности к антипротозойным препаратам бластоцист, выделенных у гастроэнтерологических больных с разной продолжительностью заболеваний, а также в зависимости от их стадии – обострение или ремиссия. В качестве антипротозойных препаратов были изучены метронидазол, тинидазол и орнидазол.

Для выявления степени антипротозойной активности определяли ингибирующую концентрацию химиопрепарата (метронидазол, тинидазол, орнидазол), вызывающую задержку роста *B. hominis*. В работе использовали 6-суточную культуру *B. hominis*, так как в

эти сроки отмечался их максимальный рост, концентрация простейших в среде составила 1–2 млрд/мл.

Клинические изоляты *B. hominis* выделяли в областной клинической больнице №1, городской больнице №1, больнице скорой медицинской помощи г. Ульяновска из фекалий детей в возрасте от 3 до 7 лет и взрослых в возрасте от 30 до 45 лет, находящихся на стационарном лечении с диагнозами: язвенная болезнь, хронический гастрит, хронический холецистит, хронический гепатит, неспецифический язвенный колит, цирроз печени, желчнокаменная болезнь, синдром оперированного желудка и синдром раздраженной кишки.

Результаты проведенных исследований показали, что в период обострения заболеваний желудочно-кишечного тракта чувствительностью к тинидазолу обладало 52,4%, а к метронидазолу – 47,8% изолятов бластоцист. К этим препаратам обнаружено наибольшее количество чувствительных штаммов (58 и 53 соответственно). Менее эффективным оказался орнидазол, только 24 штамма (21,6% изолятов) проявили к нему чувствительность.

С целью более полной характеристики чувствительности бластоцист к антипротозойным препаратам использовали определение минимальной ингибирующей дозы [5]. Для тинидазола и орнидазола она составила 10^{-3} мг/мл, а к метронидазолу бластоцисты были чувствительны даже при разведении 10^{-4} мг/мл.

В зависимости от величины показателей минимальной ингибирующей концентрации антипротозойных препаратов все изученные штаммы разделили на чувствительные, умеренно устойчивые и устойчивые (табл. 1).

Чувствительными считали штаммы, рост которых подавлялся при концентрации препаратов 10^{-3} – 10^{-4} мг/мл; умеренно устойчивыми –

при 10^{-1} – 10^{-2} мг/мл и устойчивыми, если рост прекращался при концентрации 1 мг/мл.

Анализ полученных результатов показал, что наибольшее количество чувствительных штаммов выявлено к тинидазолу. Умеренно устойчивые бластоцисты были обнаружены к данному препарату лишь в 27% (30 штаммов), а устойчивые – в 20,7% случаев (23 штамма).

Чувствительность бластоцист к метронидазолу незначительно отличалась от результатов, полученных при изучении предыдущего препарата. Так, 53 штамма (47,8%) простейших проявили чувствительность к концентрации препарата 10^{-3} – 10^{-4} мг/мл, 35 штаммов (31,3%) – умеренную устойчивость. Резистентным к концентрации метронидазола 1 мг/мл оказалось такое же количество штаммов, как и при использовании тинидазола, – 23 (20,7%).

Результаты исследования чувствительности бластоцист к орнидазолу отличались выраженной устойчивостью простейших к данному препарату. Чувствительность к нему была выявлена только у 24 штаммов (21,6%), по числу умеренно устойчивых (34,2%) и устойчивых культур (45%) данный химиопрепарат превосходил все остальные.

Степень чувствительности штаммов бластоцист к антипротозойным препаратам в период ремиссии заболеваний желудочно-кишечного тракта представлена в таблице 2.

Следует отметить, что в период ремиссии заболеваний желудочно-кишечного тракта наблюдалось увеличение количества штаммов, проявивших чувствительность как к тинидазолу, метронидазолу, так и к орнидазолу. Частота встречаемости изолятов в данном случае составила 56,7, 54 и 34,2 соответственно.

Снизилось количество умеренно устойчивых штаммов по сравнению с периодом обострения. Так, частота встречаемости изолятов простейших бластоцист была ниже, составив 28,8% (к тинидазолу), 29,7% (к метронидазолу) и 28,8% (к орнидазолу).

