*Огляди літератури, **оригінальні дослідження**, погляд на проблему, випадок з практики, короткі повідомлення*
УДК 616.34-008.87-02:616.34-008.314.4-06:616.98:579.852.13
DOI 10.11603/1811-2471.2019.v.i4.10473

ХАРАКТЕРИСТИКА СКЛАДУ МІКРОФЛОРИ КИШЕЧНИКА У ХВОРИХ З ДІАРЕЄЮ ТА ПІДОЗРОЮ НА *CLOSTRIDIUM DIFFICILE*-ІНФЕКЦІЮ

©І. А. Воронкіна, С. С. Кхедер, А. М. Марющенко, В. Ф. Дяченко, Г. П. Тараненко, П. В. Оветчин

Державна установа «Інститут мікробіології та імунології імені І. І. Мечникова Національної академії медичних наук України», м. Харків

РЕЗЮМЕ. Якісний та кількісний склад мікрофлори у шлунково-кишковому тракті може змінюватись у залежності від різних чинників. При цьому в слизовій оболонці можуть виникати запальні процеси, які сприятимуть розвитку такої ендогенної інфекції, як *Clostridium difficile*-інфекція (CDI).

Мета – вивчити характер змін якісного та кількісного складу мікрофлори кишечника у хворих з підозрою на CDI.

Матеріал і методи. Бактеріологічним методом досліджено зразки біотичного матеріалу (фекалії), відібрані від 73 хворих з клінічними проявами CDI. Отримані проби підлягали дослідженню на дисбактеріоз та наявність збудника CDI.

Результати. При обстеженні хворих з діареєю та підозрою на CDI збудник *C. difficile* було виділено у 9,7 %. Дисбіотичні порушення складу мікрофлори кишечника виявлені у всіх без винятку пацієнтів. Характер порушень мікрофлори в обох групах відповідав 2 та 3 ступеням тяжкості. У пацієнтів з наявністю *C. difficile* виявлено знижену кількість представників нормобіоценозу в 10 і більше разів, переважання кокових форм у загальній кількості мікробів та підвищення кількості грибів роду *Candida*. У схеми корекції стану мікрофлори кишечника хворих з діареями, у фекаліях яких виявлено *C. difficile*, доцільно включати препарати, направлені на елімінацію збудника (метронідазол, фідаксоміцин тощо) або проводити трансплантацію фекальної мікробіоти.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: дисбактеріоз кишечника; псевдомембранозний коліт; *Clostridium difficile*-інфекція; бактеріологічна діагностика.

Вступ. Мікрофлора кишкового тракту є гетерогенною сумішшю мікроорганізмів. Щільність заселення бактеріями травного каналу складає близько 10^{14} бактеріальних клітин та налічує більше 1000 різних видів бактерій [1, 2]. Завдяки специфічним адаптаційним механізмам мікрофлора має низку важливих функцій: біохімічну (продукція біологічно активних речовин, водно-сольовий обмін, детоксикація екзогенних та ендогенних токсичних субстанцій), метаболічну (метаболізм білків, жирів та вуглеводів), імунну (імуногенна роль, формування імунологічної толерантності до харчових та мікробних агентів). Також мікрофлора забезпечує колонізаційну резистентність, є біосорбентом та сховищем мікробного генетичного матеріалу [3, 4, 5]. Отже, мікробіота кишечника забезпечує повноцінне існування організму-хазяїна та здоров'я.

Видовий склад та кількісне співвідношення мікроорганізмів у нормі відносно стабільні та характеризують мікробіологічний статус макроорганізму (еубіоз). Зменшення кількості облігатної мікрофлори, яка має високу антагоністичну активність, створює умови для розвитку таких видів, які в нормальних умовах були пригнічені конкуренцією з активними симбіонтами, або транзиторно опинились в кишечнику. Якісний та кількісний склад мікробів у шлунково-кишковому тракті може змінюватись залежно від способу харчування, віку, статі, впливу зовнішніх факторів, наявності хронічних захворювань та іншого [1, 2, 5]. При цьому можуть виникати запальні процеси в слизовій оболонці, які сприятимуть розвитку такої ендогенної інфекції як *Clostridium difficile*-інфекція (CDI) [6, 7, 8].

