

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ  
«ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР КОЛОПРОКТОЛОГИИ  
ИМЕНИ А.Н. РЫЖИХ» МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ  
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**На правах рукописи**

**САФИН АНТОН ЛЮНЕРОВИЧ**

**РОЛЬ КЛОСТРИДИАЛЬНОЙ ИНФЕКЦИИ В  
ВОЗНИКНОВЕНИИ НОЗОКОМИАЛЬНОЙ ДИАРЕИ И  
ДИСФУНКЦИИ СТОМЫ ПОСЛЕ ОПЕРАЦИЙ НА  
КИШЕЧНИКЕ.**

**((14.01.17 - Хирургия))**

**Диссертация на соискание ученой степени кандидата  
медицинских наук**

**Научный руководитель:**

**чл.-корр. РАН,**

**профессор Ю.А. Шельгин.**

**Научный консультант: к.б.н. М.А. Сухина.**

**Москва, 2018 г.**

## ОГЛАВЛЕНИЕ

Список использованных сокращений.....	4
Введение.....	6
Глава 1. <i>Clostridium (Clostridioides) difficile</i> –ассоциированная инфекция (обзор литературы) .....	14
1.1. Патогенез развития CDI.....	16
1.2. Факторы риска развития CDI.....	19
1.3. Клиническая картина CDI.....	26
1.4. Диагностика CDI.....	29
1.5. Лечение CDI.....	32
1.6. Профилактика CDI.....	36
1.7. Заключение.....	39
Глава 2. Общая характеристика больных, методов исследований.....	41
2.1. Клиническая характеристика больных.....	41
2.2. Распределение больных по группам.....	44
2.3. Клиническая характеристика медперсонала.....	49
2.4. Методы исследования.....	50
2.5. Подготовка больных к оперативному вмешательству.....	59
2.6. Санитарноэпидемиологические мероприятия в колопроктологическом отделении.....	61
2.7. Статистические методы оценки результатов.....	63

## Глава 3. Клиническая картина и методы диагностики

кlostридиального колита.....	65
3.1. Клинические проявления кlostридиального колита у колопроктологических больных.....	65
3.1.1. Сроки госпитализации больных с CDI.....	68
3.2. Лабораторная диагностика CDI.....	69
3.2.1 ИХА диагностика <i>C. difficile</i> .....	70
3.2.2 ИФА диагностика <i>C. difficile</i> .....	71
3.2.3 Микробиологическая диагностика <i>C. difficile</i> .....	72
3.2.4 Характеристика методов микробиологической диагностики <i>C. difficile</i> .....	84
3.2.5 Роль лактобактерий при CDI.....	86

Глава 4. Оценка уровня контаминации *Clostridium (Clostridioides) difficile* среди

медицинского персонала.....	89
-----------------------------	----

## Г

Г.1 Однофакторный анализ.....	95
-------------------------------	----

## а

а. Многофакторный анализ.....	102
-------------------------------	-----

а. Заключение.....	104
--------------------	-----

а. Выводы.....	121
----------------	-----

а. Практические рекомендации.....	123
-----------------------------------	-----

а. Факторы риска развития кlostридиального колита.....	95
--	----

а. Список литературы.....	124
---------------------------	-----

## СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ СОК РАЩЕНИЙ

ВИЧ – вирус иммунодефицита человека

ТЛ - тиолактон

ИМТ - индекс массы тела

КОЕ/г - колониобразующие единицы на грамм биоматериала

КТ - компьютерная томография

МРТ - магнитно-резонансная томография

ОШ- отношение шансов

ОР - отношение рисков

РВО - реконструктивно-восстановительная операция

УЗИ - ультразвуковое исследование

CDI - *Clostridium (Clostridioides) difficile* – ассоциированная инфекция

ПЦР - полимеразная цепная реакция

ИФА - иммуноферментный анализ

ИХА - иммунохроматографический анализ

ГДГ - глутаматдегидрогеназа

ИПП - ингибиторы протонной помпы

ПК - псевдомембранозный колит

МИК - минимальная ингибирующая концентрация

ДНК - дезоксирибонуклеиновая кислота

ФНО - фактор некроза опухоли

цАМФ - циклический аденозин монофосфат

АМФ - аденозин монофосфат

АТФ - аденозинтрифосфат

ААД - антибиотико-ассоциированная диарея

ДИ - доверительный интервал

1А группа - пациенты с подтвержденным клостридиальным колитом, обусловленным *Clostridium (Clostridioides) difficile* (n= 163).

2А группа - пациенты, которые не заболели клостридиальным колитом, обусловленным *Clostridium (Clostridioides) difficile*, за весь период нахождения в стационаре (n= 386).

## **ВВЕДЕНИЕ**

*Clostridium (Clostridioides) difficile* - микроорганизм, который является главной причиной развития нозокомиальной диареи [4], [5], [11], [12]. Клиническая манифестация заболевания может варьироваться в широких пределах от легкой диареи до тяжелого жизнеугрожающего колита с формированием токсического мегаколон, перфорации кишечника, сепсиса [3], [29]. Помимо манифестирующего течения болезни, существует бессимптомная колонизация токсигенными клостридиями, которая широко распространена в популяции [2],[50]. Это обстоятельство способствует высокой контаминации бактериями и их спорами окружающей среды, что особенно актуально в медицинском учреждении и может являться потенциальным источником передачи патогена [1], [7]. В этой связи особую важность приобретают санитарно-эпидемиологические мероприятия, снижающие заболеваемость клостридиальным колитом [28]. В то же время получены противоречивые данные многоцентрового рандомизированного исследования, оценивающего эффективность процедур по дезинфекции окружающей среды в медицинских учреждениях. В ходе работы эффективность стандартного и модернизированного метода обработки поверхностей оценивалась при помощи бактериологического исследования, а качество дезинфекции изучалось по степени активности флуоресцентных меток. Авторы сделали вывод, что применение лучшего по качеству модернизированного метода обработки поверхностей не снижает заболеваемость клостридиальным колитом [86].

В настоящее время отмечается неуклонный рост заболеваемости клостридиальным колитом. Так, в Финляндии этот показатель вырос с 16 до 30 человек на 100000 населения с 1996 по 2004 год [72]. Уже в 2008 году заболеваемость увеличилась до 119 человек на 100000 и только благодаря усилению санитарно-эпидемиологических мероприятий ее удалось снизить в 2010 году до 90 заболевших на 100000 населения [53].

Клостридиальный колит значительно увеличивает длительность пребывания

пациентов в стационаре и затраты на их лечение [81]. Так, в исследовании, включающем в себя пациентов с различными заболеваниями, при присоединении клостридиального колита продолжительность госпитализации увеличивается в среднем на 21 день ( $p < 0,001$ ), а стоимость лечения на 17000 австралийских долларов ( $p < 0,001$ ) [23].

Широкое использование в медицинской практике антибактериальных препаратов, приводит к селективному отбору резистентных штаммов *C. difficile* и создает большую проблему в назначении эффективной терапии [60], [95].

В систематическом обзоре была оценена частота неэффективности лечения клостридиального колита при назначении специфических антибактериальных препаратов. При терапии первого эпизода заболевания отсутствие эффекта наблюдалось у 22,4% больных, принимающих метронидазол и в 14,2% - ванкомицин ( $p = 0,002$ ) [96].

Ассоциацией американских гастроэнтерологов в 2013 году были опубликованы данные о распространенности *C. difficile* среди населения. Surawicz С.М. показала, что носителями микроорганизма являлись 15% здоровых взрослых, 57% пожилых людей в домах престарелых и 84 % новорожденных [94]. В другом исследовании из Китая была оценена колонизация *C. difficile* у здоровых детей различных возрастных групп. В 15 (7,4%) образцах стула были обнаружены гены, кодирующие токсины *C. difficile* [99].

Весьма интересные данные о колонизации токсигенными *C. difficile*, получены в исследовании из Японии. Из 284 обследованных медицинских работников 12 (4,2%) являлись носителями *C. difficile*. Все они не применяли антибактериальные препараты в ближайшие 4 недели до тестирования [55].

Нахождение больных в колопроктологическом стационаре сопряжено с большим количеством контактов, как с персоналом, так и другими пациентами в условиях существования того или иного спектра нозокомиальной микрофлоры. В последнее

время все чаще в отделения колопроктологии госпитализируются пациенты старшей возрастной группы, что создает предпосылки к возникновению осложнений, таких как клостридиальный колит. Кроме того, у пациентов в послеоперационном периоде часто развивается парез желудочно-кишечного тракта, что требует установки назогастрального или назоинтестинального зонда для энтерального питания, что так же является фактором риска развития клостридиальной инфекции. Ряд пациентов, поступающих в колопроктологический стационар, зачастую изначально имеют скомпрометированный иммунный статус, что может быть обусловлено, как основным заболеванием (онкологические, воспалительные заболевания кишечника), так и сопутствующей патологией (сахарный диабет, хроническая болезнь почек), необходимостью проведения противоопухолевой, стероидной, биологической терапии.

Все эти обстоятельства побудили нас в период с 15.12.2015 г. по 31.12.2016 г провести проспективное исследование.

### **Цель исследования**

Оценить роль клостридиальной инфекции в возникновении нозокомиальной диареи и дисфункции стомы после операций на кишечнике.

### **Задачи исследования**

1. Изучить распространение *C. difficile*, заболеваемость клостридиальным колитом среди больных колопроктологического профиля и влияние на сроки госпитализации.
2. Оценить факторы риска развития клостридиального колита.
3. Определить частоту носительства токсигенных клостридий среди медицинского персонала колопроктологического отделения.



4. Выявить влияние непосредственных результатов введения нового алгоритма уборки на заболеваемость клостридиальным колитом в колопроктологических отделениях.
5. Определить диагностическую значимость лабораторных методов в постановке диагноза клостридиального колита.
6. Изучить возможную полиэтиологическую структуру клостридиального колита.
7. Выявить резистентность *C. difficile* к основным антибактериальным препаратам.

### **Научная новизна**

Впервые в России проведено проспективное исследование, которое оценило уровень заболеваемости клостридиальным колитом в колопроктологическом стационаре, которая составила 78,3 случаев на 1000 пациентов в год и пораженность больных *C. difficile* - 51%.

Оценена диагностическая значимость лабораторных методов в постановке диагноза клостридиального колита.

При ИХА ГДГ чувствительность теста составила - 43%, а специфичность - 85 %. При использовании ИФА для определения ГДГ чувствительность была - 22%, а специфичность - 94%. При выявлении токсина А при помощи ИХА чувствительность была - 20%, а специфичность - 86%. При детекции токсина В тем же методом чувствительность составила - 63%, специфичность - 56%. Так при определении токсинов при ИФА чувствительность тест-системы была - 48%, а специфичность - 94%.

Установлено, что клиническая картина клостридиального колита может быть обусловлена другими представителями рода *Clostridium (Clostridioides)*.

Определена степень резистентности *C. difficile* к основным антибактериальным препаратам в российском колопроктологическом стационаре.

Проведенное исследование продемонстрировало высокий уровень контаминации токсигенными клостридиями среди медицинского персонала без выявления различий между врачебным и средним медицинским персоналом.

В ходе работы доказана эффективность внедренного алгоритма санэпидмероприятий в снижении заболеваемости CDI.

### **Практическая значимость работы**

1. Определена диагностическая значимость ИХА и ИФА в постановке диагноза клостридиального колита.
2. Данные, полученные в ходе исследования, легли в основу разработанных федеральных клинических рекомендаций по теме: «*Clostridium difficile*-ассоциированная диарея».
3. Установлено, что применение нового алгоритма уборки эффективно снижает заболеваемость клостридиальным колитом в 2,6 раза.
4. Следует расценивать детекцию микроорганизмов рода *Clostridium* (*Clostridioides*) в исследованных фекалиях в титре более  $10^5$  КОЕ/г при нозокомиальной диарее, как этиологический агент клостридиального колита у колопроктологических пациентов.
5. Обнаружена высокая частота носительства токсигенных клостридий среди медицинского персонала колопроктологического стационара.
6. Выявлена резистентность *C. difficile* к основным антибактериальным препаратам для лечения клостридиальной инфекции, так для ванкомицина она составляла 4%, а для метронидазола – 20%.

### **Основные положения, выносимые на защиту**

1. Установлены факторы риска клостридиальной инфекции в возникновении нозокомиальной диареи и дисфункции стомы после операций на кишечнике.

2. Выполнение нового комплекса санитарноэпидемиологических мероприятий в колопроктологическом отделении снижает заболеваемость клостридиальным колитом.
3. Медицинские работники являются носителями токсигенных клостридий.
4. *Clostridium (Clostridioides) difficile* у пациентов колопроктологического стационара имеют большую частоту антибиотикорезистентных штаммов.
5. Пациенты российского колопроктологического стационара имеют 50% уровень носительства *C. difficile*.

### **Основные положения работы доложены на отечественных и международных конференциях**

- 1) Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «Риск-ориентированные технологии в обеспечении эпидемиологической безопасности медицинской деятельности», 27-29 сентября 2017 года, г. Пермь (Протокол №15 от 27.09.2017г. общего собрания членов НП «НАСКИ» и протокол №11 от 27.09.2017г. заседания Профильной комиссии МЗ РФ по эпидемиологии), утверждены федеральные клинические рекомендации по теме: «*Clostridium difficile*-ассоциированная диарея».
- 2) XVIII Международный конгресс МАКМАХ/ESCMID по антимикробной терапии, 2016 год. Антагонистическая активность лактобацилл и возможности ее использования для подавления роста *Clostridium difficile*. Сухина М.А., Сафин А.Л.
- 3) Всероссийский Съезд колопроктологов «Оперативная и консервативная колопроктология: современные технологии для высокого качества жизни пациентов» и Объединенный Каспийский и Байкальский форум по проблемам ВЗК 25-27.08.2016 г. Город Астрахань. Оценка патогенности *Clostridium difficile*. Сухина М.А., Сафин А.Л.
- 4) International Sepsis Forum 2017, Institute Pasteur, Paris, France, 12 of September, 2017. Chemiluminescent analysis of the neutrophil function: from bench to bedside.

Igor V. Obraztsov, Marina A. Sukhina, Sergey I. Achkasov, Oleg I. Sushkov, Anton L. Safin.

5) 27th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. Clinical Microbiology and Infection. *Clostridium difficile* associated infection in Russia: epidemiology, virulence, pathophysiological aspects. Sukhina M., Safin A., Obraztsov I., Mikhalevskaya V.

б) «Кашкинские чтения», Санкт-Петербург, 2017 год. *Clostridium difficile* – ассоциированная диарея: распространение у пациентов колопроктологического стационара, эпидемиология и вирулентность. Михалевская В.И., Сухина М.А., Сафин А.Л.

Результаты исследования представлены в 18 (6 - статей, 12 - тезисов) печатных работах в периодических журналах, рекомендуемых ВАК для публикаций материалов кандидатских и докторских диссертаций.

### **Личное участие автора**

Автором лично проведено включение в исследование пациентов, контроль за выполнением сдачи необходимых анализов, осуществление расчетов, оценка результатов, оформление работы, написание научных статей и тезисов. Данные, полученные в результате исследования, легли в основу федеральных клинических рекомендаций по теме: «*Clostridium difficile* - ассоциированная диарея».

### **Соответствие диссертации Паспорту научной специальности**

Область диссертационного исследования Сафина А.Л. включает изучение клостридиального колита, как осложнения, возникающего у оперированных больных в хирургическом стационаре. А также внедрение в практическую работу нового алгоритма уборки и дезинфекции в колопроктологическом отделении, что соответствует паспорту специальности 14.01.17 - Хирургия.

### **Структура и объем диссертации**

Диссертационная работа состоит из введения, пяти глав, обсуждения, выводов, практических рекомендаций, указателя литературы и изложена на 134 страницах текстом, набранном на компьютере в редакторе Word MS Office 2011 for Windows шрифтом Time New Roman кеглем №14. Содержит 18 таблиц, 6 рисунков, указатель литературы содержит ссылки на 100 источников, из которых 12 – отечественные публикации и 88 – зарубежные.

