

КЛИНИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ НАЦИОНАЛЬНОЙ АССОЦИАЦИИ СПЕЦИАЛИСТОВ ПО КОНТРОЛЮ ИНФЕКЦИЙ, СВЯЗАННЫХ С ОКАЗАНИЕМ МЕДИЦИНСКОЙ ПОМОЩИ, И ОБЩЕРОССИЙСКОЙ ОБЩЕСТВЕННОЙ НЕКОММЕРЧЕСКОЙ ОРГАНИЗАЦИИ «АССОЦИАЦИЯ КОЛОПРОКТОЛОГОВ РОССИИ» ПО ДИАГНОСТИКЕ, ЛЕЧЕНИЮ И ПРОФИЛАКТИКЕ CLOSTRIDIUM DIFFICILE-АССОЦИИРОВАННОЙ ДИАРЕИ (CDI)

Шелыгин Ю.А.¹, Алёшкин В.А.², Сухина М.А.¹, Миронов А.Ю.²,
Брико Н.И.³, Козлов Р.С.^{5,6}, Зверев В.В.⁷, Ачкасов С.И.¹, Ковалишина О.В.⁴,
Селькова Е.П.², Сафин А.Л.¹, Гренкова Т.А.², Халиф И.Л.¹, Фролов С.А.¹,
Кашников В.Н.¹, Сушков О.И.¹

- ¹ ФГБУ «ГНЦК им. А.Н.Рыжих» Минздрава России, г. Москва
- ² ФБУН «МНИЭМ им. Г.Н.Габричевского» Роспотребнадзора, г. Москва
- ³ ФГАОУ ВО Сеченовский Университет Минздрава России, г. Москва
- ⁴ НИИ профилактической медицины НижГМА
- ⁵ НИИ антимикробной химиотерапии, г. Смоленск
- ⁶ ФГБОУ ВО «Смоленский государственный медицинский университет»
Минздрава России, г. Смоленск
- ⁷ ФГБНУ НИИВС им. И.И.Мечникова, г. Москва

ЦЕЛЬ ПУБЛИКАЦИИ. Познакомить практикующих врачей общей практики, терапевтов, гастроэнтерологов, инфекционистов, педиатров, бактериологов, врачей КДЛ, клинических эпидемиологов, врачей различных специальностей, преподавателей, аспирантов, ординаторов и студентов медицинских образовательных учреждений с новейшими рекомендациями НАСКИ и Ассоциации колопроктологов России, основанными на принципах доказательной медицины, по диагностике, лечению и профилактике Clostridium difficile-ассоциированной диареи (CDI).

ОСНОВНЫЕ ПОЛОЖЕНИЯ. В настоящих клинических рекомендациях изложен трёхэтапный алгоритм исследования Clostridium difficile-ассоциированной инфекции (CDI), которая является одной из основных причин нозокомиальной диареи. Ведущая роль в постановке диагноза принадлежит индикации возбудителя и детекции его токсинов. Трёхэтапный алгоритм исследования предназначен для быстрого и полного лабораторного выявления антибиотико-ассоциированных диарей, скрининга пациентов, поступающих в отделения эпидемиологического риска. Использование трёхэтапного алгоритма лабораторного исследования обеспечит правильную и своевременную диагностику, локальный микробиологический мониторинг и эпидемиологический надзор за CDI.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ. CDI характеризуется развитием диарейного синдрома, при этом наблюдаются значительные изменения в водно-электролитном обмене. При отсутствии рациональной антибактериальной терапии CDI может прогрессировать, вызывая обширные воспалительные изменения в стенке толстой кишки с поверхностным некрозом слизистой оболочки и образованием «псевдомембран» (экзудативных бляшек), и сопровождается риском развития токсического мегаколон, перфорации стенки кишки, сепсиса.

[Ключевые слова: Clostridium difficile, C.Difficile-ассоциированная инфекция, глутаматдегидрогеназа, токсин А, токсин В, бинарный токсин, антибиотик-ассоциированная диарея, чувствительность, специфичность, трех-ступенчатый алгоритм диагностики]

CLINICAL RECOMMENDATIONS OF THE NATIONAL ASSOCIATION OF SPECIALISTS FOR THE HEALTHCARE-RELATED INFECTIONS CONTROL AND THE RUSSIAN ASSOCIATION OF COLOPROCTOLOGY ON DIAGNOSIS, TREATMENT AND PROPHYLAXIS OF CLOSTRIDIUM DIFFICILE-ASSOCIATED DIARRHEA (CDI)

Shelygin Yu.A.¹, Aleshkin V.A.², Sukhina M.A.¹, Mironov A.Yu.², Briko N.I.³, Kozlov R.S.^{5,6}, Zverev V.V.⁷, Achkasov S.I.¹, Kovalishena O.V.⁴, Selkova E.P.², Safin A.L.¹, Grenkova T.A.², Khalif I.L.¹, Frolov S.A.¹, Kashnikov V.N.¹, Sushkov O.I.¹

¹ State Scientific Centre of Coloproctology

² Gabrichevsky Research Institute of Epidemiology

³ Federal State Budgetary Institution of Education of Higher Training «I.M. Sechenov First Moscow State Medical University» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation

⁴ Federal State Budgetary Institution of Education of Higher Training «Nizhny Novgorod State Medical Academy» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation

⁵ Scientific Center of the Ministry of Health of the Russian Federation of Monitoring Antimicrobial Resistance

⁶ Smolensk State Medical University, Smolensk, Russia

⁷ Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Russian Academy of Medical Sciences

[Key words: *Clostridium difficile*, *C.difficile* associated infection, glutamatedehydrogenase; toxin A; toxin B; binary toxin; antibiotic-associated diarrhea; sensitivity; specificity, three-step diagnostic algorithm]

Адрес для переписки: Сухина Марина Алексеевна, ФГБУ «ГНЦК им. А.Н.Рыжих» Минздрава России, ул. Саляма Адиля, д. 2, Москва, 123423; e-mail: marinamari272015@gmail.com

Термины и определения

Clostridium difficile-ассоциированная инфекция – заболевание, развивающееся при нарушении кишечного микробиома с избыточной колонизацией *Clostridium (Clostridioides) difficile*, токсины которой вызывают воспаление и повреждение преимущественно толстой кишки [1-4].

Псевдомембранозный колит – колит, как правило, вызванный токсигенной *Clostridium (Clostridioides) difficile*, характерным признаком служат фибриновые наложения на слизистой оболочке толстой кишки [7, 86].

Также встречаются термины «клостридиальный псевдоколит» и «антибиотик-ассоциированная диарея».

Этиология и патогенез

Заселение кишечника и пролиферация токсигенных штаммов *Clostridium (Clostridioides) difficile* обуславливает развитие CDI, одной из основных причин нозокомиальной диареи. Патогенез CDI обусловлен нерациональным и бесконтрольным применением антибактериальных препаратов, хирургическими вмешательствами, приёмом препаратов, вызывающих иммунодепрессию, биологическими свойствами самого возбудителя. Ведущими факторами патогенности *C.difficile* являются экзотоксины А (TcdA), В (TcdB) и бинарный токсин. TcdA и TcdB энтеротоксины, действующие на энтероциты кишечника, нарушающие активный цитоскелет, что приводит к воспалению и некрозу слизистой оболочки, потере плотных контактов между клетками и увеличению эпителиаль-

ной проницаемости. Бинарный токсин *C.difficile* риботиша NAP1/BI/027 образует на мембране энтероцита комплекс, который проникает в цитоплазму, нарушает функционирование клетки посредством дезорганизации цитоскелета и ведёт к её гибели [67], а также усиливает адгезию и колонизацию *C.difficile* [34, 44].

При отсутствии рациональной антибактериальной терапии, направленной на иррадикацию токсигенных штаммов *C.difficile*, CDI может прогрессировать и вызывать обширные воспалительные изменения в стенке толстой кишки, характеризующиеся поверхностным некрозом слизистой оболочки с образованием «псевдомембран» (экзудативных бляшек), в некоторых случаях может сопровождаться токсическим мегаколон, перфорацией стенки кишки, сепсисом. Во многих странах ведется мониторинг распространённости CDI [86]. В США из 500 млн. пациентов, обратившихся в систему неотложной медицинской помощи с 2006 по 2010 год, у 500 тыс. человек установлен диагноз CDI [39,76]. За этот же период в США отмечено увеличение заболеваемости CDI на 24%, с 34,1 до 42,3 случаев на 100 тыс. населения (p<0,01). Высокий уровень заболеваемости CDI (163,18 случаев на 100 тыс. населения) характерен, преимущественно, для пациентов старше 65 лет [61,62]. С 2003 года в Северной Америке и Европе рост заболеваемости CDI, связывают с появлением высоковирулентного токсигенного штамма – ПЦР риботиша NAP1/027, характеризующегося продукцией белковых токсинов TcdA, TcdB и бинарного

Таблица 1. Уровни достоверности доказательств (УДД)

| УДД | Описание |
|-----|--|
| 1a | Доказательства, полученные в мета-анализах рандомизированных исследований |
| 1b | Доказательства, полученные, как минимум, в одном рандомизированном исследовании |
| 2a | Доказательства, полученные, как минимум, в одном хорошо спланированном контролируемом исследовании без рандомизации |
| 2b | Доказательства, полученные, как минимум, в одном хорошо спланированном полуконтролируемом исследовании другого типа |
| 3 | Доказательства, полученные в хорошо спланированных не экспериментальных исследованиях, таких как сравнительные, корреляционные исследования и описания клинических случаев (случай-контроль) |
| 4 | Доказательства, полученные из отчетов экспертных комиссий, на основе мнений или клинического опыта авторитетных специалистов |

токсина. Появление данного штамма обусловлено мутацией со сдвигом рамки считывания в негативном регуляторе гена, кодирующего токсин-образование, что клинически проявляется развитием тяжёлой диареи и сопровождается высокой летальностью [64]. В 2013 году в Великобритании (население 64,1 млн. человек) от CDI умерло 3 тыс. человек, в США (население 316,5 млн. человек) – 20 тыс. [49]. Расходы на лечение пациентов с CDI составляют более 13 тыс. USD на одного пациента, заболевшего впервые и более 28 тыс. USD на 1 пациента с рецидивирующей CDI [47]. Расходы на лечение и профилактику CDI в США в 2006 году превысили 3,2 млрд. USD [45,61].