C. difficile – грампозитивна спороутворююча паличка, облігатний анаероб, рухлива, належить до факультативної мікрофлори кишечника. Представники цього виду можуть продукувати екзотоксини і бути патогенними для людей і тварин. Важливий фактор патогенності збудника – адгезивна активність до клітин епітелію товстої кишки. У новонароджених бактерії з'являються вже на 6–7 день життя. Максимальна частота виділення *C. difficile* спостерігається у віці 2–8 місяців (до 50,0 % і вище), до 2 років частота виділення знижується. Встановлена присутність *C. difficile* у випорожненнях 3,0 % дорослих здорових людей. Рівень *C. difficile* у дорослої людини складає 10^6–10^7 КУО/мл. Після 60–75 років спостерігається збільшення рівня представників роду клостридій на фоні зниження кількості біфідобактерій [2, 5].

Уперше C. *difficile* був виділений у 1935 році Holl та O'Toole, як представник нормальної мікрофлори немовляти [9]. У 1977 році C. *difficile* визнано основним збудником антибіотикоасоційованого коліту (ААК) [10]. Розвитку інфекції сприяють не тільки антибактеріальні препарати (перш за все кліндаміцин, амінопеніциліни, цефалоспори-

ни III покоління), а й будь-які інші препарати, здатні порушувати індигенну мікрофлору кишечника (протипухлинні засоби, препарати платини, циклофосфаміди, антиметаболіти) [11, 12].

Мета дослідження – вивчити характер змін якісного та кількісного складу мікрофлори кишечника у хворих з підозрою на CDI.

Матеріал і методи дослідження. Дослідження проводилось у лабораторії анаеробних інфекцій (ЛАІ) Державної установи «Інститут мікробіології та імунології імені І. І. Мечникова Національної академії медичних наук України».

Об'єкт дослідження – зразки біотичного матеріалу (фекалії), що підлягали аналізу для виявлення *C. difficile* та супутньої мікрофлори, відібрані від хворих з проявами CDI (наявність діареї після початку прийому антибіотиків або інших препаратів «групи ризику», симптоми інтоксикації, кишкові кровотечі, ендоскопічні ознаки псевдомембранозного коліту (ПМК). Групу обстежених склали 73 пацієнти віком від 20 до 60 років.

При дослідженні користувались поживними середовищами виробництва HiMedia Laboratories Pvt. Limited, (Індія), bioMérieux (Франція), FL medical (Італія), Державний експериментальний завод медичних препаратів НАНУ (Україна, Київ). Поживні середовища готували відповідно до вимог виробника. Контроль якості поживних середовищ проводили за рекомендаціями фірм-виробників, які викладено у сертифікатах до продукції, а також згідно з діючою нормативною документацією [13].

Відбір матеріалу проводили у стерильну пластикову ємність в об'ємі 5–10 мл. Дослідженню підлягали зразки рідких фекалій. При неможливості доставки зразків до лабораторії протягом 2 годин фекалії відбирали у транспортну пробірку-тампон з середовищем Еймса в об'ємі не менш ніж 5 мл.

Отримані проби підлягали дослідженню на дисбактеріоз та наявність збудника CDI.

Дослідження на дисбактеріоз проводили за загальноприйнятою методикою [14, 15]. Для обліку результатів дослідження на щільних поживних середовищах рахували кількість колоній та робили перерахунок кількості мікроорганізмів на 1,0 г фекалій. Визначали наявність патогенних ентеробактерій, загальну кількість кишкових паличок (з них *E.coli* з нормальними ферментативними властивостями, зі зниженими, та лактозонегативні), *E.coli* з гемолітичними властивостями (Hly+), мікроорганізмів родів *Staphylococcus, Enterococcus, Bifidobacterium, Lactobacillus, Proteus, Candida, Clostridium,* а також умовно патогенних ентеробактерій та *P.aeruginosa.*

Ідентифікацію супутньої мікрофлори проводили загальноприйнятими класичними бактеріологічними методами.