Выражаю благодарность моему научному руководителю, директору ФГБУ "ГНЦК им А.Н. Рыжих" Минздрава России, члену-корреспонденту РАН, профессору, доктору медицинских наук Шельгину Юрию Анатольевичу за предоставленную возможность выполнить настоящее исследование.

Также хочу выразить искреннюю благодарность руководителю отдела онкологии и хирургии ободочной кишки, доктору медицинских наук, профессору Ачкасову Сергею Ивановичу и старшему научному сотруднику отдела онкологии и хирургии ободочной кишки, кандидату медицинских наук Сушкову Олегу Ивановичу за помощь в написании данной работы. Особую благодарность приношу руководителю отдела микробиологических исследований, кандидату биологических наук Сухиной Марине Алексеевне.

Выражаю огромную признательность всему коллективу ФГБУ "ГНЦК им А.Н. Рыжих" Минздрава России и, отдельно, сотрудникам отдела онкологии и хирургии ободочной кишки за помощь и поддержку в проведении данного исследования.

## ГЛАВА 1. *CLOSTRIDIUM (CLOSTRIDIOIDES) DIFFICILE* – АССОЦИИРОВАННАЯ ИНФЕКЦИЯ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ).

*Clostridium (Clostridioides) difficile* – ассоциированная инфекция (*C. difficile* infection - CDI) занимает особое место в структуре инфекционной диареи в колопроктологическом стационаре. В тяжелых случаях CDI проявляется развитием псевдомембранозного колита (ПК), апогеем которого может стать сепсис, токсический мегаколон, перфорация кишечника. Формирование подобных осложнений обуславливает высокую летальность в этой группе пациентов [8].

Весьма интересны и заставляют задуматься о проблеме CDI сведения о распространенности *C.difficile* среди населения. Так, Surawicz С.М. в 2013 году показала, что носителями микроорганизма являлись до 15% здоровых взрослых, 84 % новорожденных, 57% пожилых людей в домах престарелых [94].

В настоящее время отмечается рост заболеваемости CDI в индустриально-развитых странах. Этот факт подтверждается данными исследования Reveles К.Р. из США, где значительный рост этого показателя произошел в период с 2001 по 2010 год, когда он увеличился с 45 до 82 случаев на 100000 населения [87].

Та же тенденция прослеживается в сообщении исследователей из Италии Alicino С., проведенном с 2010 по 2014 год в университете Генуи. Показано что заболеваемость CDI значительно выросла - с 0,54 до 30,4 случаев на 100000 взрослого населения ( $p<0,001$ ) [16].

Высокая смертность, связанная с CDI, так же характеризует чрезвычайную агрессивность данной инфекции. Так в 2013 году в Великобритании (население 64,1 млн человек) умерло 3000, а в США (население 316,5 млн человек) - 20000 заболевших [80].

Данные, подчеркивающие клиническую важность факта носительства *C.difficile*, полученные в когортном исследовании Vliхt Т. в университетских больницах Дании при скрининговом исследовании 4508 пациентов демонстрируют, что риск возникновения клостридиальной инфекции в 1,8 раз выше у носителей

микроорганизма (ОШ=1,79; ДИ95%: 1,16-2,76). При отсутствии инфицирования CDI развивалась в 2,2%, а при выявленном носительстве - в 4,2% наблюдений ( $p=0,026$ ) [19].

В исследовании Купе L. из 47 пациентов, которые приобрели возбудителя находясь в стационаре, у 28 больных развилась CDI. Причем 19 из них оставались бессимптомными носителями, пребывая в хирургическом стационаре и в течение 30 дней после выписки. Было установлено, что при колонизации средний уровень иммуноглобулина G в сыворотке крови (антитела против токсина типа A) был значительно выше у бессимптомных носителей, чем у пациентов, у которых развилась CDI ( $p<0,001$ ) [64].

Таким образом, можно констатировать, что из медицинской проблемы CDI превратилась в социально-экономически значимую.

По результатам исследования, опубликованного Aguado J.M. в 2015 году, у 25% пациентов, перенесших CDI в течение 30 дней после окончания лечения, отмечался рецидив заболевания. У больных, которые имели один эпизод возврата заболевания, риск последующего достигал 60% [14].

По данным O'Brien J.A., расходы на лечение и организационные мероприятия, направленные против CDI, в США в 2006 году превысили 3,2 млрд. долларов [77]. В исследовании Shah D.N., проведенном в период с 2007 по 2013 год в университете Хьюстона (США), куда входило 540 больных первичной и рецидивирующей CDI, было показано, что средняя стоимость лечения пациентов с первичной CDI составила 13168 долларов, а с рецидивирующей формой – более, чем в два раза выше - 28218 долларов ( $p<0,0001$ ) [90].

*Clostridium (Clostridioides) difficile* - спорообразующая грампозитивная палочка. По типу дыхания ее относят к облигатным анаэробным микроорганизмам. Патогенность *C. difficile* связывают с наличием капсулы, с синтезом адгезинов, ферментов - металлопротеаз, а также с продукцией токсинов A, B и бинарного токсина [79].

Развитие CDI провоцируется применением антибактериальных препаратов, коморбидностью, хирургическими вмешательствами, приемом препаратов, вызывающих иммунодепрессию, а также биологическими особенностями самого возбудителя, в частности способностью к образованию мощной биопленки.

Бактериальная биоплёнка - это надклеточная система, состоящая из бактериальных клеток и ассоциированного с ними внеклеточного полимерного матрикса [6]. Способность и интенсивность образования биопленки является одним из факторов вирулентности бактерии, обеспечивает ее резистентность к антибактериальным препаратам, сохранение и распространение *Clostridium (Clostridioides) difficile* в окружающей среде, что приводит к персистенции бактерии в госпитальной среде и вызывает неблагоприятную санитарно-эпидемиологическую ситуацию в стационаре.

Бактериальная биопленка позволяет патогенным микроорганизмам становиться недоступными для распознавания иммунной системой и действия антибактериальных препаратов. Микроорганизмы способны образовывать биопленки как на биотических, так и на абиотических поверхностях: в больничных палатах, вентиляционных системах, на медицинском оборудовании. Таким образом, способность к биопленкогенезу обеспечивает сохранение и распространение *Clostridium (Clostridioides) difficile* в окружающей среде, являясь источником внутрибольничной инфекции [59].

Особенно актуальным в настоящее время является изучение проблемы CDI у больных колопроктологического профиля, так как они имеют широкий спектр факторов риска ее развития [3]. Нельзя не отметить неуклонный рост носителей *C. difficile* во всем мире, отсутствие единого алгоритма диагностики, несвоевременное назначение этиотропной терапии и проведение санитарно-эпидемиологических мероприятий, что и способствует распространению возбудителя в стационаре [18].

### **1.1. Патогенез развития *C. difficile* инфекции.**



Аутохтонная микробиота кишечника обеспечивает колонизационную резистентность макроорганизма, а ее нарушение приводит к дисбиозу, который характеризуется изменением качественного и количественного составов. Способность аутохтонной микробиоты сдерживать рост патогенных бактерий обусловлена конкурентной борьбой за место обитания и питательные вещества в кишечнике, а также синтезом специфических веществ, ингибирующих рост бактериальных популяций [66].

Заселение кишечника токсигенными штаммами *C. difficile*, их пролиферация приводит к развитию CDI. Морфологические изменения в стенке кишки, обусловленные бактерией, характеризуются поверхностным некрозом слизистой оболочки толстой кишки с образованием "псевдомембран" - эксудативных бляшек. При отсутствии эффективной специфической антибактериальной терапии, направленной против *C. difficile*, инфекция способна прогрессировать и вызывать обширные воспалительные изменения в стенке кишки [33].

Клостридиальный колит развивается при попадании токсигенных штаммов *C. difficile* в организм из окружающей среды. Однако клиническая картина заболевания разворачивается не всегда. Причиной тому являются не только защитные свойства нормальной микробиоты кишечника, но и реализация антитело-опосредованного ответа. При нарушении баланса микроорганизмов и повреждении слизистой оболочки толстой кишки *C. difficile* колонизируют кишечник, образуют вегетативные формы, секретирующие токсины. Их синтез кодируется соответствующими генами, что лежит в основе молекулярно-биологических методов диагностики *C. difficile* [21].

Токсин А действует на кишечный эпителий, вызывая выраженную секрецию жидкости, воспаление и некроз слизистой оболочки. Механизм действия токсина В обусловлен мощным цитотоксическим действием, вызывающим гибель клеток кишечного эпителия [57].

С 2003 года в Северной Америке и Европе отмечается неуклонный рост заболеваемости CDI, который связывают с появлением нового

высоковирулентного штамма *Clostridium (Clostridioides) difficile* - ПЦР риботипа 027 BI/NAP1/027, характеризующегося усиленной продукцией А, В и бинарного токсинов. Его появление связано с мутацией, характеризующейся сдвигом рамки в негативном регуляторе гена, кодирующего выработку токсина. При этом происходит усиленная продукция токсинов, что клинически проявляется развитием тяжелой диареи [24]. Риботип 027 BI/NAP1/027 содержит дополнительный фактор вирулентности - способность к синтезу бинарного токсина, который образует на поверхности колоноцита комплекс, состоящий из ADP-рибозил-трансферазы и рецептора, который проникает в клетку путем рецептор-опосредованного эндоцитоза и эндосомального обмена. Оказавшись внутри цитоплазмы, этот комплекс нарушает нормальные клеточные функции посредством ADP-рибозилирования глобулярного актина, что вызывает дезорганизацию цитоскелета и приводит к гибели клетки [15]. Помимо этого, бинарный токсин улучшает адгезию и увеличивает способность к колонизации *C. difficile*, индуцируя синтез микротрубочек в основании клеточных выступов, что способствует более легкому прикреплению к колоноцитам [75].

*C. difficile* образует споры, защищающие микроорганизм от повреждающего воздействия кислорода, температуры, радиации, химических и дезинфицирующих веществ. Способность микроорганизма к образованию спор играет важную роль в распространении CDI. Данное обстоятельство необходимо учитывать при проведении противоэпидемических мероприятий в колопроктологическом стационаре [13].

Одним из побочных эффектов применения антибактериальных препаратов является то, что они способствуют селекции резистентных микроорганизмов. Это обстоятельство лежит в основе появления бактерий с множественной лекарственной устойчивостью. При этом, растущая популяция *C. difficile* синтезирует токсин-индуцирующий мессенджер, относящийся к группе тиолактон (ТЛ), который накапливается во внеклеточной среде. После того, как его локальная концентрация достигает порогового уровня, происходит активация

двухкомпонентной системы AgrC2A2. В результате этого повышается активность транскрипции генов, кодирующих токсины. Обнаружение ТЛ методом ПЦР в образцах стула у пациентов с CDI показывает, что этот активный процесс играет ключевую роль в развитии клостридиального колита.

Разработанные новые генетические тест-системы для диагностики *Clostridium (Clostridioides) difficile* позволили раскрыть механизм передачи сигнала AgrC2A2. Известно, что информация о мессенджере и процессе формирования ответа на него закодированы в различных локусах ДНК [98]. Использование гаплоидного генетического скрининга позволило определить липопротеин, являющийся мембранным рецептором *C. difficile*, функция которого заключается в стимулировании липолиза и участие в адгезии к клеткам мишеням. Это вещество необходимо изучать более глубоко с целью его возможного использования для создания вакцины против CDI [25].

## **1.2. Факторы риска развития CDI.**

Факторы риска развития CDI можно разделить на три основные группы:

### **1. Факторы, влияющие на нормальную микрофлору кишечника**

Прежде всего к ним относят прием антибактериальных препаратов или других лекарственных средств [3].

### **2. Контакт пациентов с *Clostridium (Clostridioides) difficile***

Реализация данного фактора возможна, как в стационаре, так и в учреждении с длительным пребыванием.

### **3. Факторы пациента**

К факторам, повышающим риск CDI, ассоциированным с больным относят как его иммунный статус, наличие сопутствующих заболеваний, так и хирургическое лечение. Стоит отметить, что оперативное вмешательство - это многокомпонентный фактор, который часто присутствует совместно с другими причинами.

### **Факторы, влияющие на нормальную микробиоту кишечника.**

Существует множество факторов, влияющих на микробиоту кишечника. Так, в послеоперационном периоде у колопроктологических пациентов часто требуется назначение антисекреторных препаратов для профилактики стрессовых язв. Использование ингибиторов протонной помпы (ИПП) увеличивает вероятность возникновения CDI. В ретроспективном фармакоэпидемиологическом исследовании в США на основании базы данных, включающей 35312 пациентов, находящихся на искусственной вентиляции легких, было оценено влияние ИПП на частоту развития осложнений, в том числе CDI. В 1 группе 13439 (38,1%) больных получали H<sub>2</sub>-блокаторы. Во 2-ой 21873 (61,9%) пациентам назначались ИПП в качестве профилактической противоязвенной терапии. CDI развивалась у 2,2% и 3,8% пациентов в 1 и во 2 группе, соответственно ( $p=0,001$ ). Исследователи пришли к выводу, что применение ИПП статистически значимо сопряжено с большим риском возникновения CDI, чем при использовании H<sub>2</sub>-блокаторов [73].

Широкое применение антибактериальных препаратов в клинической практике с профилактической и лечебной целью у пациентов с вмешательствами на толстой кишке в периоперативном периоде также увеличивает вероятность возникновения CDI. Так, в многоцентровом исследовании, проведенном в Нидерландах в период с 2006 по 2009 годы, исследовалась частота развития CDI у больных, получавших антибактериальные препараты из группы цефалоспоринов и пенициллинов. Было выделено 3 группы пациентов: I - 337 больных с клиникой диареи и положительным тестом на токсин A и B *C. difficile*; II - 337 больных без диареи; III - 227 пациентов с диареей, не связанной с CDI. Исследователи установили период повышенного риска возникновения CDI после антибиотикотерапии. Так, имелось 10-кратное увеличение риска возникновения клостридиальной инфекции во время использования антибиотиков ОШ=(6,7-10,4). Он значительно снижался в период до 3 месяцев после отмены препарата ОР=2,7. Анализ результатов исследования показал, что риск возникновения CDI при использовании цефалоспоринов второго (ОШ=3,47; ДИ95%: 1,95-6,16) и третьего поколения (ОШ=5,53; ДИ95%: 3,39-9,01),

карбапенемов (ОШ=4,5; ДИ95% 1,52-13,3) был значительно выше. Противоречивые и интересные, но в то же время трудные для интерпретации данные, получены по приему метронидазола. В исследовании было показано, что он увеличивает риск возникновения CDI более, чем в 3 раза (ОШ=3,31; ДИ95%: 1,78-6,15), хотя известно, что метронидазол может применяться для ее лечения [44].

### **Контакт пациентов с *Clostridium (Clostridioides) difficile*.**

Нахождение больного в колопроктологическом стационаре сопряжено с большим количеством контактов, как с персоналом, так и другими пациентами в условиях существования того или иного спектра нозокомиальной микрофлоры. В последнее время все чаще в отделения колопроктологии госпитализируются пациенты из возрастной группы старше 65 лет, что создает предпосылки к возникновению осложнений, таких как CDI, учитывая большую частоту носительства *Clostridium (Clostridioides) difficile* в этой группе больных. Кроме того, у пациентов в послеоперационном периоде часто развивается парез желудочно-кишечного тракта, что требует установки назогастрального или назоинтестинального зонда для энтерального питания. Эта манипуляция также способствует росту заболеваемости CDI.