Среди здорового населения распространено носительство токсигенных штаммов *C.difficile*. Доля носителей составляет до 15% здоровых взрослых, 84% новорожденных, 57% пожилых людей в домах престарелых [83]. Распространение *C.difficile* в популяции и окружающей среде обусловлено биологическими особенностями возбудителя, защищающими его от оксидативного шока, химических и физических факторов [11,37,66,67].

Учитывая высокое медико-социальное значение заболевания, необходима разработка алгоритма лабораторной диагностики CDI для быстрой индикации патогена и определения его чувствительности к антибактериальным препаратам.

В мире разработан ряд подходов к лабораторной диагностике CDI [13]. Американское и Европейское общества микробиологов рекомендуют двухэтапный подход, включающий скрининговый тест на обнаружение глутаматдегидрогеназы (ГДГ) и определение экзотоксинов TcdA и TcdB серологическим методом [12,24,28]. Опробован трёхэтапный алгоритм лабораторной диагностики CDI [76], включающий индикацию ГДГ в пробах фекалий в иммуноферментном анализе (ИФА), с последующей изоляцией копрокультур *C.difficile* из положительных образцов. Культуральный метод позволяет определять чувствительность *C.difficile* к антибактериальным препаратам и типировать возбудитель.

Методология составления клинических рекомендаций

Рекомендации составлены на основании данных литературы, материалах собственных исследований, электронной базы данных, результатов микробиологических показателей, положенных в основу отбора критериев и их референсных значений. Доказательной базой для рекомендаций являются публикации открытого доступа из ресурса Всемирной организации здравоохранения, публикации, вошедшие в Кокрановскую библиотеку, базы данных MedLine, EuroFlu, ECDC, PubMed, ScienDirect, EMBASE, E-library. Глубина поиска составляет более 10 лет. Для исключения влияния на процесс оценки субъективного фактора каждое исследование оценивалось независимо, по меньшей мере, двумя несвязанными членами рабочей группы. Какие-либо различия в оценках обсуждались группой в полном составе.

Клинические рекомендации отражают мнение экспертов по ключевым вопросам. В клинической практике могут возникать ситуации, выходящие за рамки представленных рекомендаций, поэтому окончательное решение о тактике ведения каждого пациента должен принимать лечащий врач, на котором лежит ответственность за его лечение, а окончательное решение об используемых методах диагностики CDI должен принимать врач-бактериолог, на котором лежит ответственность за результат лабораторной диагностики CDI.

Методы, использованные для оценки качества и силы доказательств: консенсус экспертов; оценка значимости в соответствии с рейтинговой схемой (Табл. 1).

Для достижения консенсуса привлекался независимый эксперт. Настоящие рекомендации в предварительной версии рецензированы независимыми экспертами, которые отметили доступность в понимании представленного материала и доказательств (Табл. 2).

Метод валидации рекомендаций: внешняя экспертная оценка; внутренняя экспертная оценка.

Таблица 2. Уровни убедительности рекомендаций (УУР)

| УУР | Описание |
|-----|--|
| А | По меньшей мере, один мета-анализ, систематический обзор, или РКИ, оцененные, как 1++, напрямую применимые к целевой популяции и демонстрирующие устойчивость результатов или группа доказательств, включающая результаты исследований, оцененные как 1+, напрямую применимые к целевой популяции и демонстрирующие общую устойчивость результатов |
| В | Группа доказательств, включающая результаты исследований, оцененные как 2++, напрямую применимые к целевой популяции и демонстрирующие общую устойчивость результатов или экстраполированные доказательства из исследований, оцененных как 1++ или 1+ |
| С | Группа доказательств, включающая результаты исследований, оцененные, как 2+, напрямую применимые к целевой популяции и демонстрирующие общую устойчивость результатов; или экстраполированные доказательства из исследований, оцененных как 2++ |
| Д | Доказательства уровня 3 или 4 или экстраполированные доказательства из исследований, оцененных как 2+ |

Настоящие рекомендации в предварительной версии рецензированы независимыми экспертами, которых просили прокомментировать, прежде всего то, насколько интерпретация доказательств доступна для понимания и порядок действий выполним в практике. Получены комментарии со стороны врачей многопрофильных и специализированных медицинских организаций, оказывающих медицинскую помощь населению, в отношении доходчивости изложения рекомендаций и их оценки важности рекомендаций, как рабочего инструмента повседневной практики. Комментарии, полученные от экспертов, тщательно систематизировались и обсуждались членами рабочей группы. Каждый пункт анализировался, вносимые в рекомендации изменения регистрировались.

Рекомендации подлежат регулярному пересмотру в соответствии с новыми данными научных исследований в этой области не реже, чем каждые 3 года. Состав Рабочей группы, участвующей в обновлении рекомендаций, определяется руководителями Национальной ассоциации специалистов по контролю инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (НАСКИ) и Общероссийской общественной некоммерческой организацией «Ассоциация колопроктологов России».

Для окончательной редакции и контроля качества клинические рекомендации повторно проанализированы членами рабочей группы, которые пришли к заключению, что все замечания и комментарии экспертов приняты во внимание, риск систематических ошибок при разработке рекомендаций сведён к минимуму, рекомендации не противоречат действующим нормативно-правовым актам, направленным на охрану здоровья человека и санитарно-эпидемиологического благополучия населения (ст. 41 Конституции Российской Федерации, ФЗ от 21. 11. 2011 «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации», ФЗ от 30. 03. 1999 «О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения»).

Кодирование по МКБ 10: A04.7 – Энтероколит, вызванный *Clostridium difficile*; K59.3 – Мегаколон, не классифицированный в других рубриках; K52.8.0 – Колит псевдомембранозный.

Классификация

Выделяют лёгкую, среднетяжёлую, тяжёлую и рецидивирующую форму CDI (81). Лёгкая форма заболевания характеризуется диареей, как единственным клиническим проявлением. Среднетяжелая форма подразумевает диарею и другие клинические проявления (например, боли в животе) без дополнительных симптомов, которые требуют констатации тяжелого или осложненного CDI. Тяжелый CDI – это наличие или развитие во время заболевания гипоальбуминемии (уровень альбумина меньше 30 г/л) и одного из следующих симптомов: 1) уровень лейкоцитов больше 15×10^9 кл/л, и/или 2) боль в животе без критериев осложненного заболевания. Осложненная форма CDI подразумевает развитие одного из следующих симптомов: необходимость пребывания в отделении интенсивной терапии, гипотония с или без необходимости использования вазопрессорной поддержки, гипертермия (выше 38,5 С), вздутие живота, признаки кишечной непроходимости, психические изменения, лейкоцитоз более 35×10^9 кл/л или лейкопения менее 2×10^9 кл/л, уровень сывороточного лактата более 2,2 ммоль/л, а также перфорацию полого органа. Несмотря на то, что критерии не валидированы, именно они были выбраны для определения выраженности CDI, так как они являются предикторами возможности хирургического вмешательства или летального исхода у пациента (81).

При наличии рецидивирующей формы заболевания клиническая симптоматика возобновляется в течение 8 недель после окончания курса терапии.

Жалобы и анамнез

Чаще всего пациенты предъявляют жалобы на жидкий стул более 3 раз в сутки либо увеличе-

ние количества кишечного отделяемого по илеостоме – более 1000 мл/сутки или по колостоме – более 500 мл/сутки, повышение температуры тела до 39°C, метеоризм, редко на тошноту, рвоту, боли в животе спастического характера. Анамнестически у пациентов до развития клинической симптоматики может быть перенесенное хирургическое лечение, применение антибактериальных препаратов, ингибиторов протонной помпы, H₂-блокаторов, противоопухолевых препаратов, наличие воспалительных заболеваний кишечника, сахарного диабета, хронических болезней почек и т.д.

Лабораторная диагностика

В анализах крови могут определяться следующие изменения: анемия, гипопротейнемия, гипоальбуминемия, гипокалиемия, повышение уровня С-реактивного белка, редко увеличение концентрации креатинина.

Для проведения экспресс-диагностики в лаборатории проводят определения ГДГ и токсинов А и В в просветных фекалиях иммунологическими методами. При этом используют диагностический экспресс-тест для качественного определения антигенов *C.difficile*: ГДГ, токсинов А и В. – метод иммунохроматографического анализа (ИХА); диагностические тест-наборы для определения антигенов *C.difficile*: ГДГ, токсинов А и В. – метод ИФА; диагностические тест-наборы для определения антигенов *C.difficile*: ГДГ, токсинов А и В. – иммунохемилюминесцентный анализ; тесты для выявления ГДГ, токсинов А и В, бинарного токсина – ПЦР, в том числе мультиплексная (УЗР А, УДД 1б) [2,9].

Идентификация чистой культуры *C.difficile*

Для культивирования *C.difficile* и определения её чувствительности к антибактериальным препаратам, применяются оптимальные питательные среды и условия. Для определения чувствительности *C.difficile* к антибактериальным препаратам используется метод серийных разведений в агаре или бульоне и коммерческие тест-системы, основанные на определении минимальной подавляющей концентрации (МПК), возможно использование Е-тестов для определения МПК на питательной среде «Агар Уилкинса-Чалдрена» (Wilkins Chalgren Agar). При использовании коммерческих систем для определения МПК необходимо следовать инструкциям производителя. Критерии интерпретации диско-диффузионного метода не установлены. Определение чувствительности к антибактериальным препаратам *C.difficile* должно проводиться в анаэробных условиях (УЗР А, УДД – 1б) [2,9].

Материал для исследования

Материалом для диагностики CDI являются образцы свежих просветных фекалий. Минимальное количество материала, необходимого для трёхэтапной диагностики, составляет 10 мл/г просветных фекалий. Предпочтительно исследовать водянистые испражнения в количестве 10-15 мл. Исследование просветных фекалий необходимо осуществлять у пациентов с диареей. Для эпидемиологического исследования по установлению распространённости токсигенных *C.difficile* в той или иной популяции в качестве биоматериала для исследования можно использовать оформленный стул. При клинической картине непроходимости и подозрении на наличие токсигенных *C.difficile* можно исследовать мазки, взятые со слизистой оболочки толстой кишки. Допускается исследование содержимого просвета или биоптата слизистой оболочки, полученные при эндоскопическом исследовании или во время операции (УЗР А, УДД 1б) [1,74,84].