Ступінь дисбіотичних порушень складу мікрофлори кишечника встановлювали згідно з [16].

З метою виділення *C. difficile* досліджуваний матеріал у кількості 0,1 мл з розведень 10^3–10^6 висівали на селективний фруктозний агар – Clostridium Difficile Agar (CDA) (HiMedia, Індія) з селективною добавкою FD 010 (HiMedia, Індія). Чашки з посівами поміщали в анаеростат з GEN box anaer (bio Mérieux, Франція). Інкубація за 37^0 С тривала 3 доби.

Попередню ідентифікацію ізольованих культур, що виросли на щільних середовищах, робили за характерною морфологією колоній, наявністю специфічного запаху крезолу «гною», результатами мікроскопії мазків, пофарбованих за Грамом (наявність крупних 3–6×1,3–1,6 нм грампозитивних паличок з овальними субтермінальними спорами) [17, 18].

Визначення біохімічної активності виділених культур проводили за допомогою стрипів Rapid ID 32A відповідно до інструкції виробника.

Статистичну обробку результатів проводили методами варіаційної статистики з визначенням середньоарифметичного значення (M) та його стандартної похибки (m) [19, 20].

Результати й обговорення. При обстеженні 73 пацієнтів з діареєю та підозрою на CDI у всіх хворих виявлено кількісні та якісні порушення складу мікрофлори кишечника. *C. difficile* виділено у 7 пробах, що складає 9,6 % від загальної кількості обстежених.

Аналіз кишкової мікробіоти у пацієнтів з виділеною *C. difficile* показав, що у всіх хворих була знижена кількість нормальної кишкової палички до (6,3±0,6) lg КУО/г, знижена кількість інших представників нормобіоценозу, а саме біфідо- та лактобактерій, в 10 і більше разів (5–7 lg КУО /г та 4–6 lg КУО/г відповідно), підвищена кількість мікроорганізмів роду *Enterococcus* (8,0±0,6) lg КУО/г та *Staphylococcus* у всіх пробах, що обумовило переважання кокових форм у загальній кількості мікробів до (73,0±0,2) % (нормопоказник – до 25,0 %). Також характерною ознакою порушень мікрофлори кишечника у пацієнтів з визначеною *C. difficile* було збільшення кількості грибів роду *Candida* в усіх пробах до (5,9±0,6) lg КУО/г. У двох зразках було виділено синьогнійну паличку, та в одному – *P. vulgaris* (6,0 lg КУО/г). Патогенні мікроорганізми роду *Shigella, Salmonella* та патогенні ешерихії у цих пробах не виявлені (табл. 1).

В пацієнтів, у фекаліях яких *C. difficile* не була виділена, також спостерігались дисбіотичні порушення, а саме зниження кількості представників нормобіоценозу: загальної кількості *E. coli* – (6,1±0,1) lg КУО/г, лакто- та біфідумбактерій (7 lg КУО/г і нижче), мікроорганізмів роду *Enterococcus*

Таблиця 1. Характеристика кишкової мікрофлори хворих, у яких з проб фекалій виділено *C. difficile,* lg КУО/г

