

## БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ПРОСТЕЙШИХ *BLASTOCYSTIS HOMINIS*, ВЫДЕЛЕННЫХ У ЖИТЕЛЕЙ ТОПОДЕМОВ г. САНКТ-ПЕТЕРБУРГА С РАЗЛИЧНОЙ ЭКОЛОГИЕЙ

Исследована микрофлора кишечника людей, проживающих в разных климато-экологических районах города Санкт-Петербурга. Обнаружены высокие показатели обсемененности простейшими *Blastocystis hominis* лиц проживающих в изучаемом регионе. Определение наличия персистентных свойств у выделенных штаммов простейших *B. hominis* выявило широкое распространение антилизозимной активности бластоцист и зависимость выраженности ее показателей от источника выделения.

**Ключевые слова:** микрофлора кишечника людей, Санкт-Петербург, биологические свойства простейших.

### Введение

Качество окружающей среды в значительной мере определяет уровень здоровья населения. Это относится к широкому спектру факторов среды как естественного, так и техногенного происхождения и связано прежде всего с большим объемом поступления в окружающую среду промышленных, сельскохозяйственных, бытовых и прочих отходов. Как показывают эпидемиологические исследования, даже при невысоких уровнях этих воздействий в организме человека могут развиваться выраженные негативные изменения (А.А.Воробьев с соавт., 2004). Здоровые люди с отработанными адаптационными механизмами приспособляются к меняющейся обстановке, гораздо сложнее это осуществляется организмом при той или иной патологии (Баранов А.А. с соавт., 2006).

В настоящее время широкое распространение получила «новая» протозойная инвазия – бластоцистоз, обусловленная паразитированием преимущественно в толстой кишке простейших *Blastocystis hominis* (Reinthal F.F. et al., 1988; Чайка Н.А., 1992). На протяжении последних лет ведется изучение биологии паразита, патогенез этого заболевания. Находясь в кишечнике, бластоцисты участвуют в формировании микробиоценоза данного биотопа.

В последние годы выявлены высокие показатели обсемененности *B. hominis* у лиц различных групп населения. При этом способность простейших к заселению той или иной экологической ниши зависит от наличия у простейших определенных биологических свойств (антибиотикоустойчивость, синтез токсинов, продукция бактериоцинов, ферментов защиты и

агрессии). В этом плане несомненный интерес представляют и факторы персистенции, позволяющие микроорганизму длительное время сохранять жизнеспособность в организме человека (Бондаренко В.М. с соавт., 2003). Влияние факторов внешней среды модифицирует не только защитные силы макроорганизма, но и изменяет свойства микроорганизма. Однако, если в настоящее время достаточно хорошо изучено воздействие внешней среды на организм хозяина, то динамика персистентных характеристик микроорганизмов под воздействием антропогенных факторов окружающей среды остается неизвестной (Бухарин О.В. с соавт., 2006).

Целью настоящего исследования явилось: комплексная оценка аутофлоры кишечника при бластоцистозе у лиц, проживающих в экологически неблагоприятном Северо-Западном регионе, а также изучение у простейших *Blastocystis hominis* секретлируемого фактора «антилизозимной активности» (АЛА), участвующего в инактивации защитных механизмов макроорганизма.

### Материалы и методы

Выявление бластоцист производили в ходе микробиологического анализа испражнений практически здоровых людей. Обследовали 462 человек, проживающих в различных по антропогенной нагрузке районах г. Санкт-Петербурга. Неравнозначность экологических показателей городской среды дала основание выделить три экологических зоны, обусловленные не только их естественными условиями, но и уровнем техногенного загрязнения, главными источниками которого в южных топодамах (Ки-

ровский, Московский районы) являются металлургические предприятия, заводы тяжелого машиностроения и железобетонных изделий, судостроительный завод «Северная верфь», в западных районах (Василеостровский, Приморский районы) находятся завод светопрозрачных конструкций, предприятия химической промышленности, пивоваренная компания «Балтика», в северных частях города (Курортный район) расположен инструментальный завод им. С.П. Воскова.

Первую группу составили 135 (29,22%) обследованных, проживающих в южных районах города, вторую – 151 (32,69%) человек (западный район), третью группу – 176 (38,10%) жителей северного топодема города. Состояние микробиоценоза кишечника у обследуемых лиц оценивали в соответствии с общепринятыми рекомендациями.