В ретроспективном исследовании в Сеульском национальном университете была изучена зависимость частоты возникновения рецидивов CDI от возраста, фактора зондового питания и типа применяемого антибиотика. В период с 2006 по 2007 год из 125 пациентов с CDI у 27 (21,6%) наблюдался рецидив инфекции в течение 90 дней после лечения. Частота повторных заболеваний у больных, принимающих метронидазол для лечения CDI, не отличалась от таковой у лиц, получавших ванкомицин и составила 21,2% и 16,7% наблюдений, соответственно ( $p=0,09$ ). Пациенты старше 65 лет были более склонны к развитию возврата инфекции, чем больные молодого возраста - в 59,3% и 31,6% случаях, соответственно ( $p=0,021$ ). У получавших зондовое питание рецидивы CDI развивались статистически достоверно чаще, чем у больных, которым зонд не устанавливался - в 48% и 23%

случаях, соответственно ( $p=0,045$ ) [58]. Аналогичные данные получены и в исследовании Potter V.A. [82].

Нередко больные повторно поступают в колопроктологический стационар из других медучреждений после перенесенного хирургического вмешательства по этой причине их относят к группе риска в отношении развития CDI. В клиническом центре университета города Тузла в период с 2009 по 2012 годы, в исследование было включено 989 пациентов с клинической картиной клостридиальной инфекции. У 347 (35,1%) пациентов был выявлен токсин *C. difficile* в кале, причем 79,5% из них находились в палате с пациентом с диагностированной ранее CDI. У 92,8% больных выявленная инфекция была связана с оказанием медицинской помощи. Предыдущая госпитализация в стационар увеличивала риск возникновения CDI [100].

Еще одним значимым фактором, влияющим на увеличение риска возникновения CDI, является пребывание в больнице более 2-х недель. В исследовании, проведенном в Шанхае, нозокомиальная диарея развилась у 240 (3,1%) из 7724 больных, находящихся на стационарном лечении. У 90 (37,5%) из 240 пациентов с диареей диагностирована CDI. Было показано, что у больных, подвергшихся госпитализации более 14 дней, вероятность возникновения клостридиальной инфекции статистически достоверно выше (ОШ=3,29; ДИ95%: 1,59-6,80;  $p=0,001$ ) [46].

Операции на толстой кишке сопровождаются частым развитием CDI, по сравнению с хирургическими вмешательствами на других органах. В исследовании Abdelsattar Z.M., которое проходило в период с 2012 по 2013 год, в отделении хирургии штата Мичиган, США, было рекрутировано 35363 больных, которым были выполнены различные операции. В результате в стационаре у 179 (0,51%) больных развилась CDI. У пациентов, оперированных на кишечнике, клостридиальная инфекция возникла в 2 раза чаще (ОШ=2;  $p=0,04$ ), чем при вмешательствах на других органах и системах. Схожие данные получены у больных, подвергшихся операциям на желудке и пищеводе (ОШ=2,1;  $p=0,04$ ) [14].

### **Факторы пациента.**

Пациенты, поступающие в колопроктологический стационар, зачастую имеют изначально скомпрометированный иммунный статус, что может быть обусловлено, как основным заболеванием (онкологические, воспалительные заболевания кишечника), так и сопутствующей патологией. Помимо этого, следует принимать во внимание такие факторы, как возраст старше 65 лет, истощение, анемия, необходимость проведения иммуносупрессивной терапии [92].

В 2014 году Deshpande A. опубликовал мета-анализ, в который включено 6 исследований, посвященных изучению факторов риска возникновения CDI, связанных с пациентами. Общее число исследованных составило 3375 человек. Проведенный анализ показал, что у пациентов в возрасте старше 65 лет статистически достоверно выше риск развития рецидива CDI, чем у больных более молодого возраста (ОШ=1,63; ДИ95%: 1,24–2,14;  $p=0,0005$ ). Так же в этом мета-анализе было продемонстрировано, что у 46 % пациентов, находящихся в домах престарелых, был выявлен токсин *Clostridium (Clostridioides) difficile* в кале при отсутствии каких-либо клинических проявлений. И, безусловно, этот факт свидетельствует о том, что носители *C. difficile* находятся в группе риска возникновения клостридиального колита. В другом мета-анализе, в который включено 4 исследования, и общее число пациентов составило 7599 человек, было установлено, что с увеличением возраста больных на 1 год увеличивается риск возникновения рецидива клостридиальной инфекции (ОШ=1,02; ДИ95% : 1,01-1,02;  $p<0,00001$ ) [27]. Схожие данные были получены и в исследовании, проведенном в 2014 году Rodriguez C.[88].

В структуре пациентов, госпитализированных для хирургического лечения, необходимо выделять больных с воспалительными заболеваниями кишечника. Они часто требуют назначения терапии анти-ФНО препаратами, что, несомненно, повышает риск возникновения клостридиальной инфекции. Так, в Северной Америке и Европе распространенность клостридиальной инфекции у пациентов, страдающих воспалительными заболеваниями кишечника, резко возросла за

последние несколько десятилетий. По данным Zhang T. применение инфликсимаба у этой группы пациентов увеличивало вероятность клостридиального колита более чем в 2 раза (ОШ = 2,60; ДИ95%: 1,16-5,81;  $p < 0,001$ ), а совместное назначение этих препаратов повышало вероятность данного осложнения в 5 раз (ОШ=4,53; ДИ95%: 1,26-16,32;  $p=0,021$ ). Сочетанное применение инфликсимаба и метронидазола увеличивало частоту развития клостридиального колита в 6 раз (ОШ=5,69; ДИ95%: 1,47-22,05;  $p=0,012$ ) [100]. Схожие данные получены в исследованиях Hashash J.G. [43] и Dave M. [26].

Больным с воспалительными заболеваниями кишечника часто требуется назначение глюкокортикостероидов, что так же увеличивает риск возникновения клостридиальной инфекции у этой группы пациентов. Schneeweiss S., используя базу данных здравоохранения Британской Колумбии, показал трехкратное увеличение риска развития CDI у лиц, которым назначались глюкокортикостероиды вне зависимости от дозы и длительности приема препарата в виде монотерапии (ОШ=2,65; ДИ95%: 1,53-4,57) и в качестве дополнительного иммуномодулирующего лечения (ОШ=3,38; ДИ95%: 1,88-6,1) [89].

Пациенты, поступающие в колопроктологическое отделение для хирургического лечения и имеющие сахарный диабет в качестве сопутствующего заболевания, совершенно особая группа больных. У этой категории пациентов ситуация резко усугубляется при развитии CDI. Так, в исследовании Qu H.Q. из университета Техаса США было показано, что диабет увеличивает риск возникновения рецидивирующей CDI почти в 3 раза (ОШ=2,99; ДИ95%: 1,88-4,76) [84].

В другом исследовании Eliakim-Raz N. сравнивал частоту развития клостридиальной инфекции у больных с сахарным диабетом и без него. Он установил, что больные с сахарным диабетом второго типа в 2,5 раза чаще подвержены CDI, чем здоровые лица. В тоже время лечение метформином пациентов с сахарным диабетом связано со снижением риска возникновения клостридиальной инфекции (ОШ=0,58; ДИ95%: 0,365-0,928;  $p=0,022$ ). По мнению авторов, этот эффект объясняется качественными и количественными



изменениями в кишечной микробиоте, выражающимися в уменьшении соотношения бактерий рода Firmicutes и Bacteroides, что возможно оказывает антагонистический эффект против *C. difficile*. Так же было показано, что сахарный диабет ассоциирован с высокой вероятностью возникновения рецидива CDI (ОШ=2,99; ДИ95%: 1,88-4,76) [35].

Колопроктологические пациенты часто имеют исходно низкий уровень альбумина крови. В послеоперационном периоде гипоальбуминемия развивается у большого числа оперированных колопроктологических больных. Она же, по мнению Lee H.C., так же является фактором риска CDI. Из 241391 пациентов колопроктологических отделений, включенных в исследование, у 225 больных развитие диареи было обусловлено *Clostridium (Clostridioides) difficile*. У пациентов с низкими показателями альбумина в биохимическом анализе крови инфекция возникала статистически достоверно чаще в 1,3 раза, чем при нормальном значении этого показателя ( $p=0,005$ ) [68]. Похожие данные получены в исследовании Goudarzi M. [38].

Наличие у колопроктологических больных хронической болезни почек так же вносит свой вклад в рост заболеваемости CDI, особенно при развитии хронической почечной недостаточности. Так, в мета-анализе Phatharacharukul P., включающем в себя 20 исследований, в которых оценивалось влияние патологии почек на возникновение клостридиальной инфекции, было показано, что риск возникновения CDI у пациентов с хронической болезнью почек статистически значимо выше, чем у пациентов без нее (ОШ=1,95; ДИ95%: 1,81-2,1). Развитие почечной недостаточности приводит к еще большему росту частоты клостридиальной инфекции (ОШ=2,63; ДИ95%: 2,04-3,38) [78].

В настоящее время в структуре госпитализированных больных редко встречаются пациенты после перенесенной трансплантации органов. В то же время, неуклонное развитие высокотехнологичной медицинской помощи может сделать эту проблему актуальной в ближайшем будущем, в том числе и в колопроктологическом стационаре.

По мнению ряда авторов, пациенты после трансплантации органов также представляют собой группу повышенного риска в отношении возникновения CDI. Это связано как с самим оперативным вмешательством, приемом антибактериальных препаратов, так и с последующей иммуносупрессивной терапией. В исследовании, проведенном в США Donnelly J.P. в период с 2012 по 2014 год, было установлено, что среди реципиентов после трансплантации органов CDI возникала в пять раз чаще, чем у больных, которым трансплантация не выполнялась – в 209 и 41 случаях на 10000 человек, соответственно ( $p < 0,001$ ) [17],[25].

В последнее время в клинической практике все чаще встречаются иммунодефицитные состояния, и они безусловно являются фактором, значительно повышающим риск возникновения клостридиальной инфекции. Это особенно заметно прослеживается у пациентов с ВИЧ-инфекцией. Так, в исследовании Haines C.F., проведенном в США, выявлено 152 случая CDI из 602 пациентов с подтвержденной ВИЧ-инфекцией. При этом заболеваемость в данной группе составила 83 заболевших на 10000 человек. Так же необходимо отметить, что снижение уровня CD-4 лимфоцитов у ВИЧ-инфицированных пациентов ниже 50 клеток/мкл ассоциировано с высокой частотой возникновения CDI (ОШ=20,7; ДИ95%: 2,8-151,4) [41]. Эти данные подтверждаются исследованием Di Bella S. [16].

### **1.3. Клиническая картина *C. difficile* инфекции.**

Псевдомембранозный колит (ПК) – это заболевание, характеризующееся повреждением слизистой оболочки с очаговыми или диффузными фибринозными наложениями в толстой кишке в результате воздействия факторов патогенности *Clostridium (Clostridioides) difficile*. Иногда подобная эндоскопическая картина может наблюдаться в тонкой кишке, желудке и пищеводе [32].

Причины возникновения ПК на первом этапе его изучения, до применения антибиотиков, связывали преимущественно с оперативными вмешательствами,

которые, по мнению авторов, осложнялись септическим шоком. Высказывались так же предположения о роли сердечной недостаточности, интоксикации и других факторов, способствующих повреждению слизистой оболочки.

Новый этап в изучении ПК начался в 70-е годы прошлого столетия, когда выделенная из фекалий больных культура *C. difficile* вводилась хомякам в сочетании с антибактериальными препаратами, что вызывало у них развитие клостридиального колита с летальным исходом. Таким образом, была доказана инфекционная природа псевдомембранозного колита. Роль антибактериальных препаратов, которые получали больные с колитом, сводилась к подавлению микрофлоры в кишечнике и созданию условий для роста *Clostridium (Clostridioides) difficile*, обладающих резистентностью к большинству антибиотиков [66].

Клиническим проявлением CDI является диарея, для которой характерно наличие водянистого жидкого стула небольшими порциями, с частотой 3 и более раз в сутки. При этом, у больных отмечается повышение температуры тела до субфебрильных значений, лейкоцитоз со сдвигом лейкоцитарной формулы влево. Нередко больных беспокоят боли в животе спастического характера. В некоторых случаях при пальпации выявляется мышечная защита передней брюшной стенки. Длительный и упорный характер диареи часто приводит к развитию у больных водно-электролитных нарушений, снижению плазменного уровня альбумина, гиповолемии, гипотензии и развитию отеков вплоть до анасарки. Крайне редко развиваются кровотечения из эрозий и язв желудочно-кишечного тракта, что в ряде случаев является причиной вторичной анемии. В этих ситуациях у больных определяется положительная реакция на скрытую кровь в кале [57].

В литературе встречается описание молниеносного течения клостридиального колита, при котором диарейный синдром может отсутствовать, а на первый план выходят симптомы острой токсической дилатации [15].

Предполагается, что у 3-8% пациентов развивается молниеносная форма CDI, которая характеризуется задержкой стула, обусловленной токсическим мегаколон, возникновением перфорации толстой кишки с последующим развитием

перитонита и септического шока. Эти пациенты требуют оперативного вмешательства в объеме колэктомии и имеют высокий риск летального исхода [75]. В американских клинических рекомендациях выделяют легкую, среднетяжелую и тяжелую форму CDI.

Легкая форма заболевания характеризуется диареей и незначительной болью в животе. Клостридиальный колит может приводить к нарушению водно-электролитного баланса, обезвоживанию, вплоть до развития судорог. При этом, даже при развитии легкой формы у пациента с сопутствующими заболеваниями, особенно в послеоперационном периоде, CDI может значительно ухудшить состояние и прогноз на выздоровление [49].

Среднетяжелая форма CDI характеризуется развитием диареи, повышением температуры тела до 38<sup>0</sup>С. Создается впечатление, что данная форма заболевания выделена искусственно, ввиду отсутствия четких критериев, позволяющих ее отличить от легкой и тяжелой формы.

Тяжелая форма клостридиальной инфекции помимо диареи проявляется болями в животе спастического характера, развитием лихорадки вплоть до гектических значений, лейкоцитоза и гипоальбуминемии. Отсутствие диареи у данной группы больных может говорить о развитии молниеносной формы CDI [22]. Так же необходимо помнить, что при увеличении лейкоцитов более 15×10<sup>9</sup> кл/л, повышении уровня креатинина в сыворотке крови выше 115 мкмоль/л, роста температуры тела более 38,8<sup>0</sup>С и снижении уровня альбумина менее 25 г/л пациенты должны получать лечение в условиях отделения интенсивной терапии [25].

Энтерит при CDI встречается крайне редко. Он развивается у пациентов после колэктомии и клинически проявляется увеличением количества и характера тонкокишечного отделяемого [9] [98].

#### 1.4. Диагностика CDI.

Лабораторную диагностику CDI проводят пациентам с диареей, при частоте стула 3 и более раз в течение суток или при увеличении объема кишечного отделяемого по илео- или колостоме [56].

**Основными методами диагностики CDI являются:**

##### I. Иммунологический:

1) Иммунохроматографический анализ (ИХА):

- определение глутаматдегидрогеназы (ГДГ) в кале
- определение токсинов А и В в кале;

2) Иммуноферментный анализ (ИФА):

- определение ГДГ в кале
- определение токсинов А и В в кале.

II. **Микробиологический**, в основе которого лежит выделение чистой культуры; является «золотым» стандартом диагностики.

III. **Молекулярно-биологический** метод позволяет определять дезоксирибонуклеиновую кислоту (ДНК) бактерий с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР), в основе которой лежит многократное избирательное копирование определённого участка ДНК при помощи специальных ферментов.

**Определение фермента ГДГ и токсинов *C. difficile* иммунологическим методом.**

ГДГ - метаболический фермент, кодируемый геном *Glud*. Антиген ГДГ присутствует у всех штаммов *C. difficile* вне зависимости от выработки токсинов. Исследования, проведенные на сегодняшний день, показывают, что определение ГДГ высоко чувствительный метод диагностики CDI и имеет высокую прогностическую ценность. Недостатком этого теста является наличие ГДГ у других представителей рода *Clostridium* (например, *C. sordelli*), что снижает специфичность данного метода и обуславливает перекрестное реагирование.