Полученные результаты по выявлению устойчивых штаммов бластоцист показали, что в период ремиссии заболеваний их количество снизилось. При использовании тинидазола их частота встречаемости составила 14,4%, метронидазола – 16,2%. Однако наибольшее количество устойчивых штаммов было обнаружено в стадии ремиссии к орнидазолу – 36,9% ($p < 0,05$). Значительный интерес представляет анализ результатов чувствительности бластоцист к вышеперечисленным препаратам в зависимости от продолжительности заболевания желудочно-кишечного тракта (табл. 3–5).

Как показали проведенные исследования, количество чувствительных штаммов простейших бластоцист к тинидазолу в группах обследованных больных в зависимости от продолжительности заболеваний различалось. У больных со стажем заболевания до 1 года было обнаружено 15,3% (10 изолятов) штаммов с высокой чувствительностью к данному препарату. Во 2-й группе больных только 3,6% штаммов обладали подобной чувствительностью.

Незначительно отличалась частота встречаемости таковых штаммов в 3-й группе обследованных лиц со стажем болезни от 5 до 10 лет, составив 5,4% (4 изолята). Наибольшее количество чувствительных штаммов было отмечено для 4-й группы больных с продолжительностью заболевания более 10 лет – 27,0% (19 штам-

Таблица 1. Степень выраженности чувствительности бластоцист к антипротозойным препаратам в период обострения заболевания

Препарат	Количество чувствительных штаммов, 10^{-3} - 10^{-4} мг/мл		Количество умеренно-устойчивых штаммов, 10^{-2} - 10^{-1} мг/мл		Количество устойчивых штаммов, 1 мг/мл	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Тинидазол	58	52,4	30	27,0	23	20,7
Метронидазол	53	47,8	35	31,3	23	20,7
Орнидазол	24	21,6	38	34,2	50	45,0

Таблица 2. Степень выраженности чувствительности бластоцист к антипротозойным препаратам в период ремиссии

Препарат	Количество чувствительных штаммов, 10^{-3} - 10^{-4} мг/мл		Количество умеренно-устойчивых штаммов, 10^{-2} - 10^{-1} мг/мл		Количество устойчивых штаммов, 1 мг/мл	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
тинидазол	39	56,7	20	28,8	11	14,4
метронидазол	37	54	22	29,7	12	16,2
орнидазол	24	34,2	30	28,8	26	36,9

мов). Частота встречаемости изолятов с умеренно выраженной устойчивостью была наиболее высокой в 4-й группе (16,2%; $p < 0,01$). В первой, второй и третьей группах она составила 6,3, 2,7 и 1,8% соответственно.

Неодинаковой оказалась частота встречаемости изолятов, проявивших устойчивость к данному антипротозойному препарату. Так, в первой группе больных эта величина составила 2,7% (2 штамма), во второй 1,8% (1 штамм) соответственно. Характерным было увеличение количества штаммов с данными свойствами в 4-й группе – 13,5% (9 изолятов; $p < 0,05$).

Как видно из таблицы 4, количество штаммов, проявивших чувствительность при использовании метронидазола, также составило 15,3% (17 изолятов) в первой группе, как и в случае использования тинидазола. Количество изолятов с умеренновыраженной устойчивостью снизилось до 4,5% (5 штаммов) по сравнению с предыдущим антипротозойным препаратом. Количество устойчивых штаммов составило 3,6% (4 изолята).

Для больных с продолжительностью заболевания от 1 года до 5 лет при использовании метронидазола были получены следующие результаты. В данной группе больных не были обнаружены штаммы с выраженной устойчивостью. Соотношение чувствительных и умеренно устойчивых штаммов составило 5,4% и 7,2% соответственно.