Для культивирования бластоцист использовали среду Suresh (1993). «Антилизоцимную» активность определяли по методу О.В. Бухарина с соавт. (1994). Обработку данных производили при помощи пакета прикладных программ для Microsoft Excel.

### Результаты исследования

Проведенные исследования показали, что из 462 обследуемых лиц бластоцисты были выявлены у 327 (70,78%) жителей г. Санкт-Петербурга. При изучении возрастной структуры обследуемых установлено, что более 50% инвазированных были лица старше 50 лет, 28% жители 35-45 лет, 15% лица 25-35 лет, 4,5% дети 7-14 лет.

Исследование пораженности бластоцистами жителей в зависимости от места проживания позволило установить ее неравнозначность в различных климато-экологических районах города (рис. 1).

Максимальные цифры инвазированности зарегистрированы в экологически неблагополучном Кировском районе, в котором значение показателя составило  $47,92 \pm 0,2\%$  населения. Следующим по интенсивности зараженности бластоцистами является Василеостровский район ( $32,08 \pm 0,4\%$ ), а минимальные величины изучаемого показателя были отмечены в Курортном районе ( $13,33 \pm 0,2\%$ ).

Изучение морфологических свойств выделенных бластоцист выявило наличие двух основных форм – вакуолярной и гранулярной, а

также цист этих простейших. В препаратах преобладали вакуолярные бластоцисты размером 6-15 мкм (65%). Крупные бластоцисты (диаметром более 15 мкм) были обнаружены у 63,4% обследованных. Характерной особенностью данной формы являлось наличие центральной вакуоли и 1-5 ядер в цитоплазме. Гранулярные формы бластоцист встречались у 36 людей (34,9%). Клетки имели сферическую форму и содержали большое число гранул, их размеры варьировали от 5 до 10 мкм – 72,6% случаев и 10-20 мкм – 27,4% случаев.

При изучении микрофлоры толстой кишки у лиц обследуемых групп обнаружено изменение ее состава. Доминирующее положение в биоценозе кишечника лиц, инвазированных бластоцистами, занимали анаэробные микроорганизмы, качественный и количественный состав которых был разнообразен (табл. 1).

Дальнейшая интерпретация полученных результатов показала, что присутствие в микрофлоре кишечника простейших *B. hominis* в подавляющем большинстве наблюдений сопровождается нарушением микробиоценоза кишечника, что характеризуется уменьшением представителей нормальной флоры (бифидобактерий, лактобактерий, бактероидов) и увеличением условно-патогенных микроорганизмов (энтерококков, клебсиелл, стафилококков). Согласно классификации дисбиозов кишечника, предложенной И.Б. Куваевой и К.С. Ладодо (1991), дисбактериоз I степени (Д I) выявлен у 67 (20,49%) лиц, инвазированных бластоцистами, Д II – у 174 человек (53,21%), в 23,54% (77) случаев был диагностирован дисбактериоз III степени. Нарушения микроэкологии IV степени тяжести, характеризующейся полной разбалансированностью в составе микрофлоры,

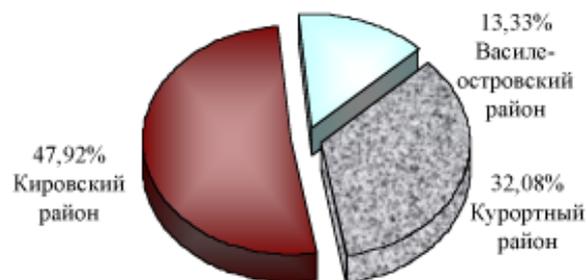


Рисунок 1. Показатели инвазированности простейшими *B. hominis* жителей различных районов г. Санкт-Петербурга

были установлены у 2,75% (9) инвазированных бластоцистами.

Далее была изучена кишечная эндофлора лиц, инвазированных бластоцистами, проживающих в разных по техногенной нагрузке районах города. Первую группу составил 101 человек, проживающий в Кировском районе города, вторую – 109 лиц, являющихся жителями Василеостровского района, и третью группу – 117 обследованных, проживающих в Курортном районе г. Санкт-Петербурга (табл. 2).