Чувствительность теста выявления ГДГ методом иммунохроматографии составляет - 94%, а специфичность - 93%. Таким образом, определение фермента ГДГ может быть использовано на первом этапе диагностики *C. difficile* [67]. Схожие данные получены в исследовании Johansson К. [49]. Наличие положительного теста на ГДГ не позволяет определить способность *C. difficile* продуцировать токсины. Дальнейший диагностический алгоритм предполагает определение токсинов А и В в кале доступными методами: ИФА, ИХА, выделение чистой культуры *Clostridium (Clostridioides) difficile* с последующим определением ее токсигенности молекулярно-генетическими методами (ПЦР), что имеет высокую прогностическую ценность [94].

Определение ГДГ позволяет быстро и эффективно исключить CDI, при этом себестоимость теста, особенно по сравнению с молекулярными методами диагностики, невысока [22].

По данным Le Guern R. в большинстве французских лабораторий для выявления токсинов А и В *C. difficile* используют иммуноферментный анализ. Он обеспечивает быстрый ответ в течение 4 часов. Недостатком этого метода является низкая чувствительность (около 50%), но при этом специфичность достигает 95% [39].

### **Бактериологический метод выявления *Clostridium (Clostridioides) difficile*.**

При диагностике клостридиальной инфекции проводят бактериологическое исследование фекалий, целью которого является выделение культуры *C. difficile*. При наличии соответствующей клинической картины CDI, использование культурального исследования биоматериала позволяет идентифицировать возбудителя, определить его способность к синтезу токсинов, чувствительность к антибактериальным препаратам. Золотым стандартом диагностики CDI является выделение токсигенной культуры с определением цитотоксичности в культуре клеток после нейтрализации антителами. Чувствительность и специфичность этого метода достигает 97%. Такой метод диагностики очень трудоемок, требует

специальных навыков работы с культурой и наличия дополнительного оборудования. Поэтому он используется только в хорошо оснащенных лабораториях с наличием высококвалифицированного персонала. Сложность культивирования *C. difficile* наглядно продемонстрирована в работах Hill К. А. Из 496 образцов (смывов), отобранных с предметов и приборов, находящихся в палате у пациентов с подтвержденной клостридиальной инфекцией, лишь в 105 образцах (21,2%), выявлена *Clostridium (Clostridioides) difficile* [45]. Чаше *C. difficile* в смывах удалось обнаружить в работах Wilcox - 35% и Dubberke - 27% [30], [97].

Необходимо помнить, что при культивировании *Clostridium (Clostridioides) difficile* на сложных питательных средах, содержащих глюкозу или другие быстро метаболизируемые углеводы (фруктозу, маннитол и др.), происходит уменьшение синтеза токсинов. Ингибирующий эффект, по мнению Dupuy В., связан с катаболитной репрессией - с замедлением или с остановкой синтеза ферментов, участвующих в катаболизме. У микроорганизма в присутствии глюкозы происходит снижение уровня циклического аденозинмонофосфата (цАМФ) в результате активации фосфодиэстеразы (превращает цАМФ в аденозинмонофосфат (АМФ)) и подавления активности аденилатциклазы (превращает аденозинтрифосфат (АТФ) в цАМФ). Этот эффект общий для многих токсикогенных штаммов, что влечет за собой снижение уровня продукции токсинов [31].

### **Молекулярно-биологические методы диагностики CDI.**

Молекулярно-биологический метод включает постановку полимеразно-цепной реакции (ПЦР) с риботипированием. Его используют в диагностике *Clostridium (Clostridioides) difficile*. При этом известно, что специфичность данного метода составляет - 97%, а чувствительность - 91%. ПЦР используется для типирования *C. difficile*. С его помощью определяется способность культуры к токсинообразованию и синтезу других факторов патогенности. Так же, возможно применение ПЦР – диагностики для определения источника клостридиальной

инфекции путем нахождения идентичных риботипов *Clostridium (Clostridioides) difficile* [52].

Существуют разные модификации ПЦР. Так, Р. Putsathit и соавторы в исследовании тестовой системы Becton Dickinson (BD) Max Cdiff на основе ПЦР продемонстрировали высокую чувствительность - 95,5% и специфичность - 99,0% данного теста при типировании *C. difficile*. В период с 2013 по 2014 год было изучено 406 проб кала от 349 больных. Помимо проведения теста BD Max Cdiff. осуществлялось выделение токсигенной культуры с помощью bioMérieux ChromID на специальной среде в качестве эталонного метода. Дополнительно данные сопоставлялись с другой тест системой для ПЦР. Соответствие между тестированием BD Max Cdiff. и токсигенной культурой оказалось равно - 98,5% [83].

Альтернативой лабораторной диагностике стало экспериментальное использование собаки в качестве детектора *C. difficile*. Так, в исследовании Bomers M. K. и соавторы для определения микроорганизма в стуле пациентов использовали обоняние собаки, с помощью которой были исследованы образцы стула. Анализу было подвергнуто 100 образцов кала пациентов: 50–положительных и 50-негативных по *Clostridium (Clostridioides) difficile*. В 50 (100%) случаях положительные образцы собака определяла, как положительные, а из 50 негативных – 47 (94%) как отрицательные. Несмотря на хорошие результаты, определения присутствия токсигенной *C. difficile* в стуле пациентов, авторы указывают на значительные трудности при использовании с этой цели собаки [20].

### **1.5. Лечение *C. difficile* инфекции.**

Согласно рекомендациям американской ассоциации гастроэнтерологов 2013 года по лечению CDI пациентам с легкой и среднетяжелой формой заболевания следует назначать метронидазол в дозе 500 мг внутрь три раза в день в течение 10 дней. При отсутствии клинического эффекта через 5-7 дней - ванкомицин внутрь в дозе 125 мг 4 раза в день в течение 10 дней. Пациентам с тяжелой формой CDI



изначально показано назначение ванкомицина в дозе 125 мг внутрь четыре раза в день в течение 10 дней [94].

Необходимо помнить, что больным с CDI при гипотонии, повышении температуры тела выше  $38,5^{\circ}\text{C}$ , задержке стула, выраженном вздутии живота, изменении сознания, лейкоцитозе свыше  $15 \times 10^9$  или лейкопении ниже  $2 \times 10^9$ , повышении уровня лактата в сыворотке крови выше 2,2 ммоль\л, развитии синдрома полиорганной недостаточности требуется перевод в отделение интенсивной терапии для дальнейшего лечения. В подобной ситуации рекомендовано назначение ванкомицина внутрь в дозе 500 мг 4 раза в день и метронидазола в дозе 500 мг три раза в день внутривенно. При невозможности введения препарата через рот ванкомицин назначается ректально в микроклизмах. 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 [94].

Мета-анализ 12 обсервационных и рандомизированных контролируемых исследований при возникновении псевдомембранозного колита показал, что дальнейшее использование антибактериальных препаратов, не активных против *C. difficile* нецелесообразно, и ведет к ухудшению клинической картины. Так, их применение связано с высоким риском развития рецидива CDI. При этом необходимо помнить, что если клиническое течение заболевания позволяет, то следует отменить антибактериальный препарат [63].

В систематическом обзоре, проведенном Vardakas K.Z. и соавторами оценена частота неэффективности лечения и рецидива при назначении специфической антибактериальной терапии при CDI. Отсутствие эффекта от лечения первичной клостридиальной инфекции метронидазолом составляет 22,4%, а ванкомицином - 14,2% ( $p=0,002$ ). Частота рецидива CDI была практически одинаковой в обеих группах - 27,1% и 24,0%, соответственно ( $p=0,26$ ). Данные препараты в равной степени эффективны в лечении легкой и среднетяжелой формы клостридиальной инфекции. Однако показано, что у больных с тяжелой формой CDI ванкомицин был более эффективен, чем метронидазол [96].

В 2011 году Управление по санитарному надзору над качеством пищевых продуктов и медикаментов США одобрило новый препарат из группы макролидов для лечения CDI - фидаксомицин. Он демонстрирует высокие фекальные концентрации препарата при минимальной системной абсорбции.

Е. Н. Eiland и соавторы ретроспективно проанализировали результаты применения фидаксомицина у стационарных пациентов с CDI в период с 2011 по 2013 годы. Из 60 больных, получавших препарат, у 58 (96,7%) достигнут положительный клинический эффект. 26 (43,3%) пациентов получали фидаксомицин в связи с диагностированным вторым или последующим рецидивом CDI с положительным эффектом. У 4 (6,9%) - был повторный рецидив клостридиальной инфекции в течение 30 дней после выписки из стационара, а еще у 6 (10,3%) больных наблюдался рецидив заболевания в течение 90 дней после первого курса лечения CDI [34].

Еще один препарат, который необходимо упомянуть, говоря о тяжелой форме клостридиальной инфекции - тигециклин. По своей химической структуре он относится к производным миноциклина, и является перспективным препаратом при лечении CDI у пациентов после неэффективной первой линии терапии. Однако этот вывод основан на ретроспективном анализе результатов лечения небольшого числа пациентов. Несмотря на высокую эффективность, по мнению исследователей, показания для лечения CDI тигециклином должны быть ограничены из-за широкого спектра активности препарата и возможности формирования антибиотикорезистентности других микроорганизмов [76].

В России традиционно для лечения клостридиального колита используют Альфа Нормикс (Рифаксимин), хотя в рекомендациях американской ассоциации гастроэнтерологов 2013 года по лечению CDI его применение не регламентировано. В исследовании, проведенном в университетской больнице Хьюстона (Техас, США), в период с 2007 по 2011 годы включено 49 больных с CDI, получавших рифаксимин. При определении чувствительности *C. difficile* к антибактериальным препаратам отмечен рост резистентности к данному препарату

у 8% выделенных штаммов в 2007 и у 17% культур *C. difficile* в 2011 году. При дальнейшем анализе устойчивых микроорганизмов выявлена мутация в гене *groB*. В связи с широким использованием Альфа Нормикса динамика роста резистентных штаммов является крайне негативной [47].

Помимо перечисленных ранее, скоро в спектр препаратов для лечения CDI может быть включен кадазолид, являющийся антибиотиком из группы оксазолидинона, проходящий в настоящее время клинические испытания. В исследовании Н.Н. Locher и соавтов показана мощная антимикробная активность и низкая резистентность *C. difficile* к препарату. В эксперименте на инфицированных *C. difficile* мышцах было выявлено значительное сокращение риска смерти на 56%, 96%, и 95% при дозе препарата 0,1мг/кг, 1мг/кг и 10 мг/кг, соответственно, в течение 18 дней терапии. Общая выживаемость была сопоставима с ванкомицином при назначении в тех же дозах [71].

Еще одним методом лечения CDI, альтернативным антибиотикотерапии, является трансплантация фекальной микрофлоры. По данным литературы [4],[10], в систематическом обзоре и мета-анализе одиннадцати исследований, по результатам лечения 273 больных с клостридиальной инфекцией методом трансплантации фекальной микробиоты положительный клинический эффект достигнут в 245 (89,1%) случаях [54].

Использование бактериофагов является еще одним важным направлением в лечении CDI. Фаг специфичен и направлен на определенный микроорганизм, при этом никак не влияя на другие. Он размножается и обеспечивает постоянную популяцию в просвете кишечника. Способность проникать через биопленки выгодно отличает фаг от антибактериальных препаратов. Трудоемкий процесс при его культивировании объясняет небольшое количество работ, посвященных этому вопросу [42].

Для прогнозирования эффективности антибактериальной терапии используют определение чувствительности *C. difficile* к антибактериальным препаратам. Отмечается рост резистентности бактерий во всем мире. Так, в исследовании,

проведенном в 2012 году в Чехии и Польше, сравнение 21 ПЦР-риботипа из 176 культур *C. difficile*, показало различную их чувствительность к антибактериальным препаратам. Все штаммы *C. difficile* характеризовались резистентностью к эритромицину, ципрофлоксацину, моксифлоксацину. У больных в стационарах Польши также отмечена устойчивость к имипенему и в 95,2% наблюдений к клиндамицину [61].

Применение пробиотиков может значительно снизить заболеваемость антибиотик-ассоциированной диареей и является эффективным средством для лечения CDI. Как показывает мета-анализ, проведенный McFarland L.V. *Saccharomyces boulardii*, *Lactobacillus rhamnosus GG* и пробиотические смеси обладают профилактическим действием и могут помочь предотвратить развитие антибиотико-ассоциированной диареи, а *Saccharomyces boulardii* проявляет свою эффективность в лечении CDI [74].

### **1.6. Профилактика *C. difficile* инфекции.**

Говоря о лечении CDI невозможно не упомянуть о мерах профилактики.

Важно помнить, что *Clostridium (Clostridioides) difficile* имеет способность к образованию спор и биопленок, что является существенными факторами, которые влияют на широкое распространение возбудителя. Таким образом, меры, направленные на предотвращение реализации этих путей, очень эффективны в борьбе с CDI.

Выделяют первичную и вторичную профилактику клостридиальной инфекции.

Первичная профилактика – это 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 заболеваний, динамического наблюдения, направленного лечения, а также рационального последовательного оздоровления.

В исследовании, проведенном в институте медицинской микробиологии и гигиены в Австрии, доказана эффективность бактерицидного и спороцидного действия аэрозоля 7,5% перекиси водорода на CD, полученного с помощью специальной автоматизированной системы для дезинфекции воздуха и поверхностей. Суспензию культур штаммов *C. difficile* ПЦР риботип 027 ВI/NAP1/027 и ATCC 9689 наносили на керамическую плитку и подвергали воздействию аэрозоли пероксида водорода. Биологические загрязнения моделировались с помощью бычьего сывороточного альбумина и эритроцитов овцы. Далее проводилось бактериологическое исследование смывов с обработанной поверхности с определением титра обсемененности *C. difficile*. После воздействия аэрозоля перекиси водорода в течение 3 часов в помещении регистрировалась гибель всех спор микроорганизма [93].

Так же доказана эффективность использования импульсной ксеноновой ультрафиолетовой установки для дезинфекции поверхностей от спор *Clostridium (Clostridioides) difficile* [70].

В департаменте по борьбе с инфекциями и их профилактике штата Массачусетс (США) применяли импульсную ксеноновую ультрафиолетовую установку для дезинфекции поверхностей от спор *C. difficile*, которая показала свою высокую эффективность. Так, если в 2010 году заболеваемость CDI была 94,6, то в 2011 году она снизилась более, чем в 2 раза, составив 44,5 случаев на 100000 пациентов ( $p=0,01$ ). Количество летальных случаев и выполненных колэктомий по поводу CDI резко сократилось. Если в 2010 году 8 больных подверглись колэктомии по поводу тяжелой формы клостридиальной инфекции и зарегистрирован 1 летальный исход, то в 2011 году операций по поводу развития CDI не было выполнено вовсе.

Лишь в 1 наблюдении был зарегистрирован летальный исход у больного с выраженными сопутствующими заболеваниями [70].

Учитывая фекально-оральный путь передачи *C. difficile*, необходимо тщательно следить за гигиеной рук персонала колопроктологического стационара. Landelle С. в своей работе показал, что загрязнение рук медицинских работников после ухода за пациентами с CDI является очень важным фактором в распространении инфекции. Так, споры *Clostridium (Clostridioides) difficile* были обнаружены при посеве с рук у 24% медработников, использующих спиртовой антисептик и ни у одного из тех, кто использовал медицинские перчатки ( $p < 0,001$ ) [65]. Этот факт подтверждает высокую значимость применяемых методов профилактики. Еще в одном проспективном контролируемом исследовании, проводимом в Миннеаполисе штата Миннесота (США), Johnson S. показал, что использование одноразовых виниловых перчаток сотрудниками в условиях стационара снижает заболеваемость CDI с 77 до 15 случаев на 10000 пациентов [51].

Мытье рук с мылом и водой является более эффективным мероприятием, чем использование спиртовых антисептиков для уничтожения спор *C. difficile*, как было показано в исследовании Kundrapu S., проведенном на добровольцах [62].