Просветные фекалии забираются в одноразовый стерильный контейнер. Адекватное количество возбудителя для бактериологического исследования сохраняется в испражнениях при температуре +4-5°C в течение двух суток, а для более длительного хранения образцы кала замораживаются при -70°C. Замораживание даже при -20°C снижает цитотоксическую активность. Образцы для проведения латекс-агглютинации замораживаться не должны (УЗР В, УДД II) [71].

Транспортировка биологического материала

При транспортировке внутри одного здания, контейнеры с биологическим материалом помещают в штативы и специальные герметичные контейнеры-переноски. При длительной транспортировке образцы помещают в индивидуальный герметичный пакет с адсорбирующим материалом, упаковывают в общий герметичный пакет и помещают в термоконтейнер. Транспортировка производится при температуре от +2°C до +8°C. Сопроводительные документы помещаются в индивидуальную упаковку отдельно от биологического материала и прочно прикрепляются снаружи контейнера. Полученные образцы транспортируются в герметичных пластиковых или стеклянных стерильных контейнерах. Транспортировка в лабораторию при комнатной температуре допускается не более двух часов. При невозможности быстрой транспортировки образцы должны быть помещены в транспортные среды для анаэробов (УЗР В, УДД II) [13,27,74,88].

Оценка пригодности образцов

При доставке образца в лабораторию сотрудник лаборатории, принимающий материал, должен проверить правильность оформления направления на исследование, целостность контейнеров с биологическим материалом, зарегистрировать поступивший материал в рабочем журнале в бумажной или электронной форме. Нумерация образцов при регистрации должна быть идентична нумерации в бланках направлений на исследование.

Непригодными для исследования являются образцы: немаркированные или несущие неверную/нечитаемую маркировку; без даты получения материала; хранившиеся и транспортировавшиеся с нарушением установленных требований для биологического материала; с нарушением целостности и/или герметичности контейнеров. В случае непригодности доставленного образца необходимо уведомить врача, назначившего исследование, и рекомендовать повторное взятие материала с соблюдением всех перечисленных правил (**УЗР С, УДД IV**) [12].

Диагностика CDI

Диагноз CDI основывается на анамнезе (недавнее применение антибиотиков), клинической картине (диарея) и результатах лабораторного микробиологического исследования. Для лабораторной диагностики CDI используют бактериологический, серологический, молекулярно-генетический методы. Золотым стандартом диагностики является выделение чистой культуры возбудителя и определение её цитотоксичности на культуре клеток (**УЗР А, УДД Ib**) [8,12,28].

Для диагностики CDI используется ряд лабораторных тестов. В большинстве случаев используются тесты для определения токсинов непосредственно в образцах просветных фекалий (Табл. 3).

Ни один из лабораторных тестов не может быть использован в качестве самостоятельного метода диагностики CDI (**УЗР С, УДД III**) [12,28].

Изучив имеющиеся источники в базах данных Cochrane library, PubMed, EMBASE, MEDLINE, электронной библиотеке (www.e-library.ru), основываясь на собственном опыте по диагностике CDI, мы сочли возможным представить трёхэтапный алгоритм диагностики:

1. Определение ГДГ в просветных фекалиях: серологическим методом – ИХА или ИФА; молекулярно-генетическим методом – ПЦР.
2. Определение токсинов А и В в просветных фекалиях: серологическим методом – ИХА или ИФА; молекулярно-генетическим методом – ПЦР.
3. Выделение токсигенной культуры *C.difficile* и определение её чувствительности к антибактери-

альным препаратам – бактериологический метод.

Серологический метод

Метод индикации ГДГ и токсинов А/В в образцах просветных фекалий посредством ИХА и ИФА позволяет получить быстрый ответ, но у каждой реакции есть свои достоинства и недостатки. ИФА обладает высокой специфичностью (до 95%), при низкой чувствительности (70-80%), обусловленной большим количеством ложноотрицательных результатов. ИХА при низкой специфичности показывает более высокую чувствительность по сравнению с ИФА (**УЗР А, УДД Ib**) [12,28,88].

ГДГ, являющийся ферментом, превращающим глутамат в α -кетоглутарат, присутствует в клетках у многих эукариот и прокариот, включая некоторые виды рода *Clostridium*, в том числе, *C.difficile*. ГДГ кодируется геном *Glud*, присутствует у всех штаммов *C.difficile* вне зависимости от выработки токсинов, а также у других видов рода *Clostridium* (например, *C.sordellii*), что снижает специфичность данного теста из-за перекрестного реагирования. Обнаружение ГДГ методами ИХА и /или ИФА является первым этапом скрининговой индикации *C. difficile*. Отрицательный результат теста свидетельствует об отсутствии *C.difficile*. Получение положительного ответа требует дальнейшего тестирования с целью идентификации способности к продукции токсинов (**УЗР А, УДД Ib**) [50,85].

Принцип иммунохроматографического анализа (ИХА)

ИХА относится к реакциям с мечеными антителами (АТ), специфическими к искомому антигену (АГ). Исследуемый материал в небольшом количестве (5-7 капель) суспензируется в экстрагенте и вносится в стартовое окно тест-системы. Происходит взаимодействие антигена с антителами, адсорбированными на частицах, начинается движение образовавшихся иммунных комплексов за счёт капиллярности носителя. Дойдя до АТ, расположенных на носителе в окне учёта результата, иммунные комплексы связываются, при этом частицы латекса или коллоидного золота проявляются в виде линии голубого, зелёного или коричневого цвета. Поскольку частицы, нагруженные АТ, берутся в избытке, часть их движется дальше и связывается в окне (окнах) внутреннего контроля реакции. Полоса в этом окне свидетельствует о правильной работе тест-системы (Рис. 1). По чувствительности ИХ-системы уступают другим методам иммуноанализа, что позволяет применять их лишь в качестве скринингового теста (**УЗР А, УДД Ib**) [12,28,66,85].

Таблица 3. Эффективность различных тестов для лабораторной диагностики CDI

| Тест | Цель исследования | Чувствительность, % | Специфичность, % | Время исследования | Примечание |
|-----------------------------------|---|---------------------|------------------|--------------------|---|
| Бактериологический метод | Выделение токсигенной культуры, определение антибиотикограммы | 89-100 | 84-99 | 48-72 часа | Высокая чувствительность и специфичность; можно определять резистентность к антибактериальным препаратам; трудность культивирования, необходимость использования специального оборудования. |
| ЦПД* в культуре клеток | Токсин В | 67-100 | 85-100 | 28-48 часов | Рекомендуется использовать в сочетании с бактериологическим методом; возможно полуколичественное определение путём титрования проб. |
| РН** токсина (на культуре клеток) | Токсин В | 67-80 | 85-90 | 28-48 часов | Хорошая чувствительность и специфичность; целесообразно использовать в сочетании с ЦПД. |
| РАЛ*** | ГДГ | 58-92 | 80-96 | 30 минут | Низкая чувствительность и специфичность; применяется только для экспресс-диагностики. |
| ИФА | ГДГ, токсины А и В | 63-95 | 75-98 | 2-4 часа | Скринговый тест. |
| ИХА | ГДГ, токсины А и В | 93 | 75 | 15 минут | Скринговый тест. |
| ПЦР | Ген токсина А, В, бинарного | 95-98 | 99 | 2-4 часа | Хорошая чувствительность и специфичность; возможно определение бинарного токсина. |

ЦПД* – цитопатическое действие; РН** – реакция нейтрализации; РАЛ*** – реакция агглютинации латекса.

Принцип иммуноферментного анализа (ИФА)

ИФА основан на специфическом распознавании и взаимодействии АГ и АТ. Процесс образования иммунных комплексов носит равновесный характер и зависит от аффинности компонентов, их концентрации и других условий реакции. Достоинства ИФА – высокая чувствительность, позволяющая детектировать до 10 пг/мл АГ, стандартность, воспроизводимость, возможность использовать минимальные объёмы исследуемого материала.

Определение токсинов Clostridium (Clostridioides) difficile в образцах просветных фекалий

Определение ГДГ в образцах просветных фекалиях не позволяет судить о токсигенности *C. difficile*. Токсины А/В в стуле больных определяют посредством ИФА и/или ИХА, бактериологическим методом, с последующим определением токсигенности чистой культуры *C. difficile* в ПЦР или биологическому действию (ЦПД) (УУР А, УДД 1б) [12,28,83]. ИФА для детекции токсинов быстр, не трудоёмок по сравнению с бактериологическим методом, но имеет низкую чувствительность. Чувствительность ИФА составляет 63-95%, специфичность 75-98%. Для детекции токсинов А и В *C. difficile* используют ИФА, которые позволяют определять токсин А, либо токсин В или оба токсина. Предпочтительнее использовать тест-системы, одновременно детектирующие оба токсина, поскольку встречаются токсигенные штаммы *C. difficile*, вызывающие заболевание и продуцирующие токсин А, который не детектируется серологическим методом. Такие штаммы имеют мутацию гена *tcdA* в 139-й позиции (УУР А, УДД 1б) [4141,72,73,78].



Рисунок 1. ИХА-тест система для диагностики *C. difficile*

Бактериологический метод необходим для лабораторной диагностики CDI, основан на выделении токсигенной культуры и определении её цитотоксичности в реакции нейтрализации (РН) на культуре клеток. Чувствительность и специфичность метода превышает 98%. Метод позволяет идентифицировать возбудитель, определить его токсигенность, чувствительность к антибактериальным препаратам, используется для диагностики CDI и при проведении эпидемиологического надзора (**УУР А, УДД Ib**) [58,7575,82].

C.difficile – грампозитивная спорообразующая палочка, которая по типу дыхания относится к облигатным анаэробам. Впервые выделена в 1935 году Hall I. C. и O'Toole E. из фекалий здоровых новорожденных. В 1970 году Bartlett J. связал наличие этого возбудителя с возникновением колита, развившегося после применения клиндамицина [44]. Изначально микроорганизм был назван *Vacillus difficilis* на основании морфологии и трудности культивирования [8,52,71,72,75,85].