Анализ микробиологических нарушений кишечника в зависимости от места проживания людей показал, что наиболее глубокими дисбиотическими изменениями кишечника страдают жители Кировского района города (табл. 2), у

которых выявлен дисбиоз кишечника четвертой степени, характеризующийся глубоким разбалансированием кишечного микробиоценоза с изменением количественных соотношений основных групп микроорганизмов (бифидо-, лактобактерий) (рис. 2).

Средние показатели дисбиоза прослеживаются у лиц, проживающих в западном районе (Василеостровский район) города, низкие значения дисбиотических нарушений зарегистрированы в северном (Курортный район) топодеме города (табл. 2). Самым распространенным вариантом биоценоза кишечника обследуемых групп был дисбактериоз II степени, встречающийся на юге в 43,22% (75 человек), на западе – 32,61% (60 лиц) и на севере – 17,12% случаев (39 обследованных).

Таблица 1. Качественный и количественный состав биоценоза кишечника обследованных

Группа Микроорганизмы	Инвазированные бластоцистами			Здоровые		
	абс.	%	КОЕ/г	абс.	%	КОЕ/г
Lactobacillus	256	78,28	7,0 ± 0,2	127	94,07	8,7 ± 0,2
Bifidobacterium	234	71,56	6,4 ± 0,1	118	87,40	8,8 ± 0,2
Escherichia	283	86,54	6,8 ± 0,4	132	97,78	7,4 ± 0,1
Bacteroides	327	100	8,5 ± 0,1	133	98,51	9,8 ± 0,3
Enterococcus	156	47,70	7,6 ± 0,2	23	17,03	4,7 ± 0,4
Proteus	78	23,85	6,0 ± 0,7	18	13,33	3,8 ± 0,2
Klebsiella	69	21,10	6,8 ± 0,2	37	27,40	4,2 ± 0,4
Enterobacter	45	13,76	3,9 ± 0,4	8	5,92	3,7 ± 0,1
Staphylococcus	87	26,60	6,2 ± 0,3	43	31,85	4,3 ± 0,2
Candida	112	34,25	6,4 ± 0,2	52	38,51	3,7 ± 0,1
Clostridium	67	20,48	6,1 ± 0,6	26	19,26	6,7 ± 0,8
Всего	327			135		
P			± 0,05			± 0,05

Таблица 2. Качественный и количественный состав микрофлоры кишечника лиц, инвазированных бластоцистами, в зависимости от топодема проживания

Топодем Микроорганизмы	Юг		Запад		Север	
	%	lg M±m	%	lg M±m	%	lg M±m
Lactobacillus	48,03	6,6±0,2	78,85	6,8±0,2	86,36	6,8±0,2
Bifidobacterium	61,18	6,7 ± 0,3	87,82	6,3 ± 0,3	88,96	6,5 ± 0,3
Escherichia	81,58	8,7 ± 0,2	92,31	8,7 ± 0,3	73,38	8,2 ± 0,2
Bacteroides	92,11	8,5 ± 0,1	94,87	8,5 ± 0,1	94,81	8,5 ± 0,1
Enterococcus	64,47	7,3 ± 0,2	46,79	6,4 ± 0,2	42,86	6,1 ± 0,2
Proteus	50,00	6,4 ± 0,7	46,15	5,2 ± 0,1	35,06	5,8 ± 0,3
Klebsiella	58,55	7,2 ± 0,2	43,59	6,3 ± 0,2	14,94	5,8 ± 0,2
Enterobacter	36,84	3,9 ± 0,4	8,33	3,3 ± 0,1	11,04	3,9 ± 0,2
Staphylococcus	73,68	6,8 ± 0,3	48,72	5,8 ± 0,1	30,52	5,3 ± 0,1
Candida	60,52	6,0 ± 0,2	34,62	5,7 ± 0,3	35,71	4,8 ± 0,2
Clostridium	22,37	6,2 ± 0,1	23,08	6,0 ± 0,1	8,44	5,5 ± 0,3
Всего	101		109		117	
P			± 0,05			± 0,05

Для изучения персистирующих свойств, направленных на деградацию механизмов резистентности хозяина, проводили выявление антилизоцимной активности (АЛА) у 327 штаммов простейших *V. hominis*, выделенных у людей, проживающих в разных по техногенной нагрузке районах г. Санкт-Петербурга.