Таблица 3. Соотношение чувствительности штаммов бластоцист к тинидазолу при различной продолжительности заболевания

Степень чувствительности	Чувствительные		Умеренно-устойчивые		Устойчивые	
	абс	%	абс	%	Абс	%
Группы						
1 (до 1 года)	10	15,3	5	6,3	2	2,7
2 (от 1 до 5 лет)	3	3,6	2	2,7	1	1,8
3 (от 5 до 10 лет)	4	5,4	1	1,8	3	4,5
4 (более 10 лет)	19	27,0	11	16,2	9	13,5
Всего 70 штаммов						

Таблица 4. Соотношение чувствительности штаммов бластоцист к метронидазолу при различной продолжительности заболевания

Степень чувствительности	Чувствительные		Умеренно-устойчивые		Устойчивые	
	абс	%	абс	%	абс	%
Группы						
1 (до 1 года)	10	15,3	3	4,5	3	3,6
2 (от 1 до 5 лет)	4	5,4	5	7,2	0	0
3 (от 5 до 10 лет)	5	7,2	1	1,8	3	3,6
4 (более 10 лет)	25	36,9	8	11,7	3	3,6
Всего 70 штаммов						

Иная ситуация наблюдалась в группе больных со стажем заболеваний от 5 до 10 лет. Так, частота встречаемости изолятов с выраженной чувствительностью составила 7,2%. В данной группе обследованных лиц был обнаружен только один изолят с умеренно выраженной устойчивостью. На долю устойчивых штаммов приходилось 3,6%.

Следует отметить, что наибольшее количество изолятов бластоцист, обладавших чувствительностью при использовании метронидазола, было выявлено в четвертой группе пациентов – 36,9% ($p < 0,05$). Также по сравнению с вышеперечисленными группами было обнаружено наибольшее количество штаммов, проявивших умеренную устойчивость, – 11,7%. Незначительным было количество устойчивых штаммов – 3,6%.

Как показали результаты исследования степени чувствительности бластоцист к орнидазолу (табл. 5), наибольшее количество чувствительных штаммов было обнаружено в группе лиц с продолжительностью заболевания до 1 года – 9,9%. В то время как во второй, третьей и четвертой группах частота обнаружения таковых штаммов составила 1,8, 1,8 и 8,11% соответственно.

Различалось количество изолятов с умеренно выраженной устойчивостью – от 18% в четвертой группе до 8,1% в первой. Во второй и третьей группах штаммы с данными свойствами были выявлены в 4,5% и 5,4% соответственно.

Устойчивость к орнидазолу обнаружили 30,6% штаммов в группе обследованных с продолжительностью заболевания от 10 лет и более. В первой и третьей группах на долю изолятов с таковыми свойствами приходилось 6,3% и 4,5% соответственно.

Таким образом, все выделенные штаммы бластоцист обладали различной чувствительностью к антипротозойным препаратам. Наибольшее количество изолятов было чувствительно к тинидазолу (52,4%) и метронидазолу (47,8%), менее выражено данное свойство было по отношению к орнидазолу (21,6%). Это подтвердилось результатами определения минимальной ингибирующей концентрации, для тинидазола она составила 10^{-3} мг/мл, метронидазола – 10^{-4} мг/мл и орнидазола 10^{-3} мг/мл. Однако, значительная часть изолятов обладала выраженной резистентностью к антипротозойным препаратам: к тинидазолу и метронидазолу – 20,7%, к орнидазолу – 45,0%.

Кроме того, нами была изучена степень корреляции чувствительности бластоцист от патогенности выявленных штаммов (табл. 6).

Из таблицы 6 видно, что для степени чувствительности штаммов бластоцист корреляция с выраженностью вирулентных свойств отсутствует ($r = -0,17$). Также не было отмечено корреляции патогенных свойств и устойчивости ($r = 0,039$). Более характерная зависимость изученных свойств от патогенности наблюдалась для изолятов, проявивших умеренную устойчивость к антипротозойным препаратам ($r = 0,62$).