Для выделения *C.difficile* рационально использовать питательные среды: Бруцелла агар с цефокситином, циклоспорином и фруктозой; Циклосерин-цефокситин-фруктозный агар (CCFA) – селективная и диагностическая среда для *C.difficile*; Циклосеринманнитовый агар (СМА) – селективная среда для *C.difficile*; Циклосеринманнитовый кровяной агар (СМВА) – селективная среда для *C.difficile*; агар Шедлера с 7% бараньей дефибрированной кровью (Schaedlers agar); Бруцелла-агар с 7% бараньей дефибрированной кровью; Сердечно-мозговая плотная среда с 7% бараньей дефибрированной кровью; усиленный агар для клостридий с 7% бараньей дефибрированной кровью; Колумбийский агар с 7% бараньей дефибрированной кровью; тиогликолевая среда.

Образцы просветных фекалий засеваются на питательные среды, которые используют в лаборатории для выделения *C.difficile*, инкубируют в условиях строгого анаэробноза при температуре 37 °С в течение 24-48 часов согласно стандартным лабораторным методам. *C.difficile* на среде CCFA образует бело-жёлтые колонии диаметром 2-4 мм, плоские, округлой или неправильной формы, с неровным или ризоидным краем, матовые. Рост сопровождается появлением характерного запаха, подобного запаху р-крезола или лошадиного помета. Использование для выделения возбудителя других питательных сред, не имеет преимуществ перед CCFA.

Идентификация *C.difficile* проводится на основании культуральных, морфологических и тинкториальных, ферментативных, антигенных свойств. Определяют специфические рибосомальные белки

с помощью десорбционного метода «мягкой» ионизации, обусловленной воздействием импульсами лазерного излучения на матрицу с анализируемым веществом (бактериальных белков) на основе технологии матрично-активированной лазерной десорбция/ионизации времяпролётной масс-спектрометрии (Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization Time of Flight – MALDI-TOF MS), полимеразной цепной реакции (ПЦР) и/или детекцией продуктов метаболизма (жирные кислоты) методом газожидкостной хроматографии (ГЖХ) (**УУР А, УДД Ib**) [1,10,72,82].

Изоляты *C.difficile* должны тестироваться на токсигенность *in vitro*. Для этого отбирают 4-6 колоний, которые культивируют в сердечно-мозговом бульоне в анаэробных условиях при температуре 37 °С в течение 24 часов. Фильтраты суточной бульонной культуры тестируют на наличие токсина по ЦПД в культуре клеток, либо определяют ген токсина А, В или бинарного в ПЦР. Описаны штаммы *C.difficile* не вызывающие ЦПД в культуре клеток, продуцирующие токсин *in vitro*, хотя его титр у таких штаммов ниже, чем у штаммов, вызывающих ЦПД. Изоляты *C.difficile* должны тестироваться на присутствие генов токсина А и В (*tcdA* и *tcdB*) с помощью различных методов, в том числе мультиплексной ПЦР с использованием суспензии от 5 до 10 колоний [50]. Несмотря на длительность исследования (продолжительность 2-3 суток), бактериологический метод является надёжным методом лабораторной диагностики. Многие лаборатории в России не имеют оборудования для работы с облигатными анаэробами. Это ведёт к некорректной диагностике, отсутствию мониторинга за антибактериальной резистентностью изолированных токсигенных штаммов и эпидемического надзора. Недостатком культурального метода диагностики является его трудоёмкость, необходимость наличия специальных навыков работы с культурой и оборудования для анаэробной бактериологии. Выделение токсигенной культуры *C.difficile* возможно только в хорошо оснащённых лабораториях, имеющих высококвалифицированный персонал и анаэробную бактериологическую технику. У выделенных штаммов необходимо определять резистентность к антимикробным препаратам, спектр которых для лечения тяжёлой CDI ограничен (**УУР В, УДД II**) [9,35,81]. Штаммы *C.difficile* резистентные к ванкомицину и метронидазолу всё ещё сохраняют чувствительность к тайгетциклину. Большинство изолятов *C.difficile* резистентны к цефалоспорином, 83,3% к клиндамицину, 66,7% к хлорамфениколу, 19% штаммов к метронидазолу, 6% к ванкомицину.

Молекулярно-генетические методы диагностики CDI позволяют детектировать присутствие генома *C.difficile* и его репликацию. К ним относятся: ПЦР, риботипирование, гель-электрофорез в пульсирующем поле, мультилокусный анализ и определение мультилокусной последовательности. Для детекции токсигенных штаммов *C.difficile* используется амплификация специфических участков генома возбудителя, кодирующих токсин А и/или В или бинарный токсин. Разработана методика, позволяющая амплифицировать специфический для *C.difficile* участок гена, кодирующий токсин А и не имеющий перекрестной реакции с фрагментом ДНК токсигенных штаммов *C.sordellii*. ПЦР определяет токсигенность *C.difficile* и наличие других факторов патогенности. Так же ПЦР анализ просветных фекалий используется для определения источника возбудителя CDI (**УУР В, УДД II**) [50,70]. Корреляции между положительной детекцией и выделением токсигенного штамма *C.difficile* составляет 98,5% [23].

Применение антибактериальных препаратов способствует селекции штаммов резистентных микроорганизмов. Это лежит в основе появления бактерий с множественной лекарственной устойчивостью. Популяция *C.difficile* синтезирует токсин-индуцирующий мессенджер, относящийся к группе тиолактона (ТЛ), который накапливается во внеклеточной среде. При достижении популяцией *C.difficile* определённой плотности активируется двухкомпонентная система AgrC2A2. В результате этого усиливается транскрипция генов, кодирующих токсин. Детекция ТЛ методом ПЦР в образцах стула у пациентов с CDI показывает, что этот процесс играет ключевую роль в патогенезе клостридиального колита. Резистентность к антибиотикам вызывает растущее беспокойство во врачебной среде, поскольку появляется много панрезистентных штаммов, что затрудняет лечение, повышает смертность и расходы. Выпускаются коммерческие наборы для оценки резистентности *C.difficile* к антибиотикам. Но основным методом определения антибактериальной резистентности является метод разведения в агаре/бульоне с определением минимальной подавляющей концентрации (МПК). Детекция генов антибиотикорезистентности важна для диагностики и лечения CDI (**УУР А, УДД Ib**) [23,74,88].

Таким образом, для лабораторной микробиологической диагностики CDI следует использовать несколько методов. Исследование начинается с определения ГДГ серологическим методом и заканчивается либо выделением токсигенного штамма *C.difficile* и определением его чувствительности к антибактериальным препаратам, либо

отрицательным результатом, при котором возбудитель отсутствует или его этиологическая роль вызывает сомнение. В клинических рекомендациях европейских стран и США предлагается комбинировать тесты в двух- или трёхэтапном алгоритме диагностики CDI. На первом этапе определяется ГДГ *C.difficile*. Многие авторы считают, что в случае отрицательного результата дальнейшее обследование пациента не требуется, при положительном – необходимо проведение тестов, подтверждающих наличие токсинов (ПЦР или ИФА). Но основываясь на практике, мнении экспертов и опубликованных литературных данных, мы пришли к заключению, что при наличии диареи и отрицательных серологических тестов на ГДГ и токсины А и В необходимо продолжить исследование для исключения наличие *C. difficile*, продуцирующие бинарный токсин, который детектируется методом ПЦР (**УУР А, УДД УДД Ib**) [12,27,28,73].

В России, по данным Государственного реестра медицинских изделий и организаций (индивидуальных предпринимателей), осуществляющих производство и изготовление медицинских изделий (www.roszdravnadzor.ru/services/misearch), на сегодняшний день зарегистрировано четыре коммерческих ИФА тест-системы и одна ИХА тест-система для детекции токсинов А и В в фекалиях. В лечебных учреждениях России для индикации токсигенных штаммов *C. difficile*, продуцирующих бинарный токсин, регистрационное удостоверение имеет единственная ПЦР-система, используемой вместе с анализатором GeneXpert DX. Заключительным этапом микробиологической диагностики CDI является выделение токсигенной культуры и определение её чувствительности к антибактериальным препаратам.

Нецелесообразно проводить повторные лабораторные исследования после курса антибиотикотерапии; при клиническом улучшении серологические реакции остаются положительными на протяжении 30 дней. При развитии у пациента клинической картины CDI лечение начинается до получения лабораторного подтверждения. Отрицательные результаты лабораторных тестов не исключают наличия возбудителя. Необходимо лабораторное подтверждение и мониторинг за CDI. Для проведения лабораторной микробиологической диагностики CDI оптимален трёхэтапный алгоритм лабораторного микробиологического исследования, включающий сочетание лабораторных методов для достижения максимально высокой чувствительности и специфичности исследования (**УУР С, УДД III**) [6,27,56,85].

Интерпретация результатов

При положительном результате серологического исследования просветных фекалий на наличие ГДГ и выявлении токсинов А/В, дальнейшее исследование направлено на выделение *C.difficile* и определение её чувствительности к антибактериальным препаратам.

При отрицательном результате серологического исследования просветных фекалий на ГДГ необходима постановка ПЦР для верификации отрицательного результата.

Просветные фекалии, положительные по ГДГ и отрицательные по наличию токсина А/В, продолжают исследоваться на наличие возбудителя.

Просветные фекалии, положительные по токсинам и отрицательные по ГДГ, исследуются бактериологическим методом.

При выделении нетоксигенного штамма *C.difficile* результат расценивается как сомнительный и требует дополнительного подтверждения.

При отсутствии ГДГ, токсинов А/В/бинарного токсина, а также возбудителя – результат отрицательный.

Оценка методики

Разработанный диагностический алгоритм оценён по следующим параметрам: чувствительность, специфичность, точность теста, положительное прогностическое значение, отрицательное прогностическое значение, воспроизводимость. Проведённый нами анализ результатов изучения 578 образцов просветных фекалий, полученных от пациентов, поступивших в стационар и пациентов с клинической картиной CDI, показал высокую чувствительность, специфичность, диагностическую точность трёхэтапного алгоритма диагностики заболевания (Табл. 4) [82].