Из 327 изученных штаммов бластоцист 178 (54,43%) обладали АЛА. Уровень АЛА у *V. hominis*, выделенных из фекалий людей, проживающих в разных экологических районах города, варьировал. Для анализа персистентных характеристик бластоцист были выделены 3 группы простейших: первая включала штаммы с низким уровнем АЛА – до 2 мкг/мл включительно, вторая со средним уровнем – 3-4 мкг/мл и третья с высоким уровнем – 5 мкг/мл и более. Доля штаммов с низкими показателями АЛА составила 35,7% (63 штамма), со средним уровнем – 40,3% (72 штамма) и 24% (43 штамма) с высоким уровнем АЛА.

Дальнейшие исследования показали, что уровень АЛА штаммов простейших варьировал в зависимости от района проживания людей. В связи с этим исследуемые штаммы *V. hominis* были разделены на 3 группы. В 1-ю группу входили бластоцисты, выделенные из фекалий людей, проживающих в южном районе города, – 145 штаммов, вторую группу (западный район) – 103 штамма и третью группу (северный топодем города) – 79 штаммов бластоцист. Распространенность антилизоцимной активности *V. hominis* в изучаемых группах представлена в таблице 3.

Таблица 3. Распространенность антилизоцимной активности у *V. hominis*

Группы	Район проживания	Общее кол-во штаммов	Кол-во штаммов с АЛА	%
1	Курортный район	79	53	67,09
2	Василеостровский район	103	41	39,81
3	Кировский район	145	84	57,93

Таблица 4. Уровень антилизоцимной активности *V. hominis* у людей, проживающих в районах г. Санкт-Петербурга с различной экологией

Значения АЛА (мкг/мл)	Группы обследованных					
	Северный район		Западный район		Южный район	
	Кол-во штаммов с АЛА	%	Кол-во штаммов с АЛА	%	Кол-во штаммов с АЛА	%
до 2 мкг/мл	41	77,36	25	60,98	18	21,43
3-4 мкг/мл	12	22,64	16	39,02	37	44,05
5 мкг/мл и более	-----	-----	-----	-----	29	34,52

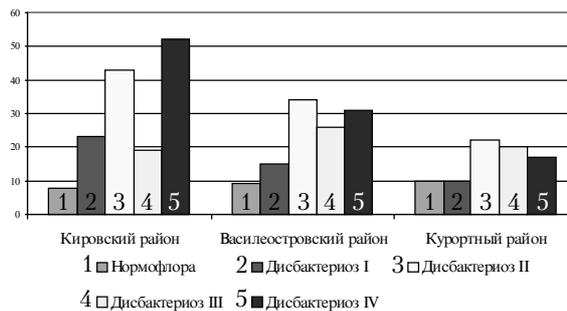


Рисунок 2. Выраженность нарушений в микроэкологии кишечника инвазированных *V. hominis*, живущих в разных районах г. Санкт-Петербурга, %

Анализ проведенных исследований показал, что максимальное количество штаммов бластоцист – 145 (57,93%) – было выявлено из фекалий жителей экологически неблагополучного Кировского района. В этом же топодеме города выделенные штаммы *V. hominis* обладали наибольшей антилизоцимной активностью. Анализ изучения показателей АЛА в указанных группах обследуемых лиц представлен в таблице 4.

Из таблицы видно, что антилизоцимная активность бластоцист, выделенных у жителей северного и западного районов города (Василеостровский, Курортный район соответственно), имела низкие (до 2 мкг/мл) и средние (3-4 мкг/мл) значения, тогда как высокие показатели (5 мкг/мл и более) полностью отсутствовали. Высокие значения АЛА (5 мкг/мл и более) наблюдались только у простейших, обнаруженных у жителей южного топодема города (Кировский район), ее показатели составили 34,52% (29 штаммов).

**Выводы**

1. Выявлены высокие показатели инвазивности простейшими *B. hominis* жителей г. Санкт-Петербурга.
2. В топодемах города с экологическим неблагополучием (Кировский район) зараженность населения бластоцистами выше, чем в районах с относительно благополучной экологической ситуацией (Василеостровский, Курортный районы).
3. Обнаружено, что бластоцистная инвазия сопровождается структурной перестройкой в

микробиоценозе кишечника человека. Носительство паразита приводит к нарушениям как в анаэробном, так и в аэробном компоненте микрофлоры.

