

ОДЕСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І. І. МЕЧНИКОВА

(повне найменування закладу вищої освіти)

Біологічний факультет

(повне найменування факультету)

Кафедра мікробіології, вірусології та біотехнології

(повна назва кафедри)

## Кваліфікаційна робота

на здобуття ступеня вищої освіти «магістр»

**«Поширеність *Clostridium difficile* у пацієнтів з синдромом подразненого  
кишківника»**

**«Prevalence of *Clostridium difficile* in patients with irritable bowel  
syndrome»**

Виконала: здобувачка заочної форми навчання  
спеціальності 091 Біологія

Освітня програма Мікробіологія і вірусологія

Одобеску Юлія Олександрівна

Керівник к.б.н., доцент Зінченко О.Ю. \_\_\_\_\_

Рецензент к.б.н., доцент Чернадчук С.С.

Рекомендовано до захисту:  
Протокол засідання кафедри

№ \_\_\_\_\_ від \_\_\_\_\_ . \_\_\_\_\_ . 20\_\_\_\_ р.

Завідувач(ка) кафедри

\_\_\_\_\_  
(підпис)

\_\_\_\_\_  
(прізвище, ім'я)

Захищено на засіданні ЕК № \_\_\_\_\_  
протокол № \_\_ від \_\_\_\_\_ . \_\_\_\_\_ . 20\_\_\_\_ р.

Оцінка \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_  
(за національною шкалою/шкалою ECTS/ бали)

Голова ЕК

\_\_\_\_\_  
(підпис)

\_\_\_\_\_  
(прізвище, ім'я)

Одеса 2022

## АНОТАЦІЯ

Проведено дослідження поширеності інфекції *C. difficile* у пацієнтів з симптомами гострої діареї за гендерними та віковими особливостями, сезонністю, встановлено частоту виявлення токсинів та визначено особливості поширення варіантів *C. difficile*, здатних до продукування різних токсинів, в залежності від віку та статі. Встановлено, що в структурі гострих діарей частка клостридійних становить приблизно третину. Серед хворих загалом переважають жінки, однак частка інфікованих жінок відносно числа обстежених приблизно однакова з цим показником для чоловіків. Захворювання не мало вираженої сезонності, було найбільш поширеним у літніх осіб (вік понад 65 років) та найчастіше викликалося штамами *C. difficile*, здатними до продукування токсинів А та В одночасно.

Дипломну роботу викладено на 53 сторінках друкованого тексту, вона включає 3 таблиці і 16 рисунків. У роботі наведено посилання на 56 публікацій: 21 кирилицею та 35 латиницею.

**Ключові слова:** *Clostridium difficile*, А, В та С токсини, антибіотик-асоційована діарея

A study of the prevalence of *C. difficile* infection in patients with symptoms of acute diarrhea by gender and age, seasonality, the frequency of detection of toxins has been established and the peculiarities of distribution of *C. difficile* variants, capable to produce different toxins, depending on age and sex, have been determined. The share of clostridium-associated infection in the structure of all acute diarrheas was about one third. The prevalence of female gender among infected patients was detected, but the share of infected female patients among the number of observed ones was equal to this indicator for male patients. There was no seasonal distribution of infection, age group over 65 was the most vulnerable and the strains of *C. difficile* producing binary toxin (A+B) were the most widespread.

Diploma thesis is expounded on 53 pages, it contains 3 tables and 16 figures. Reference list contains 56 literature sources (21 Cyrillic and 35 Latin).

**Key words:** *Clostridium difficile*, A, B and C toxins, antibiotic-associated diarrhea.

## ЗМІСТ

ВСТУП.....	5
1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.....	8
1.1. Загальна характеристика бактерій роду <i>Clostridium</i> .....	8
1.2. Характеристика патогенних клостридій.....	9
1.3. Вид <i>Clostridium difficile</i> та антибіотик-асоційовані інфекції.....	17
2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	24
2.1. Матеріали дослідження.....	25
2.2. Методика дослідження .....	28
3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ.....	31
УЗАГАЛЬНЕННЯ.....	44
ВИСНОВКИ.....	46
СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ.....	47