Таблица 4. Значения параметров при трёхэтапном алгоритме лабораторной диагностики CDI

| Параметр | Трёхэтапный алгоритм |
|--|----------------------|
| Чувствительность | 98,7±1,2% |
| Специфичность | 99,2±0,8% |
| Диагностическая точность | 99±0,9% |
| Положительное прогностическое значение | 98,7±1,2% |
| Отрицательное прогностическое значение | 99,2±0,8% |
| Воспроизводимость | 95,4±2,4% |

Алгоритм характеризуется высокими значениями воспроизводимости результатов исследований, чувствительности и специфичности. Трёхэтапный алгоритм исследования предназначен для лабораторной диагностики CDI. Его использование обеспечивает правильную и своевременную диагности-

ку, локальный микробиологический мониторинг и эпидемиологический надзор за CDI (**УУР С, УДД III**) [82].

Инструментальная диагностика

При колоноскопии слизистая оболочка толстой кишки розового цвета, с гладкой, блестящей поверхностью, покрыта множественными до 0,3-1 см в диаметре, фибринозными бляшками. При ультразвуковом исследовании отмечается усиленная перистальтика тонкой кишки и утолщение стенки толстой кишки. При компьютерной томографии органов брюшной полости стенка поражённого отдела кишечника утолщена, в случае развития токсического мегаколон резко увеличен диаметр кишки, стенка при этом истончена. Могут наблюдаться увеличенные лимфатические узлы брыжейки (**УУР А, УДД 1b**) [13,15,23,64].

Лечение

Для прогнозирования эффективности антибактериальной терапии используют данные определения чувствительности *C.difficile* к антибактериальным препаратам. Пациентам с лёгкой и среднетяжёлой формой заболевания назначается метронидазол в дозе 500 мг внутрь три раза в день в течение 10 дней. При отсутствии клинического эффекта через 5-7 дней производят смену препарата на ванкомицин в дозе 125 мг 4 раза в день per os в течение 10 дней. Пациентам с тяжёлой формой CDI изначально показано назначение ванкомицина в дозе 125 мг внутрь 4 раза в день в течение 10 дней. Ухудшение состояния пациента с возникновением гипотонии, гипертермия выше 38,5°C, задержка стула, выраженное вздутие живота, изменение сознания, лейкоцитоз свыше 15×10^9 или лейкопении ниже 2×10^9 , повышение уровня лактата в сыворотке крови выше 2,2 ммоль/л, развитие синдрома полиорганной недостаточности требует его перевода в отделение интенсивной терапии для дальнейшего лечения. Наряду с инфузионной терапией назначается ванкомицин внутрь в дозе 500 мг 4 раза в день в сочетании с метронидазолом в дозе 500 мг 3 раза в день внутривенно. При невозможности введения препарата через рот ванкомицин назначается ректально. При этом препарат в дозе 500 мг разводится в 500 мл 0,9% раствора хлорида натрия и вводится в виде клизм четыре раза в день (**УУР В, УДД II**) [63, 82].

При рецидивах CDI следует использовать ванкомицин в дозировке 500 мг 4 раза в день, в течение 10 дней. Вместе с тем использование антибактериальных препаратов, не активных против *C.difficile*, нецелесообразно и ведёт к ухудшению клинической картины, а также связано с высоким риском

Критерии оценки качества медицинской помощи при CDI

| № п/п | Критерии качества | УДД | УУР |
|-------|--|-----|-----|
| 1 | При наличии жалоб на жидкий стул более 3 раз в сутки либо увеличение количества кишечного отделяемого по илеостоме более 1000 мл/сутки или по колостоме более 500 мл/сутки, гипертермии до 39 °С, метеоризме, тошноте, рвоте, болях в животе спастического характера; присутствии факторов риска в анамнезе и изменении лабораторных показателей, в течение 24 часов необходимо осуществить взятие и направление просветных фекалий на лабораторное исследование для выявления токсигенной <i>C.difficile</i> и верификации возбудителя. | Ib | A |
| 2 | Установление диагноза CDI возможно на основании анамнеза, клинической картины заболевания и результатов лабораторной диагностики. | Ib | A |
| 3 | Для лабораторной диагностики CDI возможно исследовать образцы просветных фекалий, мазки, взятые из кишки, содержимое просвета или биоптат слизистой оболочки толстой кишки, полученные при эндоскопическом исследовании или во время операции. | Ib | A |
| 4 | Материал для исследования должен быть собран в одноразовый стерильный контейнер. Если доставка в бактериологическую лабораторию для проведения бактериологического и молекулярно-биологического исследования в течение двух часов затруднена, образцы кала могут быть заморожены при -70 °С. Для определения токсинов серологическими методами замораживание просветных фекалий недопустимо. | II | B |
| 5 | Транспортировка материала для исследования на CDI в лабораторию осуществляется в специальных герметичных контейнерах – переносках. Транспортировка в лабораторию при комнатной температуре допускается в течение не более 2 часов. При невозможности быстрой транспортировки образцы должны быть помещены в транспортные среды для анаэробов. | II | B |
| 6 | Экспресс-диагностика в лаборатории включает определение ГДГ, токсинов А и В в просветных фекалиях иммунологическими или молекулярно-биологическими методами. | Ib | A |
| 7 | В бактериологической лаборатории для лабораторной диагностики CDI необходимо использовать трехэтапный алгоритм. | Ib | A |
| 8 | В бактериологической лаборатории для детекции ГДГ, токсинов А и В, бинарного токсина <i>C.difficile</i> используется ИФА и /или ИХА и /или ПЦР | Ib | A |
| 9 | В бактериологической лаборатории проводят выделение токсигенной культуры с определением её цитотоксичности и чувствительности к антибактериальным препаратам, используемым для лечения CDI | Ib | A |
| 10 | При наличии диареи и отрицательных тестов на ГДГ и токсины А и В необходимо исключить наличие бинарного токсина, который детектируется методом ПЦР. | Ib | A |
| 11 | Пациентам с лёгкой и среднетяжёлой формой заболевания необходимо назначение в течение 24 часов с момента появления клинической картины заболевания метронидазола в дозе 500 мг внутрь три раза в день. При отсутствии клинического эффекта через 5-7 дней необходимо назначение ванкомицина внутрь в дозе 125 мг 4 раза в день в течение 10 дней. Пациентам с тяжёлой формой CDI изначально необходимо назначение ванкомицина в дозе 125 мг внутрь 4 раза в день в течение 10 дней. | II | B |
| 12 | При развитии токсической дилатации ободочной кишки или перфорации стенки кишки необходимо срочное оперативное лечение. | II | B |

развития рецидива CDI (**УУР С, УДД III**) [82]. Тяжелое течение заболевания, сопровождающееся возникновением осложнений CDI, таких как токсическая дилатация, перфорация и т.д. требует экстренного оперативного вмешательства. Вопрос об его объёме решается индивидуально, исходя из интраоперационно выявленных изменений. В ряде случаев оперативное вмешательство ограничивается формированием илеостомы, с последующим введением в отключенные отделы кишечника внутриспросветных антибиотиков, а при выраженной

токсической дилатации с диастатическим повреждением или перфорацией стенки кишки возникает необходимость выполнения экстренной колэктомии (**УУР В, УДД II**) [82]. Применение пробиотиков может значительно снизить заболеваемость антибиотик-ассоциированной диареей и может являться перспективным средством для лечения и профилактики CDI. *Saccharomyces boulardi*, *Lactobacillus rhamnosus* GG и пробиотические смеси обладают профилактическим действием и могут помочь предотвра-

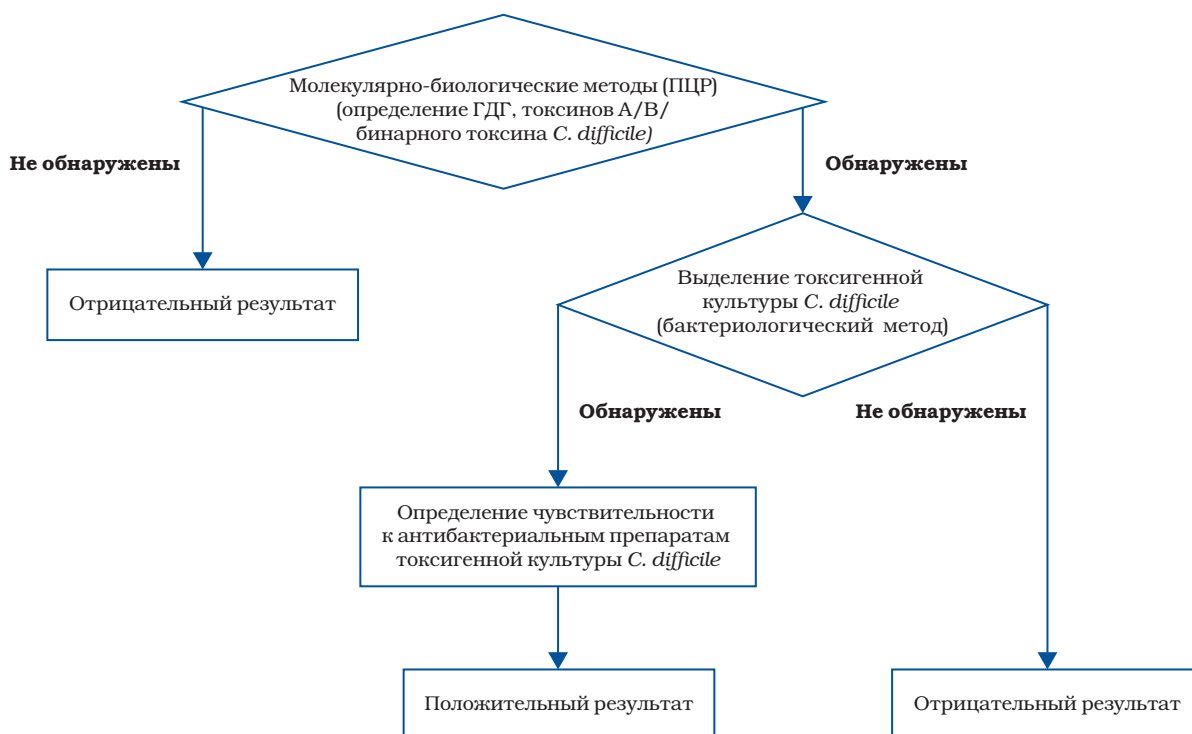


Схема трёхэтапного алгоритма лабораторного микробиологического исследования просветных фекалий при подозрении на CDI (Вариант 1)