В частном исследовательском университете в Кливленде Wullt M. было продемонстрировано неэффективность спиртового антисептика на основе изопропанола для обработки рук против спор *Clostridium (Clostridioides) difficile* по сравнению с раствором, содержащим параацетил-ион. Для оценки эффективности воздействия дезинфектанта на споры применяют такой показатель, как коэффициент инактивации. Если при использовании спиртового антисептика на основе изопропанола он составил 0,2, что говорит о его неэффективности, то аналогичный параметр для параацетил-иона составил 4,1, что характеризует его как хороший дезинфицирующий агент [25].

Несомненный интерес представляет систематический обзор и мета-анализ рандомизированных клинических исследований по оценке эффективности препаратов, содержащих *Lactobacillus spp.* и *Bifidobacterium spp.*, для

профилактики CDI у взрослых пациентов. Sinclair A. и соавторы показали статистически значимую связь при использовании пробиотических лекарств, которые уменьшают риск возникновения CDI на 75 % по сравнению с плацебо (OR=0,25; ДИ95%: 0,08-0,47). Защитный эффект препаратов, содержащих различные штаммы *Lactobacillus acidophilus* и *Bifidobacterium spp.* против нозокомиальной CDI, по-видимому связан с антагонистической активностью микроорганизмов против *Clostridium (Clostridioides) difficile* [91].

Использование вакцины является еще одним перспективным направлением в профилактике CDI. Однако, в настоящее время применение данного метода ограничено, в связи с отсутствием необходимых клинических исследований [40].

Профилактические мероприятия чрезвычайно важны в борьбе с CDI в колопроктологическом стационаре.

Перспективным методом профилактики CDI может стать вакцинация.

Два мощных токсина А и В могут быть использованы для создания вакцины против CDI. В исследовании Guo S. с помощью генной инженерии *Lactococcus lactis* соединили с нетоксичными рекомбинантными фрагментами, полученными из токсинов А и В. С-концевой фрагмент рецептора, связывающего домены, использовали в качестве агента для оральной вакцины. Результаты исследования говорят о том, что существует потенциальная возможность использовать *Lactococcus lactis* в качестве системы доставки и разработки эффективной пероральной вакцины против *Clostridium (Clostridioides) difficile* [40].

### **1.7. Заключение.**

В настоящее время можно говорить об экспоненциальном росте заболеваемости CDI, что особенно прослеживается в индустриально-развитых странах. Этому обстоятельству сопутствует повышенный интерес к проблеме клостридиальной инфекции широкой медицинской общественности. Бесконтрольное и нерациональное применение антибактериальных препаратов создает предпосылки к селективному отбору микроорганизмов, росту их резистентности и появлению

высоковирулентных штаммов, что неизбежно приводит к трудностям при лечении CDI. Назначение этиотропных антибактериальных препаратов не по показаниям уменьшает период эффективности лекарственных средств за счет роста числа резистентных штаммов. Присоединение клостридиальной инфекции у больного в стационаре удлиняет сроки госпитализации, увеличивает расходы на его лечение в целом и может значительно ухудшить прогнозы, повышая вероятность летального исхода, что характеризует чрезвычайную агрессивность CDI. Современная тенденция к росту мобильности людей во всем мире способствует быстрому распространению высоковирулентных штаммов *C. difficile*. Важной и до сих пор неразрешимой проблемой, является отсутствие во всем мире единого подхода к диагностике, трудности в культивировании и идентификации самого микроорганизма. Таким образом, замыкается порочный круг, что ведет к несвоевременной диагностике, позднему назначению этиотропной терапии. Все это создает предпосылки к персистенции возбудителя и его широкому распространению, как в пределах одного отделения, так и в рамках целых медицинских учреждений. Именно поэтому исследования, направленные на решение проблем диагностики и лечения CDI в стационаре колопроктологического профиля, где пациент сталкивается с максимальной совокупностью факторов риска клостридиальной инфекции, по сравнению с другими отделениями, представляются чрезвычайно актуальным.



## **Глава 2. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БОЛЬНЫХ, МЕТОДОВ ИССЛЕДОВАНИЙ.**

### **2.1 Клиническая характеристика больных.**

В настоящее одноцентровое проспективное исследование включено 549 пациентов, которые находились на лечении в отделении онкологии и хирургии ободочной кишки, также в отделении онкопроктологии ФГБУ «ГНЦК им. А.Н. Рыжих» Минздрава России с декабря 2015 по декабрь 2016 года. Кроме того, в анализ включены 39 медицинских сотрудников, которые осуществляли работу на базе отдела онкологии и хирургии ободочной кишки в этот же период времени.

Критериями включения пациентов в исследование являлись:

- возраст старше 18 лет;
- госпитализация пациентов в отдел онкологии и хирургии ободочной кишки или онкопроктологии
- подписанное информированное согласие на участие в исследовании.

Критерии исключения были:

- отказ пациента от участия в исследовании на любом этапе;
- смерть пациента.

Включение пациентов в исследование осуществлялось путем их случайного отбора во время поступления в отделения. Перед началом исследования с пациентом проводилась беседа, в которой ему разъяснялись цели, ход, этапность предстоящей работы, дополнительно выяснялись сопутствующие заболевания. По окончании разговора подписывалось добровольное информированное согласие. Все пациенты, включенные в работу, сдавали анализ кала в течение 48 часов после госпитализации, а при наличии у больных стомы для исследования забиралось кишечное содержимое в специальный маркированный стерильный контейнер в количестве не менее 1 грамма. Собранный биоматериал доставляли в микробиологическую лабораторию в течение 30 минут, где он сразу же подвергался микробиологическому исследованию.

В ходе работы также оценивалась частота стула или интенсивность функционирования стомы и объем кишечного содержимого за сутки.

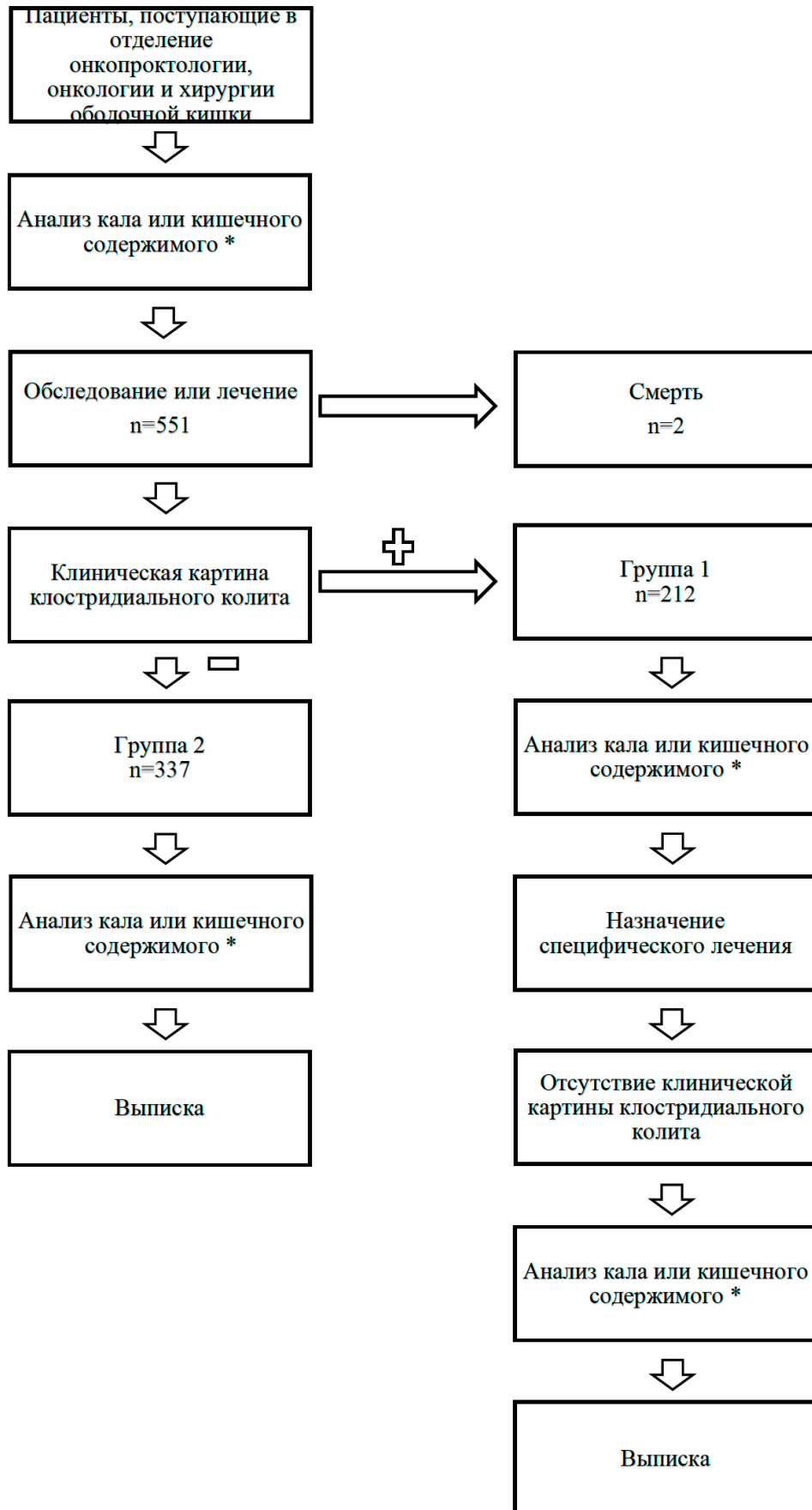
У всех 549 человек проводилось исследование кала или кишечного содержимого на наличие *Clostridium (Clostridioides) difficile*. В 1 группу (основную) входило 212 пациентов, у которых в процессе лечения развилась клиническая картина клостридиального колита, а во 2 группу (контрольную) – 337 больных, у которых подобного состояния не отмечалось в течение всего период нахождения в стационаре.

Клиническая картина клостридиального колита характеризуется наличием водянистого, жидкого стула небольшими порциями, с частотой 3 и более раз в сутки, а у пациентов с кишечными стомами, данная симптоматика проявлялась увеличением количества кишечного отделяемого по илеостоме более 1000 мл или по колостоме - свыше 500 мл. При возникновении диареи пациенты повторно сдавали анализ кала или кишечного содержимого.

Специфическая антибактериальная терапия назначалась после получения предварительных результатов микробиологического исследования кала на наличие токсинов *C. difficile* до идентификации самого возбудителя.

Перед выпиской из стационара всем пациентам повторно выполнялось исследование фекалий и кишечного содержимого на наличие *Clostridium (Clostridioides) difficile* (Рис. 1).

Рисунок 1. Схема включения пациентов в исследование.



\* Иммунохроматографическим и иммуноферментным методами определялось присутствие глутаматдегидрогеназы и токсинов А и В *Clostridium (Clostridioides) difficile*. Также проводилось бактериологическое исследование фекалий с выделением чистой культуры *C. difficile* и оценка состава микробиоты.

## 2.2. Распределение больных по группам.

При анализе распределения пациентов по полу статистически значимых различий в основной и контрольной группе выявлено не было ( $p=0,16$ ) (табл.1).

Таблица 1. Распределение больных по полу.

Пол	1 группа (n=212)	2 группа (n=337)	p
Мужчины	108 (51%)	151 (45%)	0,16
Женщины	104 (49%)	186 (55%)	0,16

При изучении распределения пациентов согласно возрасту оказалось, что большинство больных как в 1, так и во 2 группе были старше 50 лет. Средний возраст пациентов основной группы составил  $53 \pm 11$  лет, а во 2 группе он был  $55 \pm 16$  лет. Выявленные различия по возрасту между обеими группами оказались статистически достоверными ( $p=0,01$ ). Также в 1 группе было больше больных в возрасте от 20 до 29 лет, чем во 2 ( $p=0,049$ ). По нашему мнению, это связано с более частым возникновением воспалительных заболеваний кишечника и с необходимостью назначения специфического лечения (антибактериальная, иммуносупрессивная, биологическая терапия) именно в этом возрасте (табл.2).

Таблица 2. Распределение больных по возрасту.

Возраст, лет	1 группа (n=212)	2 группа (n=337)	p
<20	0	2 (0,6%)	0,26

20-29	24 (11,3%)	22 (6,5%)	<b>0,049</b>
30-39	25 (11,8%)	32 (9,5%)	0,39
40-49	21 (10%)	35 (10,4%)	0,85
50-59	53 (25%)	77 (22,9%)	0,56
60-69	60 (28,3%)	105 (31,1%)	0,48
70-79	26 (12,2%)	53 (15,7%)	0,26
≥80	3 (1,4%)	11 (3,3%)	0,18

При анализе распределения пациентов согласно индексу массы тела (ИМТ), значимых статистических различий не было выявлено. Среднее значение ИМТ в основной группе было  $24,9 \pm 4,1$  кг/м<sup>2</sup>, а в контрольной группе было  $25,3 \pm 4,1$  кг/м<sup>2</sup> ( $p=0,61$ ). Преобладали больные с нормальным и повышенным весом, так в 1 группе их было 158 (74%), а во 2 - 247 (73%) (табл.3).

Таблица 3. Распределение пациентов в зависимости от ИМТ.

ИМТ , кг\м <sup>2</sup>	Классификация	1 группа	2 группа	p
15,9 и менее	Выраженная худощавость	2 (1%)	4 (1%)	0,79
16—18,4	Легкая и умеренная худощавость	10 (5%)	15 (5%)	0,88
18,5—24,9	Нормальный вес	106 (49%)	141(42%)	0,06
25—29,9	Повышенный вес (предожирение)	52 (25%)	106(31%)	0,081
30 и более	Ожирение	42 (20%)	71 (21%)	0,72

При изучении распределения пациентов согласно основному заболеванию в обеих группах преобладали больные раком ободочной и прямой кишки. Были выявлены статистически значимые различия по характеру заболевания. Так в контрольной группе пациентов с полипами и ворсинчатыми новообразованиями кишечника было больше, чем в основной ( $p < 0,001$ ) (табл. 4). Этот факт может свидетельствовать о том, что процесс лечения данной патологии не оказывает значительного влияния на возникновение клостридиальной диареи.

Таблица 4. Распределение пациентов в зависимости от характера основного заболевания.

Диагноз	1 группа (n=212)	2 группа (n=337)	p
Рак ободочной и прямой кишки	101(48%)	152 (45%)	0,56
Дивертикулярная болезнь	9 (4%)	6 (2%)	0,085
Стома одноствольная	16 (7%)	22 (6%)	0,65
Стома двухствольная	41 (19%)	61 (18%)	0,71
Полипы и ворсинчатые опухоли	3 (2%)	42 (12%)	<b>&lt;0,001</b>
Язвенный колит	23 (11%)	22 (7%)	0,07
Болезнь Крона	10 (5%)	19 (6%)	0,45
Прочие заболевания	9 (4%)	13 (4%)	0,81

При анализе групп по характеру и объему перенесенных оперативных вмешательств были выявлены следующие различия: в контрольной группе, по сравнению с основной, преобладали пациенты, подвергшиеся миниинвазивному вмешательству – 43 (13%) и 4 (2%) больных, соответственно ( $p < 0,0001$ ). Также было статистически значимо больше неоперированных пациентов – 38 (11%) и 9 (5%), соответственно ( $p = 0,004$ ). В то же время в 1 группе, по сравнению со 2 было

статистически больше операций на прямой и ободочной кишке – 15 (7%) и 10 (3%), соответственно ( $p= 0,025$ ) (табл. 5).

Таблица 5. Распределение пациентов согласно объему оперативного вмешательства.