## **ПРИЙНЯТІ СКОРОЧЕННЯ ТА АБРЕВІАТУРИ**

ААД – антибіотик-асоційована діарея

ААК – антибіотико-асоційований коліт

ППІ – інгібітор протонної помпи

КДАІ – клостридіум-дифциле асоційована інфекція

ПМК – псевдомембранозний коліт

ШКТ – шлунково-кишковий тракт

## ВСТУП

Відкриття антибіотиків на початку ХХ століття дозволило врятувати мільйони людських життів і практично нівелювати смертність від цілого ряду інфекційних захворювань (дизентерії, пневмонії, ранових інфекцій та ін.), але застосування цих препаратів призвело, крім розвитку стійкості до них бактерій, до активації мікроорганізмів, які раніше не зустрічалися серед основних збудників. До таких інфекційних агентів належить *Clostridium difficile*. *C. difficile* – грампозитивні анаеробні спороутворюючі паличкоподібні бактерії, поширені в зовнішньому середовищі, особливо у ґрунті. *C. difficile* присутня у кишківнику приблизно половини новонароджених, у 3-15% здорових дітей старше 2 років та дорослих [Пішака та ін., 2004]

Етіологічне значення специфічного збудника – *Clostridium difficile* – в патогенезі антибіотик-асоційованого коліту (АА-коліту) було встановлено у 70-х роках ХХ століття [Москалюк та ін., 2018]. Кількість *C. difficile* у складі нормальної мікробіоти кишечника здорової дорослої людини не перевищує 0,01-0,001%. Однак, при прийомі антибіотиків остання цифра може зростати до 15-40% [Захаренко, 2017]. Токсигенні штами *C. difficile* продукують сильні токсини – ентеротоксин (токсин А) та цитотоксин (токсин В), які пошкоджують стінку кишечника і зумовлюють клінічні прояви захворювання. Тому збудник вважається патогеном, що становить загрозу здоров'ю людини і потребує негайного та ефективного реагування на нього [Зінчук, 2014].

Інфекція, викликана *C. difficile* на тлі прийому антибіотиків, виникає у 3,2-29,0% пацієнтів і може проявлятися як у легкій формі, так і мати тяжкий перебіг. Термінологічно інфекція, спричинена *C. difficile*, залежно від тяжкості клінічного перебігу може визначатися як *C. difficile*-асоційована діарея, *C. difficile*-асоційований коліт та псевдомембранозний коліт (pseudomembranous colitis), який є найбільш відомим варіантом цієї клостридіальної інфекції. Водночас, псевдомембранозний коліт (ПМК) є одним із найтяжчих ускладнень антибіотикотерапії – при відсутності

лікування летальність становить 15-30 % [Cochen at al., 2009], а у пацієнтів старшого віку та при фульмінантних і ускладнених формах перебігу захворювання сягає 40-60 % і навіть 71 % при вимушеному хірургічному лікуванні [Crobach at al., 2018]. Саме ці тяжкі та ускладнені форми *C.difficile*-асоційованого коліту в більшості випадків зумовлюють значні діагностично-лікувальні труднощі і є причинами несприятливих результатів лікування [Crobach at al., 2018].

На сьогодні інфекції, викликані *C. difficile* в результаті антибіотикотерапії, є досить поширеним явищем у багатьох країнах світу (Північна Америка, Західна та Східна Європа, Азія). В Україні в останні роки спостерігають зростання поширеності цієї інфекції [Воронкіна та ін., 2017].

З огляду на досить значні складності у диференціюванні захворювань, викликаних *C. difficile*, від інших інфекцій кишківника, велику кількість ускладнень та значну летальність (до 22% при симптоматичній інфекції) [Воронкіна та ін., 2017]

Враховуючи відсутність до 2022 року ефективних механізмів державного регулювання вживання антибіотиків населенням, проблема *C. difficile*-інфекцій для України є вкрай важливою та вимагає пильної уваги. Крім того, в умовах війни виникнення та поширення гострих кишкових інфекцій, в тому числі, викликаних клостридіями, становить особливу загрозу [Щотижневик «Аптека», 2022].