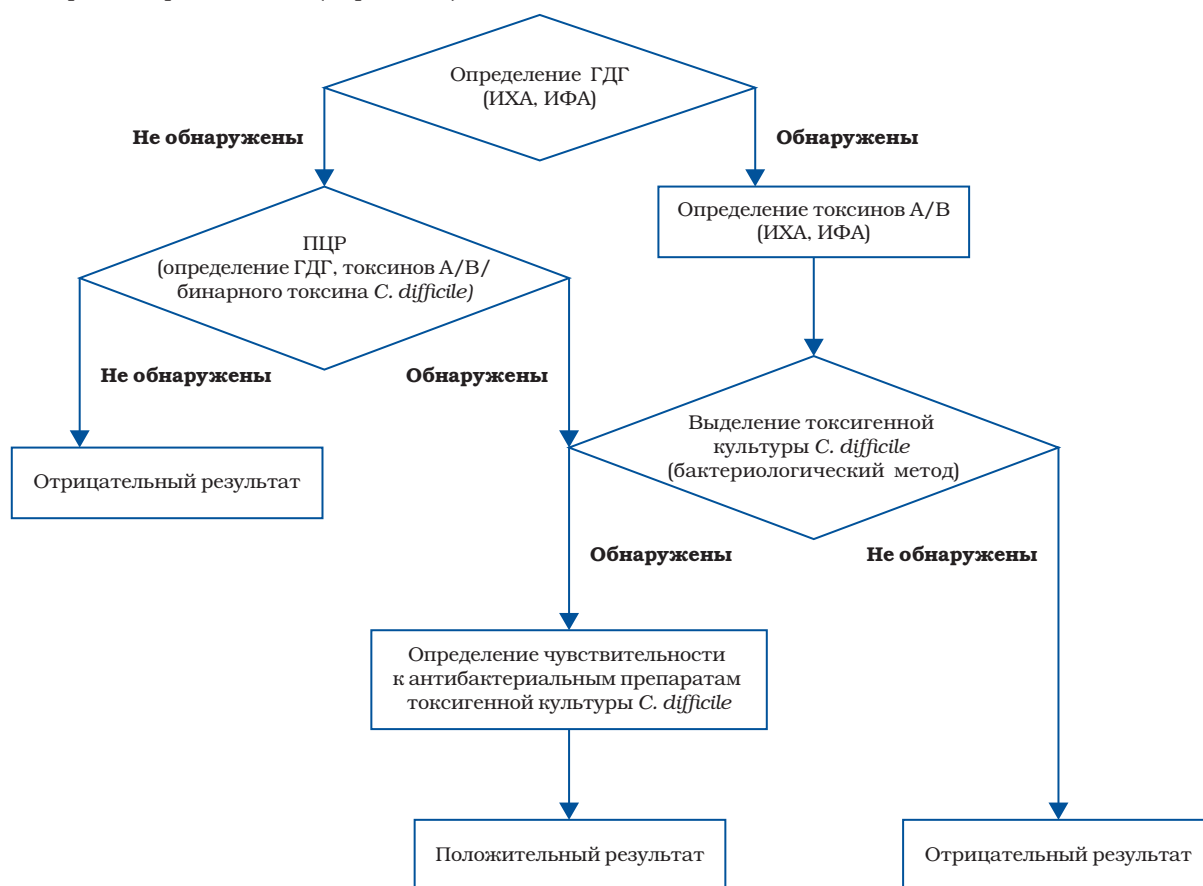


Схема трёхэтапного алгоритма лабораторного микробиологического исследования просветных фекалий при подозрении на CDI (Вариант 2)

тить развитие антибиотико-ассоциированной диареи. Перспективным направлением в профилактике и лечении CDI, является использование аутоштаммов *Lactobacillus spp.* с лабораторной оценкой их антагонистической активности против *Clostridium spp.*, включая *C.difficile*. Методика является трудоёмкой, но эффективной и безопасной. Продолжаются исследования по поиску и выделению бактериофага против *C.difficile*, что может стать перспективным методом лечения CDI. В крайних случаях при неэффективности других методов лечения используют трансплантацию фекальной микробиоты. Остается дискуссионным вопрос о возможности защиты реципиента от риска трансплантации патогенной микробиоты, включая вирусы, бактерии, грибы, лейкоциты, кишечный эпителий и т.д. от донора (**УУР С, УДД IV**) [30,51,84].

Реабилитация

Пациенты, у которых в анамнезе имелась CDI, должны быть предупреждены о высоком риске рецидива заболевания. Применение антибактериальных препаратов у данной категории лиц должно происходить по строгим показаниям с учётом данных оценки чувствительности к ним *C.difficile*. После проведения эффективной этиотропной терапии требуется качественная и количественная оценка состава кишечной микробиоты. В случае обнаружения низкого содержания бифидобактерий и лактобактерий, низкой антагонистической активности лактофлоры, либо её отсутствия, требуется назначение пробиотических и синбиотических препаратов.

У пациентов, перенесших экстренные вмешательства по поводу осложнений CDI, возможно проведение реконструктивно-восстановительных операций лишь после полного купирования воспалительного процесса и метаболических нарушений (**УУР С, УДД – IV**) [34,51].

Профилактика

Выделяют первичную и вторичную профилактику клостридиальной инфекции. Первичная профилактика – система мер, направленных на предупреждение возникновения и воздействия факторов риска развития заболевания на организм. К ней причисляют вакцинацию, рациональный режим труда и отдыха, качественное питание, физическую активность, охрану окружающей среды и т.д. К мерам вторичной профилактики относят комплекс мероприятий, направленных на устранение факторов риска, которые в условиях стресса, ослабления иммунитета, чрезмерных нагрузок на любые другие функциональные системы организма могут

привести к возникновению, обострению и рецидиву заболевания. Наиболее эффективным методом вторичной профилактики считается диспансеризация, как комплексный метод раннего выявления заболевания, динамического наблюдения, направленного лечения, рационального последовательного оздоровления. Учитывая фекально-оральный механизм передачи *C.difficile*, необходимо тщательно следить за гигиеной рук медицинского персонала. Мытье рук с мылом и применение медицинских перчаток является эффективным мероприятием для уничтожения спор *C.difficile* по сравнению с использованием спиртовых антисептиков (**УУР С, УДД III**) [21,26].

Доказана эффективность бактерицидного и спороцидного действия аэрозоля 7,5% перекиси водорода на *C.difficile*, полученного с помощью специальной автоматизированной системы для дезинфекции воздуха и поверхностей. После воздействия аэрозоля перекиси водорода в течение 3 часов в помещении регистрируется гибель всех спор *C.difficile*. Доказана эффективность импульсной ксеноновой ультрафиолетовой установки для дезинфекции поверхностей от спор *C.difficile*. Перспективным методом специфической профилактики CDI может стать создание вакцины (**УУР D, УДД III**) [5].

Авторы заявляют об отсутствии потенциального конфликта интересов и необходимости его раскрытия в материале.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ивашкин, В.Т. Рациональная фармакотерапия заболеваний органов пищеварения / В.Т.Ивашкин // – М.: Литтерра, 2011. – 522 с.
2. Ивашкин, В.Т. Проект клинических рекомендаций по диагностике и лечению взрослых пациентов с болезнью Крона. / В.Т.Ивашкин, Ю.А.Шельгин, Д.И.Абдулганиева и соавт. // Колопроктология. – 2013. – № S3 (45). – с. 4-21.
3. Корнеева, О.Н. Антибиотико-ассоциированный колит: патоморфология, клиника, лечение. / О.Н.Корнеева, В.Т.Ивашкин // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии. – 2007. – № 17 (3) – с. 65-70.
4. Лобзин, Ю.В. Современные представления об инфекции *Clostridium difficile*. / Ю.В.Лобзин, С.М.Захаренко, Г.А.Иванов // Клиническая микробиология и антимикробная терапия. – 2002. – № 3 (4) – с. 200-232.
5. Сафин, А.Л. Факторы риска развития диареи, ассоциированной с *Clostridium difficile*, у колопроктологических больных (обзор литературы). / А.Л.Сафин, С.И.Ачкасов, М.А.Сухина и соавт. //