4. Антилизозимная активность обнаружена у 178 (54,43%) изученных штаммов бластоцист, что свидетельствует о выраженной способности *B. hominis* к персистенции. Установлено, что показатели антилизозимной активности бластоцист выше у людей, проживающих в экологически неблагополучном Кировском районе города.

10.09.2009

**Список использованной литературы:**

1. Воробьев А.А., Несвижский Ю.В., Липницкий Е.М. и др. Исследование пристеночной микрофлоры кишечника человека. Журн.микробиол. 2004, №1. – С. 60-63.
2. Баранов А.А., Белова С.В. и др. Дисбактериоз и дисбиоз кишечника / Баранов А.А. // Педиатрия. - 2006. - №9. – С. 73-77.
3. Чайка Н.А. Бластоцистоз и СПИД /Н.А.Чайка // Медицинская паразитология. – 1992. - №4. – С.48-51.
4. Бондаренко В.М., Грачева Н.М., Мацулевич Т.В. Дисбактериозы кишечника у взрослых. М., КМК – 2003 г., 224 с.
5. Куваева И.Б., Ладодо К.С. Микроэкологические и иммунные нарушения у детей. – М.: - 1991. – 135 с.
6. Экология микроорганизмов человека. Под редакцией Бухарина О.В. Екатеринбург.: Уральский центр академического обслуживания – 2006. – 479 с.
7. Бухарин О.В. Биомедицинские аспекты персистенции бактерий / О.В.Бухарин // Журн.микробиол. – 1994. Приложение. С. 4-13.
8. Reinthaler F.F. et al. *Blastocystis.hominis* – intestinal parasit or commensal // Wien.Med.Wochenschr. – 1988. – V15. – P.545-552.

## Сведения об авторе:

Бугеро Нина Владимировна, старший преподаватель кафедры геоэкологии Государственной полярной академии (г. Санкт-Петербург), кандидат биологических наук 192007, г. Санкт-Петербург, ул. Воронежская, д. 79, тел.: (812) 7869248, 89219572084, E-mail – [bugero@mail.ru](mailto:bugero@mail.ru)

Bugero N.V.

**BIOLOGICAL PROPERTIES OF THE PROTOZOA BLASTOCYSTIS HOMINIS, ISOLATED FROM RESIDENTS OF ST. PETERSBURG TOPODEMES WITH DIFFERENT ECOLOGY**

We study the intestinal microflora of people living in different climatic and ecological areas of the city of St. Petersburg. We found high levels of the protozoa *Blastocystis hominis* in persons living in the studied region. Detection of persistent properties in isolated strains of the protozoa *B. hominis* revealed widespread blastocysts antilysozymic activity and the dependence of its performance from the isolation source.

Key words: human intestinal microflora, St. Petersburg, biological properties of protozoa

**Bibliography:**

1. Vorobyev A.A., Nesvizhsky Y.V., Lipnitsky E.M. et al. Study of parietal intestine microflora of humans. Microbiol. Journal 2004, №1. – P.60-63.
2. Baranov A.A., Belova S.V. et al. Disbacteriosis and disbiosis of intestine / Baranov A.A. // Pediatrics. - 2006. - №9. – P.73-77.
3. Chaika N.A. Blastocystis and AIDS /N.A.Chaika // Medical parasitology. – 1992. - №4. – P.48-51.
4. Bondarenko V.M., Gracheva N.M., Matsulevich T.V. Disbacterioses of intestine in adults. M., KMK – 2003, 224 p.
5. Kuvaeva I.B., Ladodo K.S. Microecological and immune disorders in children. – M.: - 1991. – 135 p.
6. Ecology of human microorganisms. Edited by Bukharin O.V. Yekaterinburg.: Ural Center of Academic Services – 2006. – 479 p.
7. Bukharin O.V. Biomedical aspects bacteria persistence / O.V. Bukharin // Microbiol. Journal – 1994. Appendix. C.4-13.
8. Reinthaler F.F. et al. *Blastocystis.hominis* – intestinal parasit or commensal // Wien.Med.Wochenschr. – 1988. – V15. – P.545-552.