Объем оперативного вмешательства	1 группа (n=212)	2 группа (n=337)	p
Реконструктивно-восстановительные операции	59 (28%)	82 (24%)	0,36
Резекция прямой кишки	57 (27%)	67 (20%)	0,056
Резекция ободочной кишки	59 (28%)	73 (22%)	0,1
Резекция прямой+резекция ободочной кишки	15 (7%)	10 (3%)	<b>0,025</b>
Миниинвазивное вмешательство (ТЭМ, полипэктомия, подслизистая диссекция)	4 (2%)	43 (13%)	<b>&lt;0,0001</b>
Прочие вмешательства	9 (4%)	24 (7%)	0,17
Без оперативного вмешательства	9 (4%)	38 (11%)	<b>0,004</b>

У подавляющего большинства в основной и контрольной группе имелись сопутствующие заболевания – у 166 (54%) и 277 (55%) пациентов, соответственно (табл. 5). Чаще всего у больных 1 и 2 группы выявлялись заболевания сердечно - сосудистой системы – в 74 (24%) и 137 (27,2%) наблюдениях, соответственно. В тоже время каких-либо статистически значимых различий по характеру сопутствующих заболеваний между двумя группами не было выявлено.

Таблица 5. Распределение пациентов согласно характеру сопутствующих заболеваний.

Сопутствующие заболевания:	1 группа (n=212)	2 группа (n=337)	p
Сердечно - сосудистой системы	74 (24%)	137 (27,2%)	0,18
Дыхательной системы	5 (2%)	7 (1,4%)	0,83
Пищеварительной системы	19 (7%)	39 (7,7%)	0,33
Эндокринной системы	29 (10%)	57 (11,3%)	0,31
Анемия	12 (4%)	9 (1,7%)	0,075
Мочеполовой системы	17 (5%)	16 (3,3%)	0,12
Нервной системы	4 (1%)	1 (0,2%)	0,055
Инфекционные заболевания в стадии ремиссии (вирусные гепатиты, ВИЧ - инфекция)	6 (1%)	11 (2,2%)	0,76
Без сопутствующей патологии	98 (46%)	152 (45%)	0,8

Принимая во внимание тот факт, что по данным мировой литературы сахарный диабет является значимым фактором риска, влияющим на частоту развития клостридиального колита, был проведен анализ, который не выявил различий между группами по этому признаку ( $p = 0,74$ ). Так в 1 группе было 19 (9%), а во 2 - 33 (10%) пациента, страдающих данной патологией (табл. 6).

Таблица 6. Распределение пациентов по группам согласно наличию у них сахарного диабета.

Сахарный диабет	1 группа (n=212)	2 группа (n=337) *
Есть	19 (9%)	33 (10%)
Нет	193 (91%)	304 (90%)

\*  $p = 0,74$



Также, по данным мировых исследований [48], описан значимый фактор риска — это предшествующая госпитализация в течение 6 месяцев, которая увеличивает частоту возникновения колита, ассоциированного с *Clostridium (Clostridioides) difficile*. При изучении распределения пациентов в зависимости от наличия в анамнезе предшествующей госпитализации, было установлено, что в основной группе таких больных было в 2 раза больше, чем в контрольной - 25 (12%) и 20 (6%), соответственно ( $p = 0,015$ ) (табл.7).

Таблица 7. Распределение пациентов в зависимости от наличия у них в анамнезе предшествующей госпитализации.

Госпитализация в анамнезе менее 6 месяцев	1 группа (n=212)	2 группа (n=337) *
Была	25 (12%)	20 (6%)
Не была	187 (88%)	317 (94%)

\*  $p = 0,015$

Таким образом, проведенный анализ показал, что между группами отсутствовали статистически значимые различия по половому составу, ИМТ, характеру сопутствующих заболеваний, наличию сахарного диабета. В тоже время группы различались по возрасту, характеру основного заболевания, самому факту и объему оперативного вмешательства, по наличию госпитализации в анамнезе.

### 2.3. Клиническая характеристика медперсонала.

В рамках нашей работы проведено еще одно проспективное, нерандомизированное, поисковое исследование, основной целью которого было оценить частоту носительства токсинпродуцирующих штаммов клостридий среди медицинских работников колопроктологического стационара отделения онкологии и хирургии ободочной кишки ФГБУ «Государственного научного центра

колопроктологии им. А.Н. Рыжих» Минздрава России в декабре 2016 года. Было проведено исследование фекалий 39 сотрудников. Собранный биоматериал доставляли непосредственно в микробиологическую лабораторию в течение 30 минут, где он сразу же включался в процесс микробиологического исследования. Также выяснялся факт приема антибактериальных препаратов сотрудниками в ближайшие 2 месяца перед забором материала и имели ли место эпизоды диареи без явных на то причин (жидкий стул более 3 раз в сутки).

Штатный состав отдела был следующим: руководитель отдела - 1, заведующий отделением - 1, старший научный сотрудник - 1, научные сотрудники - 3, младший научный сотрудник - 1, врачи - 3, клинические аспиранты - 6, ординаторы - 4, медицинские сестры - 12, сестра – хозяйка - 1, раздатчицы - 2, санитарки - 4. В исследование были включены все сотрудники отдела.

Ввиду того, что младший и средний медицинский персонал имеет большее число контактов с пациентами, и они более продолжительны по времени, решено было разделить весь персонал на 2 группы: 1- врачебный (руководитель отдела, заведующий отделением, научные сотрудники, врачи, аспиранты, ординаторы) – 20 человек, 2 - средний (медицинские сестры, сестра-хозяйка, санитарки, раздатчицы) - 19 человек. Прежде всего нас интересовал вопрос распространенности *C. difficile* в данной профессиональной группе, и как часто возникает клиническая манифестация заболевания у носителей. Крайне важно было установить не является ли средний медперсонал больше контаминированным токсигенными клостридиями, чем врачебный состав.

## **2.4. Методы исследования.**

### **2.4.1. Клинический осмотр, инструментальные и лабораторные методы исследования.**

Все пациенты, включенные в исследование, проходили стандартное комплексное обследование, которое включало в себя сбор жалоб и анамнеза,

первичный осмотр, клинические, инструментальные и лабораторные методы. У всех больных выполнялся осмотр перианальной области и пальцевое исследование прямой кишки. У женщин производилось влагалищное исследование.

**2.4.2. Эндоскопические методы исследования (руководитель отдела эндоскопической диагностики и хирургии – доктор медицинских наук, профессор В.В. Веселов).**

Всем больным, включенным в исследование, с целью выявления острых и хронических патологических изменений верхних отделов желудочно-кишечного тракта выполнялась ЭГДС (эзофагогастродуоденоскопия). Для исследования использовали гастроскопы Olympus GIF N180 (Япония) и Fusinon FG-1Z (Япония). С целью оценки состояния и выявления сопутствующих заболеваний тонкой и толстой кишки проводили эндоскопические исследования. Колоноскопию осуществляли аппаратами Olympus CV-180 и Evis Exera II (Япония) после тщательной механической очистки функционирующих отделов толстой кишки препаратами полиэтиленгликоля. Доза препарата подбиралась индивидуально в зависимости от массы тела пациента. Подготовка к исследованию отключенных отделов толстой кишки проводилась при помощи очистительных клизм. Состояние слизистой оболочки толстой и терминального отдела подвздошной кишки на протяжении 10-15 см. оценивали при помощи колоноилеоскопии.

Для оценки состояния слизистой оболочки тонкокишечного резервуара проводили резервуароскопию.

**2.4.3 Рентгенологические методы исследования (руководитель отдела рентгенодиагностики, компьютерной и магнитно-резонансной томографии – доктор медицинских наук И.В. Зароднюк).**

Для оценки распространённости опухоли у онкологических больных (отдаленного метастазирования, местного рецидива, стадирования опухолевого процесса), а также для идентификации сопутствующих заболеваний выполняли

компьютерную томографию (КТ) органов грудной клетки, брюшной полости, органов малого таза и забрюшинного пространства. Для этой цели использовали 64-срезовый аппарат Philips Brilliance CT 64 Slice (США). При необходимости исследование расширяли дополнительным внутривенным введением рентген контрастного неионного препарата в объеме от 70 до 110 мл с концентрацией йода от 350 до 370 мг /мл. Всем пациентам, у которых имелись отключенные отделы кишки для оценки их состояния выполнялись рентгенологические методы исследования: проктография, ирригоскопия, резервуарография. В качестве контрастного вещества применяли суспензию сульфата бария в разведении 1:3 в объеме от 500 до 800 мл при ирригоскопии и от 100 до 250 мл при прокто- или резервуарографии. После плотного заполнения бариевой взвесью всех отделов толстой кишки или тонкокишечного резервуара проводили обзорную рентгенографию (фаза тугого заполнения). А при выполнении рентгенологического исследования методом двойного контрастирования после опорожнения в кишку вводили воздух и повторно осуществляли снимок. В ходе обследования оценивали характеристики сформированного ранее кишечного анастомоза и исключали сопутствующие заболевания. Для этой цели использовали аппарат Italray Clinodigit OMEGA (Италия) для осуществления цифровой рентгенографии. В отдельных случаях с целью уточнения диагноза при недостаточной информативности КТ-исследования, прибегали к выполнению магнитно-резонансной томографии (МРТ) на аппарате Philips 1.5T Intera Achieva MRI (США). В случае необходимости контрастного усиления при осуществлении МРТ-исследования применяли препараты Омнискан (Амершам Хелс, Ирландия) в концентрации 0,5 ммоль/мл или Примовист (Байер, Ирландия) в концентрации 0,25 ммоль/мл в объемах от 10 до 80 мл.

**2.4.4. Ультразвуковые методы исследований (руководитель отдела ультразвуковой диагностики – доктор медицинских наук, профессор Л.П. Орлова).**

Для исследования распространенности онкопроцесса, а также для исключения возврата заболевания или отдаленного метастазирования больным, перенесшим операции по поводу злокачественных опухолей толстой кишки, и исключения острых воспалительных процессов и для выявления сопутствующих заболеваний осуществляли трансабдоминальные ультразвуковые исследования (УЗИ). В случаях сомнения в состоятельности ранее сформированного резервуароректального/резервуароанального или низкого колоректального анастомоза, а также для исключения воспалительных изменений в прямой кишке, трансабдоминальное исследование дополнялось трансвагинальным и/или трансректальным при помощи специальных УЗ-датчиков. Всем больным в возрасте 65 лет и старше перед операцией на амбулаторном этапе выполнялось УЗИ сосудов нижних конечностей с целью исключения возможного тромбообразования и для оценки функционального состояния клапанного аппарата крупных венозных сосудов. Так же в этой возрастной группе проводили предоперационное УЗИ сердца с целью оценки функционального состояния миокарда и клапанного аппарата, а в случае отягощенного анамнеза по сердечно - сосудистым заболеваниям (мерцательная аритмия, инфаркт миокарда и др.) это проводилось и у пациентов иных возрастных групп.

Все ультразвуковые исследования выполнялись на аппаратах: General Electric Logiq E9 (США), В-К Medical Pro Focus 2202 (Дания), Philips IU22 (США), Hitachi VISION Preirus (Япония), Esaote MyLab 30 (Италия), Hitachi ALOKA Alpha 6 (Япония).

#### **2.4.5. Клинико-биохимические методы исследований (заведующая клинико - диагностической лабораторией – А.В. Каменева).**

С целью оценки состояния гомеостаза организма всем пациентам выполнялись лабораторные исследования: биохимический анализ крови (на аппарате Beckman Coulter AU 480, США), клинический анализ крови (на аппарате CELL-DYN Ruby, Япония), исследование электролитов крови (на аппарате ABL

800 Flex, Англия), для оценки гемостаза выполнялась коагулограмма (на аппарате Sysmex CA-500, Япония), общий анализ мочи (на аппарате Porketchem UA, Япония).

**2.4.6. Микробиологические и иммунологические методы исследования (руководитель отдела микробиологических и иммунологических исследований – кандидат биологических наук М.А. Сухина).**

Всем пациентам с опухолями выполнялось определение уровня онкомаркеров в сыворотке крови – СА-19-9 и ракового эмбрионального антигена (на иммуноферментном автоматическом анализаторе Lazurite, США) с целью изучения распространенности онкопроцесса и для последующей оценки динамики заболевания.

Для определения распространенности токсигенных *Clostridium (Clostridioides) difficile* были изучены просветные фекалии от пациентов, поступающих в отделение онкопроктологии и хирургии ободочной кишки.

Все образцы фекалий одновременно были исследованы следующими методами:

1) Иммунологическим - определение глутаматдегидрогеназы, токсинов А и В *Clostridium (Clostridioides) difficile* — иммунохроматографическим и иммуноферментным методам.

2) Бактериологическим, при котором все образцы просветных фекалий подвергались исследованию в условиях анаэробнозиса с использованием анаэробной станции «Вастрон» (Sheldon, USA). Выделение культур токсигенных *C. difficile* проводили на питательных средах с добавлением 7% дефибринированной крови барана и селективных добавок для *Clostridium (Clostridioides) difficile*.

Доставленный в микробиологическую лабораторию биоматериал регистрировали и взвешивали. Для сохранения облигатно анаэробной микрофлоры фекалий использовали для разведения буфер с тиогликолевой средой. Исходное разведение фекалий в буфере составляло 1:10, из полученной гомогенной взвеси

изготавливали растворы с различными степенями разведения, далее проводили высеив культуры на питательный агар, разлитый в чашки Петри d – 90 мм. Посевную дозу биоматериала объемом 100 мкл равномерно распределяли шпателем по всей поверхности среды. Посевы помещали в соответствующие температурные и атмосферные условия в зависимости от потребностей культивируемых микроорганизмов: аэробы и факультативно – анаэробные микроорганизмы - в термостат при температуре 37°C. Микроаэрофилы (*Lactobacillus* spp. и др.) – в CO<sub>2</sub> – инкубатор (содержание углекислого газа 5%) при температуре 37°C. Облигатные анаэробы - в анаэробной станции «Bactron» (Sheldon, США).

Для выделения аэробных и факультативно-анаэробных бактерий применялись следующие среды:

- Кровяной агар – чашки Петри помещались в анаэробный бокс, и в условия обычной атмосферы,

- Среда для выделения представителей семейства Enterobacteriaceae и других грамотрицательных бактерий - агар Левина с эозином и метиленовым синим (Levine - Agar (EMB)), среда Эндо, Висмут – сульфит агар, агар Salmonella – Shigella,

1. Среда Эндо - представители семейства Enterobacteriaceae, грамотрицательные неферментирующие бактерии,

2. Висмут – сульфит-агар (Bismuth Sulfite Agar) - род Salmonella,

3. Агар Сальмонелла Шигелла, (Salmonella - Shigella Agar (SS Agar)) - род Salmonella, Shigella,

4. Маннит-солевой агар (Mannitol Salt Agar) – для изоляции Staphylococcus spp,

5. Агар для выделения энтерококков – Enterococcus spp,

6. Агар Сабуро – для выделения грибов.

7. Агар Де Манна-Рогоза-Шарпе (MRS - агар) – для микроаэрофильных микроорганизмов - *Lactobacillus* spp.

Для оценки качественного и количественного состава просветной микрофлоры исследовали бактерии рода *Lactobacillus*, которые относятся к

микроорганизмам со сложными питательными потребностями. Для их активного развития требуется наличие веществ, необходимых для построения бактериальной клетки (нуклеиновые кислоты, полисахариды, аминсахариды и т.д.). Для культивирования бактерий рода *Lactobacillus* использовали селективную питательную среду DeMan, Rogosa, Sharpe (MRS), инкубация посевов проходила в условиях микроаэрофильной атмосферы O<sub>2</sub> (5%); CO<sub>2</sub> (10%); N<sub>2</sub> (85%) при температуре 37°C в течение 48 часов. Высев фекалий проводился из разведений -0; -3; -5; -7.