Мікрофлора	Нормо-показники	№ пацієнта							M±m	Lim
		1	2	3	4	5	6	7		
Патогенна флора	0	0	0	0	0	0	0	0	–	–
Загальна кількість *E. coli*	7-8	5,5	6,7	6	6	6,3	7,7	5,5	6,3±0,6	5,5-7,7
E. coli з нормальною ферментативною активністю	7-8	5,5	6,7	6	6	6,3	7,3	5,5	6,2±0,5	5,5-7,3
E. coli зі зниженою ферментативною активністю	6-7 (до 10 %)	0	0	0	0	0	7,4	0	–	–
E. coli лактозонегативна	до 5 (до 5 %)	0	0	0	0	0	0	0	–	–
E. coli Hly+	0	0	0	0	0	0	0	0	–	–
Staphylococcus	до 4	3,7	4	4	4	5,5	3	3	3,9±0,6	3-5,5
Enterococcus	5-6	7,2	8	8,5	7,6	8,7	7	8,8	8,0±0,6	7-8,8
Bifidobacterium	8-9	6	5	5	7	7	7	5	6,0±0,9	5-7
Lactobacillus	6-7	5	4	5	6	5	5,7	4	5,0±0,5	4-6
Умовно патогенні ентеробактерії	до 4	0	7,4	8,2	6,9	0	0	0	4,1±3,5	0-8,2
Candida spp.	до 4	5,3	6,2	5,5	5,9	5,7	7,4	5	5,9±0,6	5-7,4
Клостридії (*C. difficile)*	до 5	6	6	5	7	5	5	7	5,9±0,7	5-7
P. vulgaris	до 4	0	0	0	0	0	6	0	–	–
P. aeruginosa	до 4	6,7	0	0	0	6,9	0	0	–	–
Кокові форми в загальній кількості, %	до 25	52	62	75	69	92	62	99	73,0%±0,2	52–99

(до 5 lg КУО/г). У даної групи пацієнтів виявлено наявність слабоферментуючих форм кишкової палички та лактозонегативної, у декількох пацієнтів (n=3) висівались *E. coli Hly+* (аглютинація ОКА++++), що дозволяє припустити наявність ешерихіозної інфекції, в одному випадку виділена *S. enteritidis.* Також у значній кількості (5 lg КУО/г і більше) виділялись представники умовно патогенної мікрофлори (*P. vulgarus/mirabilis, E. aerogenes/cloaceae, K. pneumoniae/oxytoca, M. morganii)* тощо.

Характер порушень мікрофлори в обох групах відповідав 2 та 3 ступеням тяжкості, при цьому у групі, в якій *C. difficile* не виявлено, спостерігалося кількісне переважання таких умовно патогенних мікроорганізмів як стафілокок, клебсієла, протей, синьогнійна паличка тощо.

Дослідження останніх років показують, що навіть незначні порушення у природній рівновазі кишкової мікробіоти можуть мати негативні наслідки для організму хазяїна та призводити до патологічних станів. Дискусії щодо етіології запальних захворювань кишечника тривають. Потребує вирішення питання, що є первинним: наявність запального процесу в кишечнику і розвиток на цьому тлі CDI чи безпосередньо токсини *C. difficile*, які викликають коліти. Деякі дослідники вважають, що дисбактеріоз кишечника слід розглядати як механізм, що призводить до розмноження *C. Difficile,* з наступним ускладненням інфекційного процесу у вигляді ПМК [1, 21, 22].

Висновки. При обстеженні 73 хворих з діареєю та підозрою на CDI збудник *C. difficile* було виділено у 9,7 % обстежених хворих. Дисбіотичні порушення складу мікрофлори кишечника виявлені у всіх без винятку пацієнтів. Характер порушень мікрофлори в обох групах відповідав 2 та 3 ступеням тяжкості.

У пацієнтів з *C. difficile* виявлена знижена кількість представників нормобіоценозу (в 10 і більше разів), переважання кокових форм у загальній кількості мікробів (до (73,0±0,2) %) та збільшення кількості грибів роду *Candida* в усіх пробах.

У хворих з клінічними ознаками коліту без виявленої *C. difficile* спостерігалась кількісна перевага таких умовного патогенних мікроорганізмів як стафілокок, клебсієла, протей, синьогнійна паличка тощо.

Для остаточного встановлення діагнозу CDI необхідне визначення токсигенних властивостей виділених штамів клостридій.