У зв'язку з викладеним вище **метою** роботи було дослідження поширеності *Clostridium difficile* у пацієнтів з синдромом подразненого кишківника на прикладі мешканців м. Одеси та Одеської області.

У відповідності до мети було сформульовано наступні задачі:

1. встановити поширеність інфекції *C. difficile* у пацієнтів з симптомами гострої діареї,
2. визначити гендерні та вікові особливості поширення інфекції;
3. прослідкувати сезонну динаміку захворювання;

4. встановити частоту виявлення токсинів А та В *C. difficile* (ентеротоксинів) та їх комбінації у зразках пацієнтів.
5. Визначити особливості поширення варіантів *C. difficile*, здатних до продукування різних токсинів, в залежності від віку та статі.

*Об'єкт дослідження* – антибіотик-асоційовані коліти, викликані *C. difficile*

*Предмет дослідження* – частота виявлення токсигенних варіантів *C. difficile* у пацієнтів з синдромом подразненого кишківника.

## ВИСНОВКИ

1. Частота виявлення інфекції, викликаной *C. difficile*, у пацієнтів з синдромом подразненого кишківника, що мали симптоми гострої діареї, склала 32,1%.
2. Частота виявлення *C. difficile*-асоційованої діареї окремо у групах пацієнтів жіночої та чоловічої статі була приблизно однаковою – 32,3% та 31,9% відповідно (частка інфікованих від числа обстежених відповідної статі). Однак серед загального числа виявлених випадків захворювання частка жінок складала 62,5%.
3. У дорослих пацієнтів захворюваність зростала з віком та була найвищою у групі літніх людей віком понад 65 років (36,9%). Серед дітей віком від народження до 10 років випадків захворювання не зафіксовано, за винятком вікової групи дітей дошкільного віку, в якій частота виявлення склала 40%.
4. Не виявлено сезонних закономірностей у поширенні інфекції.
5. Як у жінок, так і у чоловіків найчастіше зустрічалися варіанти збудника, здатні до одночасної продукції токсинів А та В (бінарного токсину) – серед усіх виявлених випадків захворювання 43,8% складала інфекції у пацієнтів жіночої статі, викликані *C. difficile* з бінарним токсином, та 25,0% складала відповідні інфекції у пацієнтів чоловічої статі.
6. У пацієнтів обох статей штами *C. difficile*, здатні до вироблення токсину А, зустрічалися лише у дорослих старше 19 років. Така ж закономірність була характерною для поширення варіантів з токсином В серед чоловіків, однак у жінок ці варіанти виявлялися, починаючи з підліткового віку і старше. Частота виявлення варіантів збудника з бінарним токсином зростала з віком у пацієнтів чоловічої статі і знижувалася у жіночій.



## СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Біологія: Підручник для студентів медичних спеціальностей ВУЗів III-IV рівнів акредитації / Кол. авт.; За ред. проф. В.П. Пішака та проф. Ю.І.Бажори. – Вінниця: Нова книга, 2004. – 656 с.
2. Воронкіна І.А., Городницька Н.І., Марющенко А.М., Кхедер С.С. Стан проблеми захворювань, пов'язаних з *C. difficile* інфекцією, в Україні та світі // Вісник проблем біології і медицини. – 2017 –№137. – С. 25-28.
3. Голубовська О.А. (ред.). Інфекційні хвороби: підручник. – К.: ВСВ «Медицина», 2012. – 728 с.
4. Дикий І.Л., Холупяк І.Ю., Шевельова Н.Ю., Стегній М.Ю. Мікробіологія. – К.: ВД "Професіонал", 2004. – 623 с.
5. Єрохін І.А., Шляпников С.А., Лебедев В.Ф., Іванов Г.А. Псевдомембранозний коліт і «кишковий сепсис» – наслідок дисбактеріозу, викликаного *Clostridium difficile* // Вісник хірургії ім. І.І. Грекова.–1997–№156.–С.25-28.
6. Захаренко С. М.: Епідеміологічні аспекти *C. Difficile*-інфекції/ С. М.Захаренко//Експериментальна та клінічна гастроентерологія. –2017–№139.–С.75-84.
7. Зінчук О. М. Сучасні аспекти *Clostridium difficile*-інфекції / О. М. Зінчук, О. О. Зубач, Г. Л. Столяр // Інфекційні хвороби. - 2014. - № 3. - С. 5-12.
8. Іванко О.І. Клінічні аспекти антибіотико-асоційованої діареї у дітей/О.І. Іванко, М.В. Пасера // Сучасна педіатрія.- 2014. - № 58. - С. 101-106.
9. Клініко-епідеміологічні властивості ботулізму як класичного харчового отруєння [Текст] /В. І. Слободкін, А. О. Сенатова, Т. Ф. Харченко, В. М. Левицька //Проблеми харчування. – 2015. – № 2. – С.19-24.
10. Козярін І.П., Слободкін В.І. Невідкладна допомога при харчових отруєннях. – с.705- 723. В кн.. Медицина невідкладних станів: Швидка і