- Колопроктология. – 2017. – № 1 (59). – с. 59-67.
6. Сухина, М.А. Алгоритм лабораторной диагностики *Clostridium difficile* – ассоциированной диареи / М.А.Сухина, И.В.Образцов, В.И.Михалевская и соавт. // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2018. – № 2. – с. 45-53
7. Шептулин, А.А. Рефрактерные и рецидивирующие формы колита, ассоциированного с *Clostridium difficile*. / А.А.Шептулин // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии. – 2011. – № 21 (2). – с. 50-53.
8. A practical guidance document for the laboratory detection of toxigenic *Clostridium difficile*. – Washington, DC: American Society for Microbiology, 2010. – Режим доступа: http://www.asm.org/images/pdf/Clinical/clostridiumdifficile_9-21.pdf.
9. Aguado, J.M. Highlighting clinical needs in *Clostridium difficile* infection: the views of European healthcare professionals at the front line. / J.M.Aguado, V.J.Anttila, T.Galperine et al. // J. Hosp. Infect. – 2015. – № 2 (50). – p. 117-125.
10. Ananthakrishnan, A.N. *Clostridium difficile* and inflammatory bowel disease. / A.N.Ananthakrishnan, M.Issa, D.G.Binion // Med. Clin. North Am. – 2010. – № 1 (94). – p. 135-153.
11. Arimoto, J. Diagnostic test accuracy of glutamate dehydrogenase for *Clostridium difficile*: Systematic review and meta-analysis. / J.Arimoto, N.Horita, S.Kato et al. // Sci. Rep. – 2016. – № 6. – p. 29754.
12. Barbut, F. Comparison of three enzyme immunoassays, a cytotoxicity assay and toxigenic culture for the diagnosis of *Clostridium difficile* – associated diarrhea. / F.Barbut, C.Kajzer, N.Planas et al. // J. Clin. Microbiol. – 1993. – № 31. – p. 963-71.
13. Benedek, O. Laboratory experience with the liaison analyzer in the diagnosis of *Clostridium difficile*-associated diarrhea. / O.Benedek, A.Podbielski, P.Warnke // Eur. J. Microbiol. Immunol. – 2016. – № 3 (6). – p. 215-218.
14. Beneš, J. Diagnosis and therapy of *Clostridium difficile* infection: Czech national guidelines. / J.Beneš, Peter Husa, Nyč.Otakar // Klin. Mikrobiol. Infekc. Lek. – 2014. – № 2 (20). – p. 56-66.
15. Binnicker, M.J. Multiplex molecular panels for diagnosis of gastrointestinal infection: Performance, result interpretation, and cost-effectiveness. / M.J.Binnicker // J. Clin. Microbiol. – 2015. – № 12 (53). – p. 3723-3728.
16. Bomers, M.K. Using a dog's superior olfactory sensitivity to identify *Clostridium difficile* in stools and patients: proof of principle study. / M.K.Bomers, M.A.van Agtmael, H.Luik et al. // Bmj. – 2012. – № 345. – p. e7396.
17. Brown J.H. Translating the human microbiome. / J.H.Brown, W.M.de Vos, P.S.DiStefano // Nat. Biotechnol. – 2013. – № 4 (31). – p. 304-308.
18. Buckwalter, S.P. Real-time qualitative PCR for 57 human adenovirus types from multiple specimen sources. / S.P.Buckwalter, R.Teo, M.J.Espy et al. // J. Clin. Microbiol. – 2012. – № 3 (50). – p. 766-771.
19. Burnham, C.-A.D. Diagnosis of *Clostridium difficile* infection: an ongoing conundrum for clinicians and for clinical laboratories. / C.-A.D.Burnham, K.C.Carroll // Clin. Microbiol. Rev. American Society for Microbiology. – 2013. – № 3 (26). – p. 604-630.
20. Buss, S.N. Multicenter evaluation of the BioFire FilmArray gastrointestinal panel for etiologic diagnosis of infectious gastroenteritis. / S.N.Buss, A.Leber, K.Chapin et al. // J. Clin. Microbiol. – 2015. – № 3 (53). – p. 915-925.
21. Cohen, S.H. Clinical Practice Guidelines for *Clostridium difficile* Infection in Adults: 2010 Update by the Society for Healthcare Epidemiology of America (SHEA) and the Infectious Diseases Society of America (IDSA). / S.H.Cohen, D.N.Gerding, S.Johnson et al. // Infection Control and Hospital Epidemiology. – 2010. – № 5 (31). – p. 431-455
22. Cohen, S.H. Clinical practice guidelines for *Clostridium difficile* infection in adults: 2010 update by the society for healthcare epidemiology of America (SHEA) and the infectious diseases society of America (IDSA) / S.H.Cohen, D.N.Gerding, S.Johnson et al. // Journal Article, Practice Guideline, Research Support, Non-U.S. Gov't. Infect. Control Hosp. Epidemiol. – 2010. – № 5 (31). – p. 431-455.
23. Collins, D.A. Molecular methods for detecting and typing of *Clostridium difficile*. / D.A.Collins, B.Elliott, T.V.Riley // Pathology. – 2015. – № 3 (47). – p. 211-218.
24. Crobach, M.J. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID): data review and recommendations for diagnosing *Clostridium difficile*-infection (CDI). / M.J.Crobach, O.M.Dekkers, M.H.Wilcox et al. // Clin. Microbiol. Infect. – 2009. – № 15 (12). – p. 1053-1066.
25. Cunningham, S.A. Three-hour molecular detection of *Campylobacter*, *Salmonella*, *Yersinia* and *Shigella* species in feces with accuracy as high as that of culture. / S.A.Cunningham, L.M.Sloan, L.M.Nyre et al. // J. Clin. Microbiol. – 2010. – № 8 (48). – p. 2929-2933.
26. Edmonds, S.L. Effectiveness of Hand Hygiene for Removal of *Clostridium difficile* Spores from Hands. / S.L.Edmonds, C.Zapka, D.Kasper et al. // Infect. Control Hosp. Epidemiol. – 2013. – № 3 (31). – p. 302-305.
27. Fenner, L. Rapid and reliable diagnostic algorithm for detection of *Clostridium difficile* / L.Fenner, A.F.Widmer, G.Goy et al. // J. Clin. Microbiol. Am. Soc. Microbiol. – 2008. – № 1 (46). – p. 328-330.

28. Gerding, D.N. Clostridium difficile – associated diarrhea and colitis. / D.N.Gerding, S.Johnson, L.R.Peterson et al. // Infect Control Hosp Epidemiol. – 1995. – № 16. – p. 459-77.
29. Guo, S. The recombinant Lactococcus lactis oral vaccine induces protection against C.difficile spore challenge in a mouse model. / S.Guo, W.Yan, S.P.McDonough et al. // Vaccine. – 2015. – № 13(33). – p. 1586-1595.
30. Hargreaves, K.R. Clostridium difficile phages: Still difficult? / K.R.Hargreaves, M.R.J.Clokie // Front. Microbiol. – 2014. – № 5. – p. 1-14.
31. Hassan, S.A. Hospital-acquired Clostridium difficile infection among patients with type 2 diabetes mellitus in acute medical wards. / S.A.Hassan, R.A.Rahman, N.Huda et al. // The journal of the Royal College of Physicians of Edinburgh. – 2013. – № 2(43). – p. 103-107.
32. Hikone, M. Risk factors for recurrent hospital-acquired Clostridium difficile infection in a Japanese university hospital. / M.Hikone, Y.Ainoda, S.Tago et al. // Clinical and Experimental Gastroenterology. – 2015. – № 8. – p. 191-196.
33. Huang, J.S. Use of rifamycin drugs and development of infection by rifamycin-resistant strains of Clostridium difficile. / J.S.Huang, Z.-D. Jiang, K.W.Garey et al. // Antimicrobial agents and chemotherapy. – 2013. – № 6(57). – p. 2690-3.
34. Jennifer K. Spinlera. Probiotics as adjunctive therapy for preventing Clostridium difficile infection – What are we waiting for? / Jennifer K. Spinlera, C.L.Rossa, T.C.Savidgea // Anaerobe. – 2016. – № 41. – p. 51-57.
35. Johansson, K. Clostridium difficile infection diagnostics – evaluation of the C. DIFF Quik Chek Complete assay, a rapid enzyme immunoassay for detection of toxigenic C.difficile in clinical stool samples. / K.Johansson, H.Karlsson, T.Norén // APMIS. – 2016. – № 11(124). – p. 1016-1020.
36. Johnson, A.P. Fidaxomicin: A new option for the treatment of Clostridium difficile infection. J. Antimicrob. / A.P.Johnson, M.H.Wilcox // Chemother. – 2012. – № 12(67). – p. 2788-2792.
37. Judith, A. The emerging infectious challenge of Clostridium difficile-associated disease in Massachusetts hospitals: clinical and economic consequences. / A.Judith, Brien et al. // Infect. Control & Hosp. Epidemiol. – 2007. – № 11(28). – p. 1219-1227.
38. Kachrimanidou, M. Clostridium difficile Infection: A comprehensive review. / M.Kachrimanidou, N.Malisiovas // Crit. Rev. Microbiol. – 2011. – № 3(37). – p. 178-187.
39. Kali, A. Cadazolid: A new hope in the treatment of Clostridium difficile infection. / A.Kali, M.V.P.Charles, S.Srirangaraj // Australas. Med. J. – 2015. – № 8(8). – p. 253-262.
40. Kapusinszky, B. Nearly constant shedding of diverse enteric viruses by two healthy infants. / B.Kapusinszky, P.Minor, E.Delwart // J. Clin. Microbiol. – 2012. – № 11(50). – p. 3427-3434.
41. Karre, T. Comparison of two commercial molecular assays to a laboratory-developed molecular assay for diagnosis of Clostridium difficile infection. / T.Karre, L.Sloan, R.Patel et al. // J. Clin. Microbiol. – 2011. – № 2(49). – p. 725-727.
42. Kassam, Z. Fecal Microbiota Transplantation for Clostridium difficile Infection: Systematic Review and Meta-Analysis. / Z.Kassam, C.H.Lee, Y.Yuan et al. // The American Journal of Gastroenterology. – 2013. – № 4(108). – p. 500-508.
43. Kato, N. Identification of toxigenic Clostridium difficile by the polymerase chain reaction. / N.Kato, C-Y.Ou, H.Kato et al. // J. Clin. Microbiol. – 1991. – № 29. – p. 33-7.
44. Kazanowski, M. Clostridium difficile: epidemiology, diagnostic and therapeutic possibilities – a systematic review / M.Kazanowski, S.Smolarek, F.Kinnarney et al. – 2014. – № 18. – p. 223-232.
45. Knight, D.R. Diversity and evolution in the genome of Clostridium difficile. / D.R.Knight, B.Elliott, B.J.Chang et al. // Clin. Microbiol. Rev. – 2015. – № 3(28). – p. 721-741.
46. Kostic, A.D. The Microbiome in inflammatory bowel diseases: current status and the future ahead. / A.D.Kostic, R.J.Xavier, D.Gevers // Gastroenterology. – 2015. – № 6(146). – p. 1489-1499.
47. Kundrapu, S. A Randomized Trial of Soap and Water Hand Wash Versus Alcohol Hand Rub for Removal of Clostridium difficile Spores from Hands of Patients. / S.Kundrapu, V.Sunkesula, I.Jury et al. // Infection Control & Hospital Epidemiology. – 2014. – № 2(35). – p. 204-206.
48. Kurti, Z. Burden of Clostridium difficile infection between 2010 and 2013: Trends and outcomes from an academic center in Eastern Europe. / Z.Kurti, B.D.Lovasz, M.D.Mandel et al. // World J. Gastroenterol. – 2015. – № 21(21). – p. 6728-6735.
49. Kuty, P. Risk factors for and estimated incidence of community-associated Clostridium difficile infection, North Carolina, USA / P.Kuty // CME. – 2010.
50. LaSala, P.R. Comparison of analytical and clinical performance of three methods for detection of Clostridium difficile. / P.R.LaSala, A.M.Svensson, A.A.Mohammad et al. // Arch. Pathol. Lab. Med. – 2012. – № 5(136). – p. 527-531.
51. Lau, C.S. Probiotics are effective at preventing Clostridium difficile-associated diarrhea: a systematic review and meta-analysis. / C.S.Lau,