У схеми корекції мікрофлори кишечника хворих з діареями, у фекаліях яких виявлено *C. difficile*, доцільно включати препарати, спрямовані на елімінацію цього збудника (метронідазол, фідаксоміцин тощо) або проводити трансплантацію фекальної мікробіоти, що на сьогодні є найефективнішим методом відновлення індигенної мікрофлори кишечника.

ЛІТЕРАТУРА

1. The intestinal microbiota dysbiosis and Clostridium difficile infection: is there a relationship with inflammatory bowel disease? / Justyna Bien, Vindhya Palagani, Przemyslaw Bozko [et. al] // Therap. Adv. Gastroenterol. – 2013. – Vol. 6. – № 1. – 53–68. – URL : https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3539291/ DOI: 10.1177/1756283X12454590

2. Янковский Д. С. Микробная экология человека: современные возможности ее поддержания и восстановления / Д. С. Янковский. – К. : Эксперт ЛТД.– 2005. – 361 с.

3. Saavedra Jose M. Probiotics and children's health / M. Saavedra Jose // Nest. – 2000. – № 9. – P. 7–8.

4. Симонова Е. В. Роль нормальной микрофлоры в поддержании здоровья человека / Е. В. Симонова, О. А. Пономарева // Сибирский медицинский журнал. – 2008. – № 8. – С. 20–25.

5. Хавкин А. И. Микрофлора пищеварительного тракта / А. И. Хавкин. – М. : Фонд социальной педиатрии, 2006. – 416 с.

6. The vexed relationship between Clostridium difficile and inflammatory bowel disease: an assessment of carriage in an outpatient setting among patients in remission / E. M. Clayton, M. C. Rea, F. Shanahan [et al.] // Am. J. Gastroenterol. – 2009 – No. 104 (5). – P. 1162–1169. DOI: 10.1038/ajg.2009.4.

7. Changes in microbial ecology after fecal microbiota transplantation for recurrent C. difficile infection affected by underlying inflammatory bowel disease / S. Khanna, Y. Vazquez-Baeza, A. González [et al.] // Microbiome. – 2017. – No. 5 (1) – P. 55. DOI: 10.1186/s40168-017-0269-3

8. Khanna S. A clinician's primer on the role of the microbiome in human health and disease / S. Khanna, P. K. Tosh // Mayo Clin. Proc. – 2014. – No. 89 (1). – P. 107–14. URL : https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24388028?dopt doi: 10.1016/j.mayocp.2013.10.011.

9. Jones A. M. Clostridium difficile: a European perspective / A. M. Jones // J. Infect. – 2013. – Vol. 66, No. 2. – P. 115–128.

10. Fekety R. Antibiotic associated colitis / R. Fekety // Principles and practice of infection Deseases. – 1995. – No. 4. – P. 978–987.

11. Anand A. Epidemiology, clinical manifestations, and outcome of Clostridium difficile-associated diarrhea // Am. J. Gastroenterol. – 1994. – No. 89. – P. 519–5423.

12. C. difficile как основной возбудитель антибиотико-ассоциированных диарей : современное состояние проблемы / Н. В. Соловей, И. А. Карпов [и др.] // Клиническая инфектология и паразитология. – 2013. – No. 3. – С. 102–119.

13. Бактеріологічний контроль поживних середовищ : інформаційний лист / Г. І. Глушкевич, В. В. Томчук, Н. М. Жеребко. – Київ, 2000. – 12 с.

14. Микробиологическая диагностика дисбактериозов : методические рекомендации / [В. А. Знаменский, В. Н. Дехтярь, С. Н. Кузьминский и др.] – Киев, 1986. – 27 с.

15. Бактериологическая диагностика дисбактериоза кишечника : инструкция по применению / Л. Д. Газиумарова, Л. П. Титов, Н. Л. Клюйко. – Минск, 2010. – 27 с.

16. Барановский А. Ю. Дисбактериоз кишечника / А. Ю. Барановский, Э. А. Кондрашина. – СПб. : Питер, 2008 – 3-е изд. – 240 с.