невідкладна медична допомога: підручник / за ред.. проф. І.С.Зозулі. – К.: ВСВ «Медицина», 2012. – 728 с.

11. Медична мікробіологія, вірусологія та імунологія»: підручник для студ ВНЗ / уклад.: Т. В. Андріанова, В. В. Бобир, О. В. Виноград та ін.; за ред В. П. Широбокова. –Вінниця : Нова книга, 2011. 951с.

12. Мейер, Л., Еспіноза Р., Куера Р. Зараження від *Clostridium difficile*: епідеміологічні, діагностичні та терапевтичні стратегії // Медичний журнал Los Condes Clinic. –2014.–№5.–С.473-474.

13. Мікробіологія з основами імунології: підручник / уклад.: В. В. Данилейченко, Й. М. Федечко, О. П. Корнійчук, І. І. Солонинко; за заг. ред. В. В. Данилейченко, Й. М. Федечко. – К. : Медицина, 2019. 376 с.

14. Мікробіологія, вірусологія та імунологія в запитаннях та відповідях; за заг. ред.: В. П. Широбокова, С. І. Климнюка. – Тернопіль : Укрмедкнига, 2019. 340 с.

15. Москалюк В. Д. Антибіотико-асоційована діарея, що зумовлена *Clostridium difficile* / В. Д. Москалюк, І. В. Рудан, І. В. Баланюк, О. В. Мироник, М. О. Андрушак // Zaporozhye medical journal. – 2018. –№. 5. – С. 729-733.

16. Нетрусов А.І. Практикум з мікробіології .- М.: Академія, 2005. - 600 с.

17. Пивоваров Ю.П., Королин В.В. Санітарно-значимі мікроорганізми. -М.: Видавництво ІКАР, 2000. - 268 с.

18. Прикуда Н.М., Задорожний А.М., Ригель С.А., Вовчик О.І., Зінчук О.М. Сучасний стан проблеми антибіотикоасоційованих діарей у дорослих. Матеріали науково-практичної конференції “Фармакотерапія при інфекційних захворюваннях”, 6–7 квітня 2017 р., м. Київ. С. 72–73.

19. Романкевич І.В. Інфекція, спричинена *Clostridium difficile*, як важлива причина антибіотикасоційованої діареї у дорослих та дітей// Modern pediatrics. – 2020. – №107. – С. 59-66.