Изоляция анаэробных бактерий остается самой деликатной процедурой, а для минимизации потери строгих анаэробов, посев на анаэробную микрофлору производили в первую очередь из соответствующих разведений для каждой группы облигатно анаэробных микроорганизмов. А для выделения анаэробных микроорганизмов использовались такие среды как:

- А) Кровяной агар,
- Б) Бифидум агар для идентификации *Bifidobacterium spp.*,
- В) Анаэробный агар для облигатно анаэробных бактерий,
- Г) Клостридиальный агар для идентификации *Clostridium spp.*,
- Д) Агар для выделения *Clostridium (Clostridioides) difficile*,
- Е) Агар для выделения *Clostridium perfringens*,
- Ж) Агар для выделения *Bacteroides spp*, *Prevotella spp*, *Porfiromonas spp*.

Для уменьшения обсемененности биоматериала другими условно – патогенными неспорообразующими микроорганизмами проводилась специальная пробоподготовка, ее осуществляли при помощи добавление в биоматериал 95° этилового спирта в соотношении 1:1 в течение 1 часа, а также инкубация при температуре 100°C в течение 1 часа. Далее осуществлялся высев на питательный агар: *C. difficile* агар с добавкой цефокситина 10 мг/мл, циклосерина и 7% бараньих эритроцитов. Все посева инкубировались в условиях анаэробного бокса при температуре 37°C в течение 24-48 часов.



Идентификацию микроорганизмов проводили на основе изучения морфологических, культуральных, тинкториальных, биохимических свойств бактерий с использованием молекулярных методов ПЦР (полимеразная цепная реакция) и системы для идентификации микроорганизмов, основанной на определении рибосомальных белков с использованием времяпролетной лазерной матрично - ассоциированной масс – спектрометрии на основе технологии MALDI – TOF.

Культуральные признаки микроорганизмов определялись характером их роста на питательных средах. Количество выросших колоний микроорганизмов каждого вида и величину посевной дозы в 1 г фекалий рассчитывали по следующей формуле:

$$X(\text{КОЕ/г}) = A/B * V * S;$$

Где X – количество бактерий в 1г фекалий (КОЕ/г);

A – сумма колоний данного вида микроорганизмов во всех используемых разведениях;

B – количество чашек данного разведения;

V – объем культуры;

S – степень разведения.

В представителях облигатных спорообразующих бактерий нас интересовал род *Clostridium*. Прежде всего главный этиологический агент клостридиальной диареи - это *Clostridium difficile*, идентификация проходила многоступенчато. Учитывая морфологические свойства микроорганизма, он имел следующие культуральные свойства. Колонии *C. difficile* на агаре: серые, сухие, плоские, диаметром 1-2 мм. Для изучения тинкториальных свойств бактерий использовали способность микроорганизмов поглощать определенный краситель. Мазки окрашивали по методу Грамма. При микроскопии изготовленного препарата клостридии выглядят как удлиненные грамположительные палочки, имеющие эндоспоры, которые могут

располагаться центрально, терминально и эксцентрално, диаметр последних часто превышает ширину клетки.

Также проводили тест на аэротолерантность культуры, который выполняли на кровяном агаре в кислородной атмосфере с инкубацией в течение 24 часов. Для рода клостридий он был отрицательным, то есть регистрировалось отсутствие роста микроорганизмов в воздушной среде. Для дальнейшей идентификации микроорганизма использовали изучение его биохимической активности, способность к синтезу ферментов, взаимодействующих с заведомо известным субстратом. Для детекции *Clostridium (Clostridioides) difficile* применяли тест - систему для идентификации анаэробных микроорганизмов (API 20A, производства bioMérieux, Франция).

Для детекции *C. difficile* использовали методику матрично - активированной лазерной десорбционной ионизационной времяпролетной масс - спектрометрии на платформе MALDI-TOF MS (Bruker Daltonic, USA). Она обеспечивает качественный прорыв в микробиологической диагностике. Принцип действия основан на масс-спектрометрическом выявлении высокомолекулярных биоорганических соединений (рибосомальных белков и нуклеиновых кислот), мягко ионизированных лазерным излучением, отрывающихся от матрицы-носителя и отличается по времени пролета определенной дистанции в электромагнитном поле. В каждом микроорганизме присутствует определенный спектр макромолекул, которые специфичны и не встречается у других, это свойство используется для идентификации возбудителя.

Для получения чистой культуры мы использовали отбор изолированных колоний на основе результатов типирования с помощью MALDI-TOF MS, демонстрировавший наличие в своем составе тех или иных маркерных молекул, присутствие которых однозначно указывало на видовую принадлежность отдельных колоний.

У всех выделенных культур определялся спектр антибактериальной чувствительности с помощью специальной коммерческой панели АТВ АНА

(Biometriox, Франция), содержащей в себе антибактериальные препараты в одной или нескольких концентрациях: пенициллин, амоксициллин, амоксициллин клавулонат, пиперациллин, пиперациллин + тазобактам, тикарциллин, тикарциллин + клавулановая кислота, цефокситин, цефотетан, цефепим, имипенем, меропенем, клиндамицин, хлорамфеникол, метронидазол. АТВ АНА состоит из 16 пар лунок. Первая пара не содержит антибиотиков и используется для постановки положительного контроля. Следующие 14 пар лунок содержат антибиотики. Последняя пара не содержит субстраты. В лунки стрипа вносится суспензия исследуемой культуры на основе питательной среды. По окончании инкубации рост в лунках регистрируется визуально или автоматически на приборах АТВ или *miniAPI*.

Так же с помощью Е-тестов на среде Wilkson – Chaldren агаре оценивалась МИК (минимальная ингибирующая концентрация) ванкомицина на *Clostridium (Clostridioides) difficile*.

В процессе исследования оценивалась продукция токсинов А и В *Clostridium (Clostridioides) difficile*.

Культуру *C. difficile* 1 McF количеством 100 мкл помещали в 5 мл сердечно – мозгового бульона в анаэробных условиях, инкубировали в течение 48 часов при температуре 37°C. Затем необходимое количество бульона наносили в лунку теста для идентификации токсинов А и В *Clostridium (Clostridioides) difficile* иммунохроматографическим методом, с последующей визуальной оценкой через 15 минут.

## **2.5. Подготовка больных к оперативному вмешательству.**

При наличии у пациента колостомы накануне операции следовало соблюдать бесшлаковую диету и применять осмотические слабительные препараты на основе полиэтиленгликоля для механического очищения кишечника. Больным с илеостомами подготовку кишечника не проводили. При наличии рентгенконтрастного вещества - сульфата бария - в отключенных отделах кишки

выполняли очистительные клизмы. За 12 часов до оперативного вмешательства для профилактики тромбоэмболических осложнений пациенту вводили подкожно 0,3 мл низкомолекулярного гепарина – надропарина кальция, обладающего прямым антикоагуляционным действием, при этом он непосредственно влияет на факторы свертывания, находящиеся в крови, также он активирует переход протромбина в тромбин. При наличии у больных сопутствующих сердечно-сосудистых заболеваний, доза надропарина кальция могла быть скорректирована. В комплекс мер по профилактике противэмболических осложнений входила обязательная эластическая компрессия нижних конечностей за 2 часа до операции при помощи бинтования или подбора специального трикотажа – чулок в зависимости от степени нарушения венозного кровотока. Надевание чулок или бинтование осуществлялось в горизонтальном положении пациента. Для контроля диуреза и постоянной интраоперационной декомпрессии мочевого пузыря, выполняли его катетеризацию. Всем пациентам оперативные вмешательства осуществлялись под комбинированной анестезией с использованием эпидурального обезболивания и внутривенного введения наркотических анальгетиков, миорелаксантов, гипнотиков. Постоянный венозный доступ гарантировался установкой центрального или периферического венозного катетера, эту манипуляцию проводили в предоперационной комнате. Для обеспечения необходимого уровня наркоза требовалось проведение аппаратной искусственной вентиляции легких в условиях тотальной миорелаксации. Для этого выполняли интубацию трахеи и синхронизировали дыхание с аппаратом ИВЛ. Для контроля основных жизненно важных функций организма интраоперационно проводился мониторинг работы дыхательной и сердечно-сосудистой систем. После окончания операции пациентов наблюдали в условиях отделения реанимации и интенсивной терапии, при стабилизации их состояния, и гладком течении ближайшего послеоперационного периода, переводили в хирургическое отделение. Оперативные вмешательства выполнялись с соблюдением всех принципов асептики и антисептики. Операционное поле обрабатывали растворами антисептиков на разных этапах

(перед кожным разрезом, перед и после формирования кишечного анастомоза, перед ушиванием раны передней брюшной стенки и сразу после). После наложения 1 ряда швов на кишку, выполняли обязательное обрабатывание операционного поля растворами антисептиков и производилась смена перчаток у всей оперирующей бригады. Техника формирования кишечного анастомоза, дренирование брюшной полости, способ ушивания операционной раны, самостоятельно выбирался оперирующим хирургом в зависимости от индивидуальных особенностей.

## **2.6. Санитарноэпидемиологические мероприятия в колопроктологическом отделении.**

В отделении хирургии и онкологии ободочной кишки был введен особый режим уборки. Также использовалось цветовое кодирование швабр, mopов и салфеток, обеспечивающих строгое разграничение помещений. Материал с зеленой маркировкой использовался для обработки перевязочных, смотровых, процедурных кабинетов; синий цвет - палаты и кабинеты; красный - санузелы, клизменные и коридор.

Порядок выполнения уборки палаты включал в себя перемещение пациентов в коридор. Далее проводилась обработка помещения с помощью ультрафиолетовой ксеноновой импульсной установки УИК6-01-«Альфа» для дезинфекции воздуха и поверхностей при отсутствии людей, производство ООО «НПП «Мелитта», Россия (Регистрационное удостоверение № ФСР 2010/06906 от 26.02.2010 г.; Сертификат соответствия ГОСТ Р № РОСС RU.ИМ04. В07590 по 08.03. 2013 г). Для каждого помещения была разработана специальная карта на которой было отмечено расположение прибора и параметры его работы. В работе использовалась специальная тележка для хранения чистых и увлажненных дезинфицирующим раствором салфеток и mopов, также на ней имелись контейнеры для сброса использованного материала, бутылки с раствором Бебидез Ультра с 3% содержанием перекиси водорода для орошения обрабатываемых поверхностей.

При этом чистыми салфетками, смоченными в растворе Бебидез Ультра с 3% содержанием перекиси водорода, протирались все горизонтальные поверхности от чистых до грязных. При дезинфекции особенно уделялось внимание ручкам дверей, кнопкам вызова медперсонала, поручням кроватей, выключателям, прикроватным тумбочкам, смесителя раковины. Далее чистым увлажненным mopом, смоченным в аналогичном дезинфицирующем растворе, выполнялось мытье полов от наиболее чистых к грязным, затем он сбрасывался в контейнер для отработанного материала.

Алгоритм уборки санитарных узлов несколько отличался, при этом предварительно проводилось орошение горизонтальных поверхностей раствором Бебидез Ультра с 3% содержанием перекиси водорода, далее чистой ветошью, смоченной тем же дезинфектантом, протирали поверхности от чистых к грязным, не забывая смеситель раковины, кнопку спуска воды в унитазе, диспенсор для бумаги, ручку квача, ручки дверей, выключатели, сиденье унитаза. Обработка помещений установкой УИК6-01-«Альфа» проводилась согласно рекомендованным точкам на схеме. Проводилось протирание чистой ветошью поверхностей, контактирующих с кожей пациента (сиденье унитаза, смеситель на раковине, кнопка слива воды на унитазе и др.). Для уборки полов применялись mopы, напитанные дезинфицирующим средством, согласно цветовому кодированию. Далее использованные mopы помещались в контейнер для использованных материалов, который был закреплен на тележке для уборки.

Необходимо отметить, что подготовка и разбор уборочной тележки осуществлялся в санитарной комнате. Далее грязный уборочный материал помещали в специальную стиральную машину, где он подвергался дезинфекции, стирке и сушке. Режимы обработки были индивидуальные для mopов и салфеток, но все они выполнялись при температуре 70<sup>0</sup>С. После этого сухие и чистые материалы укладывались в специальные маркированные контейнеры для уборки и напитывались необходимым количеством раствора Бебидез Ультра с 3% содержанием перекиси водорода.

Идентичный алгоритм уборки осуществлялся в отделении онкопроктологии за исключением использования установки УИК6-01-«Альфа».

Следует также отметить, что подушки и одеяла в обоих отделениях, после выписки пациента из стационара, обрабатывались в специальной передвижной установке Sanipill с помощью озона. Это обеспечивало полную дезинфекцию постельных принадлежностей.

Исходя из фекально–орального пути передачи *C. difficile* особое внимание уделялось мероприятиям по обработке рук и грязной столовой посуды. Так мытье рук пациентов и медработников осуществлялось с использованием жидкого мыла (система Стеризол) и воды, по определенному алгоритму, схема которого была закреплена перед каждой раковиной. Далее кожу рук осушали одноразовыми бумажными полотенцами, находившимся в диспенсере рядом. Затем втирающими движениями наносили спиртовой антисептик (система Стеризол) и ждали его полного высыхания. Обработка тарелок, кружек и столовых приборов выполнялась в промышленной посудомоечной машине с фронтальной загрузкой МПК – 500 (АВАТ) с автоматическим дозированием дезинфицирующих и моющих средств при температуре 90<sup>0</sup>С.

## 2.7. Статистические методы оценки результатов.

Все необходимые сведения о пациентах заносились в электронную таблицу Excel. Взаимосвязь между категориальными или номинальными величинами определяли с помощью критерия хи-квадрата Пирсона. Для сравнения средних величин был применен непарный t-тест с поправкой Стьюдента для малых выборок при сравнении двух групп. При негауссовом распределении вычисляли медиану, верхний и нижний квартили. При нормальном распределении вариационного ряда количественные параметры оценивали с помощью средней  $M$  и среднеквадратического отклонения  $\sigma$ . Различия в бинарных величинах оценивали с помощью точного двустороннего теста Фишера. Сравнение средних значений трех и более групп осуществляли с помощью дисперсионного анализа (метод

ANOVA). Обработка результатов выполнялась с применением компьютерных программ SPSS Statistics 22, Microsoft Excel 2010. Различия принимались как статистически достоверными при значении  $p \leq 0,05$ .



### **ГЛАВА 3. КЛИНИЧЕСКАЯ КАРТИНА И МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ КЛОСТРИДИАЛЬНОГО КОЛИТА.**

Всего в исследовании участвовало 549 пациентов. Из них 47 (8,5%) проходили обследование, а 502 (91,5%) были подвергнуты хирургическому лечению. Причем у 482 (96%) больных это были первичные вмешательства в данном лечебном учреждении, а у 20 (4%) пациентов - повторные операции. В основной группе было 212 больных, а в контрольной – 337 пациентов.

#### **3.1. Клинические проявления клостридиального колита у колопроктологических больных.**

Основную группу составили пациенты, у которых в стационаре развилась клиническая картина клостридиального колита. 203 (96%) из 212 больных были оперированы, а 9 (4%) больных находились на обследовании. Из 203 пациентов с сохраненной анальной дефекацией было 91 (43%), с наличием илеостомы и колостомы - 80 (38%) и 41 (19%) больных, соответственно. У всех больных отмечалась диарея, что клинически проявлялось увеличением количества кишечного отделяемого по илео- более 1000 мл или колостоме более 500 мл или учащением стула до 3 и более раз в сутки. Гипертермия, как симптом, говорящий о системной воспалительной реакции, выявлялась у 165 (78%) больных. Другой важный признак клостридиального колита - это метеоризм, он определялся у 95 (45%) из 212 пациентов. Рвота и боли в животе наблюдались значительно реже и зарегистрированы у 33 (16%) и 24 (11%) больных, соответственно (табл. 8).

Таблица 8. Клинические проявления клостридиального колита у пациентов 1 группы.