17. Лебедкова Н. В. Биологическая характеристика изолятов Clostridium difficile и разработка систем для культивирования строгих анаэробов : автореф. дис. на соискание ученой степени канд. мед. наук : 03.00.07 / Н. В. Лебедкова ; Белорус. гос. мед. ун-т. – Минск, 2003. – 21 с.

18. Патогенные клостридии. Микробиологическая диагностика клостридиальных инфекций / Ю. Л. Волянский, В. И. Чернявський, С. В. Бирюкова, А. М. Марющенко [и др.] // Методические рекомендации для врачей и интернов по специальности «Бактериология». – Харьков, 2013. – 60 с.

19. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / С. М. Лапач, А. В. Чубенко, П. Н. Бабич. – К. : МОРІОН, 2001 – 408 с.

20. Гланц С. Медико-биологическая статистика / С. Гланц ; пер. с англ. – М. : Практика, 1998. – 459 с.

21. Britton R. A. Interaction between the intestinal microbiota and host in Clostridium difficile colonization resistance / R. A. Britton, V. B. Young // Trends Microbiol. – 2012. – No. 20 (7). – P. 313–319. DOI: 10.1016/j.tim.2012.04.001. Epub 2012 No. 15

22. Sokol H. Specificities of the intestinal microbiota in patients with inflammatory bowel disease and Clostridium difficile infection / H. Sokol, S. Jegou, C. McQuitty // Gut. Microbes. – 2018. – No. 9 (1). – P. 55–60. DOI: 10.1080/19490976.2017.1361092.

REFERENCES

1. Bien, J., Palagani, V., & Bozko, P. (2013). The intestinal microbiota dysbiosis and Clostridium difficile infection: is there a relationship with inflammatory bowel disease? *Therap. Adv. Gastroenterol.*, 6 (1), 53-68. doi: 10.1177/1756283X12454590

2. Yankovskiy, D.S. (2005). *Mikrobnaya ekologiya cheloveka: sovremennye vozmozhnosti yeye podderzhaniya i vosstanovleniya [Microbial human ecology: modern possibilities of its maintenance and restoration].* Kyiv: Ekspert LTD [in Russian].

3. Saavedra, J.M. (2000). Probiotics and children's health. *Nest,* 9, 7-8.

4. Simonova, E.V., & Ponomareva, O.A. (2008). Rol normalnoy mikroflory v podderzhanii zdorovya cheloveka [The role of normal microflora in maintaining human health]. *Sibirskiy meditsinskiy zhurnal – Siberian Medical Journal,* 8, 20-25 [in Russian].

5. Khavkin, A.I. (2006). *Mikroflora pishchevaritelnogo trakta [Microflora of the digestive tract].* Moscow: Fond sotsialnoy pediatrii [in Russian].

6. Clayton, E.M., Rea, M.C., & Shanahan F. (2009). The vexed relationship between Clostridium difficile and inflammatory bowel disease: an assessment of carriage in an outpatient setting among patients in remission. *Am. J. Gastroenterol.*, 104 (5), 1162-1169. doi: 10.1038/ajg.2009.4. Epub 2009 Mar 24.

7. Khanna, S., Vazquez-Baeza, Y., González, A., Weiss, S., Schmidt, B., Muñiz-Pedrogo, D.A., …, & Kashyap, P.C. (2017). Changes in microbial ecology after fecal microbiota transplantation for recurrent C. difficile infection affected by underlying inflammatory bowel disease. *Microbiome,* 5 (1), 55. doi: 10.1186/s40168-017-0269-3

8. Khanna, S., & Tosh, P.K. (2014). A clinician's primer on the role of the microbiome in human health and disease. *Mayo Clin. Proc.*, 89 (1), 107-114. doi: 10.1016/j.mayocp.2013.10.011.

9. Jones, A.M. (2013). Clostridium difficile: a European perspective. *J. Infect.,* 66 (2), 115-128. doi: 10.1016/j.jinf.2012.10.019.