20. Руденко Д. – Режим доступу: <https://telegraf.com.ua/nauka/2961486.html> (дата звернення: 03.12.2022).
21. Тумак І. Діарея і псевдомембранозний коліт, зумовлені Clostridium // Медицина світу. Медичний портал. – 2010. – №6. – С. 62-74.
22. Ananthakrishnan A.N. Detecting and treating Clostridium difficile infections in patients with inflammatory bowel disease // Gastroenterol Clin North Am. – 2012. – Vol. 41, №2. – P.39-53.
23. Bakken J.S. Fecal bacteriotherapy for recurrent Clostridium difficile infection // J. Anaerobe. – 2009. – Vol.15. – P. 285–289.
24. Balassiano I.T., Santos-Filho J., Barros de Oliveira M.P. et al. An outbreak case of Clostridium difficile-associated diarrhea among elderly inpatients of an intensive care unit of a tertiary hospital in Rio de Janeiro, Brasil // J. Diagn. Microbiol. Infect. Dis.– 2010.– Vol. 68. – P. 449–455.
25. Benedek O, Podbielski A, Warnke P. Laboratory experience with the liaison analyzer in the diagnosis of Clostridium difficile-associated diarrhea // Eur J Microbiol Immunol. – 2016. – Vol. 6, № 3. – P.215-218.
26. Campbell K.A., Phillips M.S., Stachel A., Bosco J.A III, Mehta S.A. Incidence and risk factors for hospital-acquired Clostridium difficile infection among inpatients in an orthopaedic tertiary care hospital // J. Hosp. Infect.– 2013. – Vol.83, №2. – P.146–149.
27. Cohen M.B. Clostridium difficile infections: emerging epydemiology and new treatments / M.B. Cohen // J. Pediatr.Gastroenterol. Nutr. - 2009. - Vol. 48. - P. 63-65.
28. S. Matsuki, E. Ozaki, M. Shozu Colonization by Clostridium difficile of neonates in a hospital and infants and children in three day-care facilities of Kanazawa, Japan // Int. Microbiol. - 2005. - Vol. 8. - P. 43-48.
29. Crobach M., Vernon J.J., Loo V.G., Kong L.Y., Pechine S., Wilcox M.H., Kuijper E.J. Understanding Clostridium difficile colonization// Clin. Microbiol. Rev. – 2018. – Vol. 31, №2. doi: 10.1128/CMR.00021-17.

30. Debast S.B., Bauer M.P., Kuijper E.J.; European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases: update of the treatment guidance document for *Clostridium difficile* infection // *Clin. Microbiol. Infect.*—2014.—vol. 20, № 2.— P.21–26.
31. Dmitrieva N.V., Klyuchnikova I.A. Shilnikova I.I. *Clostridium difficile*-associated diarrhea // *Sibirskiy onkologicheskiy zhurnal.* – 2014.—Vol. 1, №61. – P.46-53.
32. ECDC. Laboratory procedures for diagnosis and typing of human *Clostridium difficile* infection. Stockholm: ECDC, 2018. – 47 p.
33. Esteban-Vasallo M.D., S.Naval Pellicer, Domínguez-Berjón M.F., M.Cantero Caballero, Á.Asensio, G.Saravia, J.Astray-Mochales // *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* – 2016. – Vol.6, №35. – P. 37-44.
34. Eze P. Age and gender differences in *Clostridium difficile*-related hospitalization trends in Madrid (Spain) over a 12-year period. Risk factors for *Clostridium difficile* infections — an overview of the evidence base and challenges in data synthesis // *J. Glob. Health.*— 2017.— Vol.7.— P.75-81.
35. Gerding D.N., Johnson S, Rupnik M, Aktories K.*Clostridium difficile* binary toxin CDT: Mechanism, epidemiology, and potential clinical importance // *Gut Microbes.* – 2014.— Vol. 5.— P.1-13.
36. Gupta A, Khanna S. Community-acquired *Clostridium difficile* infection: an increasing public health threat // *Infect Drug Resist.* – 2014. —№7. – P.63-72.
37. Kalliomaki M., Kirjavainen P., Eerola E., Kero P., Salminen S., Isolauri E. Distinct patterns of neonatal gut microflora in infants in whom atopy was and was not developing // *J. All. Clin. Immunol.* – 2001. –Vol. 1, №107. – P. 129-134.
38. Karen C.C. and John G. Barlett “Biology of *Clostridium difficile*: Implications for Epidemiology and Diagnosis” // *Annual Review of Microbiology.* – 2011. – Vol. 65. – P. 501-521.