- R.S.Chamberlain // *Int. J. Gen. Med.* Dove Press, – 2016. – № 9. – p. 27-37.
52. Le, R. Laboratory diagnosis of *Clostridium difficile* infection / R.Le, G.F.Wallet // *Ann. Biol. Clin. Synthèse Ann Biol Clin.* – 2013. – № 4 (71). – p. 395-400.
53. Levin, J. The effect of portable pulsed xenon ultraviolet light after terminal cleaning on hospital-associated *Clostridium difficile* infection in a community hospital. / J.Levin, L.S.Riley, C.Parrish et al. // 2013.
54. Ley, R.E. Ecological and evolutionary forces shaping microbial diversity in the human intestine. / R.E.Ley, D.A.Peterson, J.I.Gordon // *Cell.* – 2006. – № 4 (124). – p. 837-848.
55. Locher, H.H. In vitro and in vivo antibacterial evaluation of cadazolid, a new antibiotic for treatment of *Clostridium difficile* infections. / H.H.Locher, P.Seiler, X.Chen et al. // *Antimicrobial agents and chemotherapy.* – 2014. – № 2 (58). – p. 892-900.
56. Martin, J. *Clostridium difficile* infection: advances in epidemiology, diagnosis and understanding of transmission. / J.Martin, T.Monaghan, M.H.Wilcox // *Nat. Rev. Gastro. Hep.* – 2016. – Vol. In press.
57. Martín, R. The role of metagenomics in understanding the human microbiome in health and disease. / R.Martín, S.Miquel, P.Langella et al. // *Virulence.* – 2014. – № 3 (5). – p. 413-423.
58. Martin-Verstraete, I. The regulatory networks that control *Clostridium difficile* toxin synthesis / I.Martin-Verstraete, J.Peltier, B.Dupuy // *Toxins (Basel).* – 2016. – № 5 (8). – p. 1-24.
59. Mattila, E. A randomized, double-blind study comparing *Clostridium difficile* immune whey and metronidazole for recurrent *Clostridium difficile*-associated diarrhoea: Efficacy and safety data of a prematurely interrupted trial. / E.Mattila, V.J.Anttila, M.Broas et al. // *Scand. J. Infect. Dis.* – 2008. – № 9 (40). – p. 702-708.
60. Maurer, M. Detection of bacteriuria by canine olfaction. / M.Maurer, M.McCulloch, A.M.Willey et al. // *Open Forum Infect. Dis.* – 2016. – № 2 (3). – p.ofw051.
61. McFarland, L.V. Emerging therapies for *Clostridium difficile* infections. / L.V.McFarland // *Expert Opin. Emerg. Drugs.* – 2011. – № 3 (16). – p. 425-439.
62. McFarland, L.V. Meta-Analysis of Probiotics for the Prevention of Antibiotic Associated Diarrhea and the Treatment of *Clostridium difficile* Disease. / L.V.McFarland // *The American Journal of Gastroenterology.* – 2006. – № 4 (101). – p. 812-822.
63. Metan, G. Tigecycline for the treatment of *Clostridium difficile* infection refractory to metronidazole in haematopoietic stem cell transplant recipients. / G.Metan, Z.Türe, L.Kaynar // *Journal of Chemotherapy.* – 2015. – № 6 (27). – p. 354-357.
64. Moon, H.-W. Comparison of diagnostic algorithms for detecting toxigenic *Clostridium difficile* in routine practice at a tertiary referral hospital in Korea. / H.-W. Moon, H.N.Kim, M.Hur et al. // *PLoS One.* – 2016. – № 8 (11). – e0161139.
65. Mullane K. Fidaxomicin in *Clostridium difficile* infection: Latest evidence and clinical guidance. / K.Mullane // *Ther. Adv. Chronic Dis.* – 2014. – № 2 (5). – p. 69-84.
66. Na, X. A multi-center prospective derivation and validation of a clinical prediction tool for severe *Clostridium difficile* infection. / X.Na, A.J.Martin, S.Sethi et al. // *PLoS One.* – 2015. – № 4 (10). – p. e0123405.
67. Norman, J.M. Disease-specific Alterations in the enteric virome in inflammatory bowel disease. / J.M.Norman, S.A.Handley, M.T.Baldrige et al. // *NIH Public Access.* – 2016. – № 3 (160). – p. 447-460.
68. Novais, R.C. The evolution of Pyrosequencing for microbiology: From genes to genomes. / R.C.Novais, Y.R.Thorstenson // *J. Microbiol. Methods.* – 2011. – № 1 (86). – p. 1-7.
69. O'Connor, J.R. Rifampin and rifaximin resistance in clinical isolates of *Clostridium difficile*. / J.R.O'Connor, M.A.Galang, S.P.Sambol et al. // *Antimicrob. Agents Chemother.* – 2008. – № 8 (52). – p. 2813-2817.
70. Peterson, L.R. Detection of *Clostridium difficile* toxin A (enterotoxin) and B (cytotoxin) in clinical specimens. Evaluation of a latex agglutination test. / L.R.Peterson, J.J.Holter, C.J.Shanholtzer et al. // *Am. J. Clin. Pathol.* – 1986. – № 86. – p. 208-11.
71. Peterson, L.R. Role of culture and toxin detection in laboratory testing for diagnosis of *Clostridium difficile* – associated diarrhea. / L.R.Peterson, J.P.Kelly, H.A.Nordbrock // *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* – 1996. – № 15. – p. 330-6.
72. Peterson, L.R. Results of a prospective, 18-month clinical evaluation of culture, Cytotoxin testing and culturette brand (CDT) latex testing in the diagnosis of *Clostridium difficile* – associated diarrhea. / L.R.Peterson, M.M.Olson, C.J.Shanholtzer et al. // *Diagn Microbiol Infect Dis.* – 1988. № 10. – p. 85-91.
73. Qin, J. A metagenome-wide association study of gut microbiota in type 2 diabetes. / J.Qin, Y.Li, Z.Cai et al. // *Nature.* – 2012. – № 7418 (490). – p. 55-60.
74. Russello, G. Laboratory diagnosis of *Clostridium difficile* associated diarrhoea and molecular characterization of clinical isolates. / G.Russello, A.Russo, F.Sisto et al. // *New Microbiol.* – 2012. – № 35. – p. 307-316.
75. Sambol, S.P. Toxin gene analysis of a variant strain of *Clostridium difficile* that causes human

- clinical disease. / S.P.Sambol, M.M.Merrigan, D.Lyerly et al. // *Infect. Immun.* – 2000. – № 68. – p. 5480-7.
76. Shah, D.N. Economic burden of primary compared with recurrent *Clostridium difficile* infection in hospitalized patients: a prospective cohort study. / D.N.Shah, S.L.Aitken, L.F.Barragan et al. // *J. Hosp. Infect.* – 2016. – № 3 (93). – p. 286-289.
77. Sinclair, A. Lactobacillus probiotics in the prevention of diarrhea associated with *Clostridium difficile*: a systematic review and Bayesian hierarchical meta-analysis. / A.Sinclair, X.Xie, L.Saab et al. // *CMAJ open.* – 2016. – № 4 (4). – p. E706-E718.
78. Staneck, J.L. Multicenter evaluation of four method for *Clostridium difficile* detection: ImmunoCard C.difficile, cytotoxin assay, culture, and latex agglutination. / J.L.Staneck, L.S.Weckbach, S.D.Allen et al. // *J. Clin Microbiol.* – 1996. – № 34. – p. 2718-21.
79. Steindl, G. Effect of airborne hydrogen peroxide on spores of *Clostridium difficile*. / G.Steindl, A.Fiedler, S.Huhulescu et al. // *Wiener klinische Wochenschrift.* – 2015. – № 11-12 (127). – p. 421-426.
80. Sullivan, K.M. Fidaxomicin: A macrocyclic antibiotic for the management of *Clostridium difficile* infection. / K.M.Sullivan, L.M.Spooner // *Ann. Pharmacother.* – 2010. – № 2 (44). – p. 352-359.
81. Surawicz, C.M. Guidelines for Diagnosis, Treatment, and Prevention of *Clostridium difficile* Infections. / C.M.Surawicz, L.J.Brandt, D.G.Binion et al. // *The American Journal of Gastroenterology.* – 2013. – № 4 (108). – p. 478-498.
82. Tschudin-Sutter, S. Growth Patterns of *Clostridium difficile* – Correlations with Strains, Binary Toxin and Disease Severity: A Prospective Cohort Study. / S.Tschudin-Sutter, O.Braissant, S.Erb et al. // *PLoS One.* – 2016. – № 9 (11). – p. e0161711.
83. Tsutsumi, L. Progress in the Discovery of Treatments for *C.difficile* Infection: A Clinical and Medicinal Chemistry Review. / L.Tsutsumi, Y.Owusu, J.Hurdle et al. // *Curr. Top. Med. Chem.* – 2013. – № 1 (14). – p. 152-175.
84. Turgeon, D.K. Six Rapid Tests for direct detection of *Clostridium difficile* and its toxins in fecal samples compared with the fibroblast cytotoxicity assay. / D.K.Turgeon, Thomas J. Novicki, John Quick et al. // *J. Clin. Microbiol.* – 2003. – № 2 (41). – p. 667-670.
85. Vaishnavi, C. Fidaxomicin – the new drug for *Clostridium difficile* infection. / C.Vaishnavi // *Indian J. Med. Res.* – 2015. – № 5. – p. 398-407.
86. Wright Donna, F.R. Largest ever European clinician consensus report on *Clostridium difficile* infection provides recommendations for improved management of CDI pressemitteilung astellas EMEA. / F.R.Wright Donna // 2014.
87. Yoldas, O. A diagnostic algorithm for the detection of *Clostridium difficile*-associated diarrhea. / O.Yoldas, M.Altundiş, D.Cufalı et al. // *Balkan Med. J.* – 2016. – № 1 (33). – p. 80-86.
88. Yoon, S.S. Functional genomic and metagenomic approaches to understanding gut microbiota-animal mutualism. / S.S.Yoon, E.K.Kim, W.J.Lee // *Curr. Opin. Microbiol.* – 2015. – 24. – p. 38-46.