10. Fekety, R. (1995). Antibiotic associated colitis. *Principles and Practice of Infection Diseases,* 4, 978-987.

11. Anand, A. (1994). Epidemiology, clinical manifestations, and outcome of Clostridium difficile-associated diarrhea. *Am. J. Gastroenterol.*, 89 (4), 519-523.

12. Karpov, I., Horbach, Yu., Solovey, N.V., & Levshyna, N. (2013). C. difficile kak osnovnoy vozbuditel antibiotiko-assotsiirovannykh diarey : sovremennoe sostoyanie problemy [C. difficile as the main causative agent of antibiotic-associated diarrhea: the current state of the problem]. *Klinicheskaya infektologiya i parazitologiya – Clinical Infectology and Parasitology, 3,* 102-119 [in Russian].

13. Hlushkevych, H.I., Tomchuk, V.V., & Zherebko, N.M. (2000). Bakteriolohichnyi kontrol pozhyvnykh seredovyshch [Bacteriological control of nutrient media: Information Sheet]. *Informatsiinyi lyst – Information Mail,* 12 [in Ukrainian].

14. Znamenskiy, V.A., Dekhtyar, V.N., & Kuzminskiy, S.N. (1986). *Mikrobiologicheskaya diagnostika disbakteriozov. Metodicheskie rekomendatsii. [Microbiological diagnosis of dysbiosis: guidelines].* Kyiv [in Russian].

15. Gaziumarova, L.D., Titov, L.P., & Klyuyko, N.L. (2010). *Bakteriologicheskaya diagnostika disbakterioza kishechnika. Instruktsiya po primeneniyu [Bacteriological diagnosis of intestinal dysbiosis: instructions for use].* Minsk [in Russian].

16. Baranovskiy, A.Yu., & Kondrashina, E.A. (2008). *Disbakterioz kishechnika. 3-e izd. [Intestinal dysbiosis. 3rd ed.].* Saint-Petersburg: Piter [in Russian].

17. Lebedkova, N.V. (2003). Biologicheskaya kharakteristika izolyatov Clostridium difficile i razrabotka sistem dlya kultivirovaniya strogikh anaerobov [Biological characteristics of Clostridium difficile isolates and the development of systems for the cultivation of strict anaerobes]. *Extended abstract of Candidate's thesis.* Minsk [in Russian].

18. Volyanskiy, Yu.L., Chernyavskiy, V.I., Biryukova, S.V., & Maryushchenko, A.M. (2013). Patogennye klostridii. Mikrobiologicheskaya diagnostika klostridialnykh infektsiy. *Metodicheskie rekomendatsii dlya vrachey i internov po spetsialnosti "Bakteriologiya" [Methodological recommendations for doctors and interns in the specialty "Bacteriology"].* Kharkiv [in Russian].

19. Lapach, S.M., Chubenko, A.V., & Babich, P.N. (2001). *Statisticheskie metody v mediko-biologicheskikh issledovaniyakh s ispolzovaniem Excel [Statistical methods in biomedical research using Excel].* Kyiv: "MORION" [in Russian].

20. Glants, S. (1998). *Mediko-biologicheskaya statistika [Biomedical statistics].* Moscow: Praktika [in Russian].

21. Britton, R.A., & Young, V.B. (2012). Interaction between the intestinal microbiota and host in Clostridium difficile colonization resistance. *Trends Microbiol.*, 20 (7), 313-319. doi: 10.1016/j.tim.2012.04.001.

22. Sokol, H., Jegou, S., & McQuitty, C. (2018). Specificities of the intestinal microbiota in patients with inflammatory bowel disease and Clostridium difficile infection. *Gut Microbes.*, 9 (1), 55-60. doi: 10.1080/19490976.2017.1361092.