39. Karpov I.A, Gorbich Y.L., Solovey N.V. Infections caused by *Clostridium difficile*: approaches to diagnosis and treatment Minsk. – 2014.– P.35.
40. Kee V.R. *Clostridium difficile* infection in older adults: a review and update on its management // *American J. Geriatric. Pharmacotherapy.* – 2012. –Vol. 1, №10. – P. 14–24
41. Kerrie E., Else P., Charlett A. Comparison of nine commercially available *Clostridium difficile* toxin detection assays, a real-time PCR assay for *C. difficile* tcdB, and a Glutamate dehydrogenase detection assay to cytotoxin testing and cytotoxigenic culture methods // *Journal of Clinical Microbiology*– 2009. – Vol.47.\_– P. 3211-3217.
42. Leffler D.A. Treatment of *Clostridium difficile*-associated disease / D.A. Leffler, J.T. Lamont // *Gastroenterology.* - 2009. - Vol. 136. - P. 1899-1912.
43. Lessa F.C., Gould C.V., McDonald L.C. Current status of *Clostridium difficile* infection epidemiology // *Clin. Infect. Dis.*, 2012. - Vol. 55, №2. – P. 65–70.
44. Lysuk Ju.S. Pseudomembranosniy kolit – actualnaya problema suchasnoy antibiotikoterapii / Ju.S. Lysuk, I.A. Bokotey, O.I. Zanik, V.P. Andruschenko // *Kcharkivska hirurgichna shkola.* — 2012. — Vol.53.– P. 89-92.
45. *Medical Microbiology*, 18th Ed. with student consult online access / D. Greenwood, R. C. B. Slake, M. Barer, L. Irving. – Churchill Livingstone, 2012. – 794 p.
46. Merrigan M. Hypervirulent *Clostridium difficile* strains: Adherence, toxin production and sporulation / M. Merrigan // *Microbiology and Immunology.* - 2010.
47. Murray P.R. Human microbiota. In: Borriello S.P., Murray P.R., Funke G, eds. *Topley and Wilson`s Microbiology and Microbial Infections: Bacteriology.* 10th edition. London: HodderArnold, 2014.

48. Rapid Test Vitassay – Режим доступа: IUE-7455023-Ed02-Vitassay-Clostridium-difficile-Toxin-AB.pdf: 22.11.2022). – Загол. з екрану.
49. Rupnik M. Clostridium difficile infection: New developments in epidemiology and pathogenesis / M. Rupnik, M.H. Wilcox, D. N. Gerding // Nat. Rev. Microbiology. - 2009. - Vol. 7. - P. 526-536.
50. Solovey N.V. C.difficile kak osnovnoy vzbuditel antibiotiko-associirovannich diarey: sovremennoe sostoyanie problemy / N.V. Solovey, I.A. Karpov, O.Ch. Glas, O.A. Kotovich // Clinicheskaya infectologia i parazitologia. – 2013. – Vol.3.– P.102-119.
51. Tiffany Hink A systematic evaluation of metod to Optimize culture-based recovery of Clostridium difficile from stool specimens/ Tiffany Hink, Carey-Ann D. Burnham, Eric Dubberke // Anaerobe. - 2013.–№ 19. - P.39-43.
52. Viswanathan V.K. Clostridium difficile infection: An overview of the disease and its pathogenesis, epidem iology and interventions / V.K. Viswanathan, M.J. Mallozzi, G. Vedantam // Gut Microbes. - 2010. - Vol.1. - P. 234-242.
53. Warny M, Pepin J, Fang A, Killgore G, Thompson A, Brazier J, Frost E, McDonald LC. Toxin production by an emerging strain of Clostridium difficile associated with outbreaks of severe disease in North America and Europe. Lancet. –2005.–Vol.366.–P.79-84.
54. Wiström J. Frequency of antibiotic-associated diarrhoea in 2462 antibiotic-treated hospitalized patients: a prospective study / S.R.Norrby, E.B.Myhre//Antimicrob Chemother. –2001–Vol.47.P.43-50.
55. Wren M. W. D. Laboratory diagnosis of Clostridium difficile infection. An evaluation of test for faecal toxin, glutamate dehydrogenase, lactoferrin and toxigenic culture in the diagnostic laboratory // Sivapalan M., Kinson R., Shetty N.P.//British Journal of Biomedical Science. – 2009. – Vol. 66.– P. 1-5.

56. Your risk of C. diff. – Режим доступу:  
<https://www.cdc.gov/cdiff/risk.html> (дата звернення: 22.11.2022). – Загол. з екрану.