Определение антибиотикорезистентности бластоцист к изученным препаратам показало некоторые различия в периоды обострения и ремиссии заболеваний желудочно-кишечного тракта. Так, при обострении наибольшее количество чувствительных штаммов обнаружено к тинидазолу и метронидазолу 52,4% и 47,8% соответственно, в то время как к орнидазолу выявлено наименьшее количество устойчивых штаммов – 21,6%. В период ремиссии количество штаммов, проявивших чувствительность, увеличилось до 56,7% к тинидазолу и 54%

Таблица 5. Соотношение чувствительности штаммов бластоцист к орнидазолу при различной продолжительности заболевания

Степень чувствительности	Чувствительные		Умеренно-устойчивые		Устойчивые	
	абс	%	абс	%	абс	%
Группы						
1 (до 1 года)	7	9,9	6	8,11	4	6,3
2 (от 1 до 5 лет)	1	1,8	3	4,5	1	1,8
3 (от 5 до 10 лет)	1	1,8	4	5,4	3	4,5
4 (более 10 лет)	7	9,9	12	18,0	21	30,6
Всего 70 штаммов						

Таблица 6. Степень корреляции (r) вирулентности бластоцист и их резистентности к антипротозойным препаратам

Вирулентность LD 50 (lg)	Чувствительность	Умеренная устойчивость	Устойчивость
3,3±0,1-3,7±0,2	- 0,17	0,62	0,039
3,8±0,3-4,3±0,2			
4,4±0,1-5,2±0,3			

к метронидазолу. Отмечена зависимость изученных свойств от вирулентности изолятов, проявивших умеренную устойчивость к антипротозойным препаратам ($r = 0,62$).

25.08.2010

Список литературы:

1. Барановский А.Ю., Кондрашин Э.А. Дисбактериоз и дисбиоз кишечника. Санкт-Петербург, «Питер», 2000. – 209 с.
2. Бондаренко В.М., Грачева Н.М., Мацулевич Т.В. Дисбактериозы кишечника у взрослых. М.: КМК – 2003. – 224 с.
3. Машковский М.Д. Лекарственные средства: Пособие для врачей. – 14-е изд., перераб. и доп. – М.: Новая волна, Т. 1,2 – 2000. – 608 с.
4. Смирнова О.В., Сиченко И.Б., Романова С.В. Использование нового метода оценки антибиотикочувствительности микрофлоры кожи // Матер. науч.-практ. конф. «Микрофлора кожи – клинико-диагностическое значение». М. – 1989. – С. 43-49.
5. Zierdt C. Studies of *B. hominis* // J. Protozool. – 1983. – V.20. – P.114–121.

Сведения об авторах

Ильина Наталья Анатольевна, профессор кафедры зоологии, проректор по научной работе Ульяновского государственного педагогического университета им. И.Н. Ульянова, доктор биологических наук, профессор, Ульяновск, пл. 100-летия со дня рождения В.И. Ленина, 4, тел./факс (8422)443086, e-mail n-ilina@mail.ru

Касаткина Наталия Михайловна, старший преподаватель кафедры зоологии Ульяновского государственного педагогического университета им. И.Н. Ульянова, начальник НИСа, кандидат биологических наук, Ульяновск, пл. 100-летия со дня рождения В.И. Ленина, 4, тел./факс (8422)443086, e-mail kasatnm@mail.ru

Ilina N.A., Kasatkina N.M.

The sensitivity of blastocystis of hominis to the antiprotozoan preparations

The authors carried out a study of sensitivity of blastocysts to the antiprotozoan preparations, isolated in gastroenterological patients with the different duration of diseases, and also depending on their stage - aggravation or remission. As the antiprotozoan preparations Metronidazole, Tinidazol and Ornidazol were studied.

Key words: blastocystosis, blastocysts, antiprotozoan preparations, Metronidazole, Tinidazol and Ornidazol.

References:

1. Baranowski A., Kondrashin, EA Bacteria overgrowth and intestinal dysbiosis. St. Petersburg, «Peter», 2000 .- 209 sec.
2. Bondarenko VM, Gracheva NM, Matsulevich TV Dysbacterioses intestine in adults. Moscow: KMK - 2003. - 224.
3. Mashkovsky MD Pharmaceuticals: A Handbook for Physicians. - 14 ed., Revised. and add. - Moscow: The New Wave, T. 1,2 - 2000. - 608.
4. Smirnova OV, Sichenko IB, Romanov SV Using a new method for assessing antibiotic susceptibility of skin microflora, Mater. scientific-practical. Conf. «Microflora of the skin - clinical and diagnostic value. M. - 1989. - S. 43-49.
5. Zierdt C. Studies of *B. hominis* // J. Protozool. - 1983. - V.20. - R.114-121.