ХАРАКТЕРИСТИКА СОСТАВА МИКРОФЛОРЫ КИШЕЧНИКА У БОЛЬНЫХ С ДИАРЕЕЙ И ПОДОЗРЕНИЕМ НА *CLOSTRIDIUM DIFFICILE*-ИНФЕКЦИЮ

©И. А. Воронкина, С. С. Кхедер, А. М. Марющенко, В. Ф. Дьяченко, Г. П. Тараненко, П. В. Оветчин

Государственное учреждение «Институт микробиологи и иммунологии имени И. И. Мечникова Национальной академии медицинских наук Украины», г. Харьков

РЕЗЮМЕ. Качественный и количественный состав микрофлоры кишечника в желудочно-кишечном тракте может меняться в зависимости от разных причин. При этом могут возникать воспалительные процессы в слизис-

той оболочке, которые будут способствовать развитию такой эндогенной инфекции, как *Clostridium difficile*-инфекция (CDI).

Цель – изучить характер изменений качественного и количественного состава микрофлоры кишечника у пациентов с подозрением на CDI.

Материал и методы. Бактериологическим методом проведено исследование образцов фекалий, отобранных от 72 пациентов с клиническими проявлениями CDI. Полученные пробы были исследованы на дисбактериоз и наличие возбудителя CDI.

Результаты. При обследовании больных с диареей и подозрением на CDI возбудитель *C. difficile* был обнаружен у 9,7 %. Дисбиотические нарушения состояния микрофлоры кишечника выявлены у всех пациентов. Характер изменений в обеих группах соответствовал 2 и 3 степеням тяжести. У пациентов с выделенной *C. difficile* выявлено уменьшение количества представителей нормобиоценоза в 10 и более раз, преобладание кокковых форм в общем количестве микробов и увеличение количества грибов рода *Candida*. В схемы коррекции состояния микрофлоры кишечника у больных с диареей, в фекалиях которых выделено *C. difficile*, целесообразно включать препараты, направленые на элиминацию возбудителя (метронидазол, фидаксомицин и др.) или проводить трансплантацию фекальной микробиоты.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: дисбактериоз кишечника; псевдомембранозный колит; *Clostridium difficile*-инфекция; бактериологическая диагностика.

CHARACTERISTICS OF THE INTESTINAL MICROFLORA COMPOSITION IN PATIENTS WITH DIARRHEA AND POSSIBLE *CLOSTRIDIUM DIFFICILE* INFECTION

©I. A. Voronkina, S. S. Kheder, A. M. Maryutshenko, V. F. Dyashenko, G. P. Taranenko, P. V. Ovetchyn

I. Mechnykov Institute of Microbiology and Immunology, National Academy of Medical Sciences of Ukraine

SUMMARY. The qualitative and quantitative composition of the microflora in the gastrointestinal tract may vary depending on various factors. However, inflammatory processes that will foster the development of such an endogenous infection as Clostridium difficile infection (CDI) may take place in the mucous membrane.

The aim – to study the nature of changes in the qualitative and quantitative composition of the intestinal microflora in patients with possible CDI.

Materials and Methods. The bacteriological method has been used to examine samples of biotic material (faeces) received from 73 patients with clinical manifestations of CDI. The given samples have been subjected to dysbacteriosis examination and the presence of a CDI pathogen tests.

Results. The pathogen of *C. difficile* was isolated in 9.7 % of patients with diarrhea and possible CDI during the examination. Dysbiotic disorders of the intestinal microflora were detected in all patients without exception. The character of microflora abnormalities in both groups corresponded to grade 2 and 3 in severity. The patients with *C. difficile* showed a reduced number of representatives of normobiocenosis 10 times or more, the prevalence of coccal forms in the total number of microbes and an increase of Candida fungi in the number. It is recommended to include drugs aimed at eliminating the pathogen (metronidazole, fidaxomycin, etc.) or to carry out fecal microbiota transplantation in the schemes of correction of the intestinal microflora in patients with diarrhea in case if *C. difficile* is detected in their faeces.

KEY WORDS: intestinal dysbacteriosis; pseudomembranous colitis; *Clostridium difficile infection*; bacteriological diagnosis.

Отримано 07.10.2019