Симптомы	n=212 (100%)
Диарея	212 (100%)
Гипертермия	165 (78%)
Метеоризм	95 (45%)
Рвота	34 (16%)

Боли в животе	23 (11%)
---------------	----------

Проведенный анализ клинических и биохимических показателей крови у пациентов с клинической картина кластридиального колита выявил следующие изменения. Так у 124 (58%) больных выявлялась анемия (гемоглобин ниже 120 г/л). Известно, что в патогенезе кластридиального колита присутствует воспаление кишечной стенки, поэтому нас интересовала величина маркеров воспаления. Так медиана содержания лейкоцитов в периферической крови была  $8,82 \times 10^9$  ( $6,49 \times 10^9$ ;  $11,3 \times 10^9$ ) клеток /л. Медиана уровня С-реактивного белка составляла 62,7 (24,65; 121,75) мг/л. У 101 (48%) больных зарегистрирована гипоальбуминемия ниже 35 г/л. Гипопротеинемия отмечалась у 127 (60%) пациентов. Высокий уровень креатинина определялся у 40 (19%) больных. Низкое значение содержания калия в сыворотке крови обнаруживалось у 17 (8%) пациентов (табл. 9).

Таблица 9. Лабораторные показатели кластридиального колита у пациентов 1 группы.

Лабораторные показатели	n=212 (100%)
Анемия (гемоглобин ниже 120 г/л)	123 (58%)
Гипопротеинемия (общий белок ниже 66 г/л)	127 (60%)
Гипоальбуминемия (альбумин ниже 35 г/л)	102 (48%)
Гипокалиемия (калий ниже 3,8 г/л)	17 (8%)
Высокий уровень креатинина (выше 104 мкмоль/л)	40 (19%)
Высокий уровень С-реактивного белка (выше 5,0 мг/л)	184 (87%)

В мировой литературе имеется ограниченное количество публикаций о детекции *C. difficile* в тонкой кишке, исходя из локализации воспалительного процесса, возникающего в толстой кишке. Однако, в нашем исследовании мы отмечали увеличение количества кишечного отделяемого по илеостоме за сутки и изменение его консистенции в сторону разжижения. Мы трактовали данную ситуацию как манифестацию кластридиального колита, при этом в подавляющем большинстве

случаев у пациентов с подобной клинической симптоматикой обнаруживали *Clostridium (Clostridioides) difficile* в кишечном содержимом. Так у 52 (65%) из 80 больных в 1 группе с илеостомой общее количество тонкокишечного содержимого колебалось от 1000 до 2000 мл за сутки, а медиана этого показателя была 1500 (1400; 2000) мл/сутки.

У 41 (19%) из 212 больных 1 группы с колостомой отмечено увеличение количества и появление более жидкого кишечного отделяемого по стоме. Медиана потерь составила 725 (600; 800) мл/сутки. При сохраненной анальной дефекации медиана частоты стула составила 8 (5; 10) раз/сутки.

Проведенный корреляционный анализ не выявил влияния титра обсемененности *Clostridium difficile* на частоту стула ( $r_1 = 0,06$ ), объем кишечного отделяемого по илео- ( $r_2 = -0,13$ ), колостоме ( $r_3 = 0,11$ ). Таким образом, нами не установлено связи между степенью выраженности клинической симптоматики клостридиального колита с определяемым в кале титром *C. difficile*.

В научной литературе, посвященной клостридиальному колиту, чаще всего в роли этиологического агента описывается бактерия *Clostridium (Clostridioides) difficile*. В нашей работе при анализе результатов мы ориентировались на эти данные [94]. Анализ клинической картины клостридиального колита выявил ее схожесть вне зависимости от определяемого этиологически значимого микроорганизма. У 38 (18%) из 212 больных клиническая картина была обусловлена другими представителями рода *Clostridium (Clostridium perfringens, Clostridium novyi, Clostridium hathwayi)*. Также, как и при CDI в 100% случаев имел место диарейный синдром, в 82% - гипертермия, в 42% - метеоризм, в 13% - рвота, в 11% - боль в животе.

Степень выраженности диареи, обусловленной *Clostridium spp.*, варьировалась в широких пределах. Так у 19 (50%) из 38 больных с сохраненной анальной дефекацией медиана частоты стула была 10 (5; 14) раз/сутки. У 14 (37%) пациентов

с илеостомой медиана количества кишечного содержимого составила 1750 (1500; 2300) мл/сутки, что сопоставимо с данными полученными при колите, вызванном *C. difficile*. У 5 (13%) пациентов с наличием колостомы был проанализирован объем потерь кишечного содержимого, при этом медиана этого показателя составила 750 (550; 1000) мл/сутки.

Таблица 9. Характеристика диарейного синдрома у больных 1 группы в зависимости от этиологического фактора.

Признак	<i>Clostridium</i> ( <i>Clostridioides</i> ) <i>difficile</i> , <i>n</i> =163	<i>Clostridium</i> spp., <i>n</i> =38	p
Стул, медиана (квартили), раз/сутки	8 (5; 10)	10 (5; 14)	0,4*
Отделяемое по илеостоме, медиана (квартили), мл/сутки	1500 (1400; 2000)	1750 (1500; 2300)	> 0,1*
Отделяемое по колостоме, медиана (квартили), мл/сутки	725 (600; 800)	750 (550; 1000)	> 0,1*

\*- t-критерий Стьюдента.

### 3.1.1. Сроки госпитализации больных с *C. difficile* инфекцией.

В ходе работы оценивалось влияние факта возникновения клостридиального колита на продолжительность госпитализации пациента в стационаре. При этом медиана общего койко-дня в основной группе была 15 (12; 21), а в контрольной - 11 (7; 14) дней ( $p < 0,01$ ). Также изучался предоперационный и

послеоперационный койко-день у оперированных пациентов в 1 и 2 группе. При анализе длительности предоперационного периода статистически значимых различий в сроках госпитализации не получено ( $p > 0,05$ ), однако при оценке нахождения больных после оперативного вмешательства койко-день был больше в основной группе на 4 ( $p < 0,01$ ) (табл. 10).

Таблица 10. Общий, предоперационный и послеоперационный койко-день в 1 и 2 группе.

Период	1 группа (n=212)	2 группа (n=337)
Общий койко-день, медиана (квартили)	15 (11; 21,5)	11 (7; 14)
	$p < 0,01^*$	
Предоперационный койко-день, медиана (квартили)	Оперировано больных	
	n=203	n=299
	2 (1; 5)	3 (1; 5)
	$p > 0,05^*$	
Послеоперационный койко-день, медиана (квартили)	11 (8; 15)	7 (6; 11)
	$p < 0,01^*$	

\*- t-критерий Стьюдента.

### 3.2. Лабораторная диагностика CDI.

Для диагностики CDI мы применяли следующие методы исследования:

#### I. Иммунологические:

1) Иммунохроматографический анализ (ИХА):

- определение ГДГ *C. difficile* в кале
- определение токсинов А и В *C. difficile* в кале;

2) Иммуноферментный анализ (ИФА):

- определение ГДГ *C. difficile* в кале
- определение токсинов А и В *C. difficile* в кале.

**II. Микробиологический**, в основе которого лежит выделение чистой культуры *C. difficile*;

### 3.2.1 ИХА диагностика *C. difficile*.

В нашей работе на первом этапе во всех образцах кала исследовалось наличие фермента ГДГ и токсинов А и В *C. difficile*.

У 47 (22%) пациентов 1-ой и у 104 (31%) больных 2 группы при поступлении тест на наличие ГДГ был позитивным, а при развитии клинической картины клостридиального колита - у 78 (37%) пациентов основной группы. При выписке из стационара тест был положительным у 40 (19%) и у 125 (37%) больных 1-ой и 2 группы, соответственно.

При определении токсинов А и В *C. difficile* методом ИХА токсин А был выявлен у 6 (3%) пациентов основной и у 7 (2%) больных контрольной группы. У 64 (30%) пациентов 1-ой и у 135 (40%) больных 2 группы обнаружен только токсин В. Наличие же обоих токсинов зарегистрировано у 23 (11%) больных основной и у 44 (13%) пациентов контрольной группы. При возникновении клинической картины клостридиального колита токсин А выявлен у 2 (1%) пациентов, а только токсин В - у 93 (44%) больных 1 группы. Оба токсина определялись у 21 (10%) пациента.

При выписке выполняли повторный анализ кала, при этом, токсин А *C. difficile* выявлялся у 2 (1%) пациентов 1 и у 2 (1%) больных 2 группы, а токсин В *C. difficile* - у 66 (31%) больных основной и у 111 (33%) пациентов контрольной группы. Наличие обоих токсинов *C. difficile* детектировалось у 11 (5%) больных 1 и у 53 (16%) пациентов 2 группы (табл. 11).

Таблица 11. Иммунохроматографический анализ кала пациентов 1 и 2 группы на наличие ГДГ, токсинов А и В *C. difficile*.

Этап госпитализации	Антигены	1 группа (n=212)	2 группа (n=337)	p
Поступление	ГДГ <i>C. difficile</i>	47 (22%)	104 (31%)	0,027
	Токсин А <i>C. difficile</i>	6 (3%)	7 (2%)	0,6
	Токсин В <i>C. difficile</i>	64 (30%)	135 (40%)	0,02
	Токсины А + В <i>C. difficile</i>	23 (11%)	44 (13%)	0,45
Клиника клостридиального колита	ГДГ <i>C. difficile</i>	78 (37%)		
	Токсин А <i>C. difficile</i>	2 (1%)		
	Токсин В <i>C. difficile</i>	93 (44%)		
	Токсины А + В <i>C. difficile</i>	21 (10%)		
Выписка	ГДГ <i>C. difficile</i>	40 (19%)	125 (37%)	< 0,0001
	Токсин А <i>C. difficile</i>	2 (1%)	2 (1%)	0,6
	Токсин В <i>C. difficile</i>	66 (33%)	111 (33%)	0,7
	Токсины А + В <i>C. difficile</i>	11 (5%)	53 (16%)	< 0,001

### 3.2.2 ИФА диагностика *C. difficile*.

Помимо ИХА при поступлении выполняли исследование кала на наличие фермента ГДГ и токсинов А и/или В *C. difficile*.

При госпитализации позитивные результаты ГДГ определялись у 8 (4%) больных 1-ой и у 21 (6%) пациента 2 группы. При развитии клинической картины CDI наличие этого фермента отмечено у 34 (16%) пациентов основной группы. При выписке ГДГ обнаруживали в образцах кала у 17 (8%) больных 1-ой и у 6 (2%) пациентов 2 группы.

Тест - система для идентификации токсинов А и В *C. difficile* не давала возможности разграничить их наличие по отдельности. Так, при поступлении пациентов в стационар позитивный результат на наличие токсинов определялся у 24 (11%) больных 1-ой и у 83 (25%) пациентов 2 группы. При развитии клинической картины CDI тест был положительным у 80 (38%) больных. При выписке из стационара все пациенты повторно сдавали анализ кала, при этом, позитивный результат на наличие токсинов *C. difficile* был у 54 (26%) больных основной и у 110 (33%) пациентов контрольной группы (табл. 12).

Таблица 12. Иммуноферментный анализ кала пациентов 1 и 2 группы на наличие ГДГ, токсинов А и/или В *C. difficile*.

Этап госпитализации	Антигены	1 группа (n=212)	2 группа (n=337)	p
Поступление	ГДГ <i>C. difficile</i>	8 (4%)	21 (6%)	0,2
	Токсины А,В <i>C. difficile</i>	24 (11%)	83 (25%)	< 0,001
Клиника клостридиального колита	ГДГ <i>C. difficile</i>	34 (16%)		
	Токсины А,В <i>C. difficile</i>	80 (38%)		
Выписка	ГДГ <i>C. difficile</i>	17 (8%)	6 (2%)	< 0,001
	Токсины А,В <i>C. difficile</i>	54 (26%)	110 (33%)	> 0,05

### 3.2.3 Микробиологическая диагностика *C. difficile*.

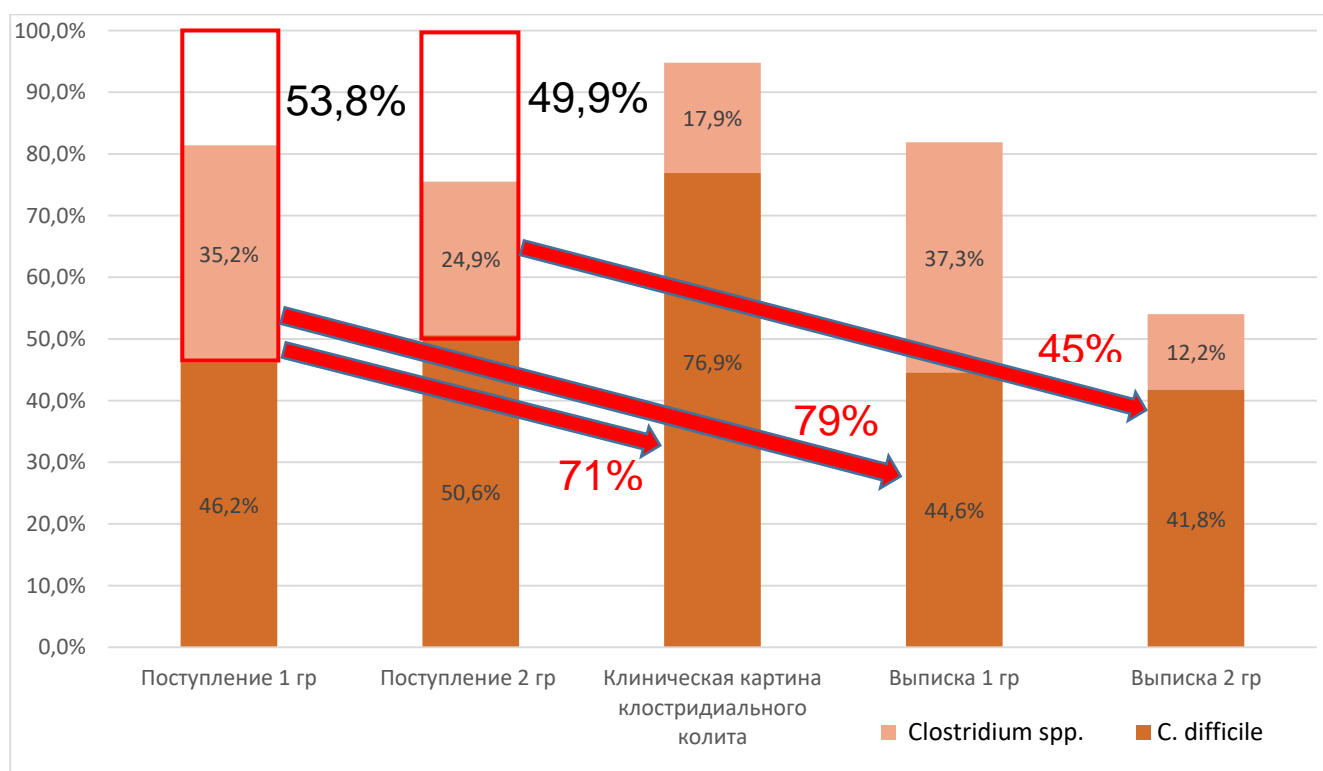
При поступлении удалось выделить культуру *C. difficile* у больных, которые в дальнейшем были отнесены в 1-ую и 2 группу в 98 (46,2%) и 169 (50,1%) случаях, соответственно ( $p > 0,05$ ). В период госпитализации у 212 (38,6%) пациентов, составивших основную группу, развилась клиника CDI. При бактериологическом



исследовании стула у 163 (76,9%) больных была детектирована *C. difficile*, как этиологический фактор нозокомиальной диареи.

При выписке *C. difficile* выявлялась в образцах кала у 95 (44,8%) и у 141 (41,8%) пациента 1-ой и 2 группы, соответственно ( $p > 0,05$ ). В тоже время статистически значимых различий в основной группе по частоте обнаружения *C. difficile* при поступлении и выписке не было выявлено. *C. difficile* детектировалась у 98 (46,2%) и у 95 (44,8%) больных, соответственно ( $p > 0,05$ ).

Рисунок 1. Бактериологическое исследование кала и отделяемого по стоме на *C. difficile* и *Clostridium spp.* в 1 и 2 группе.

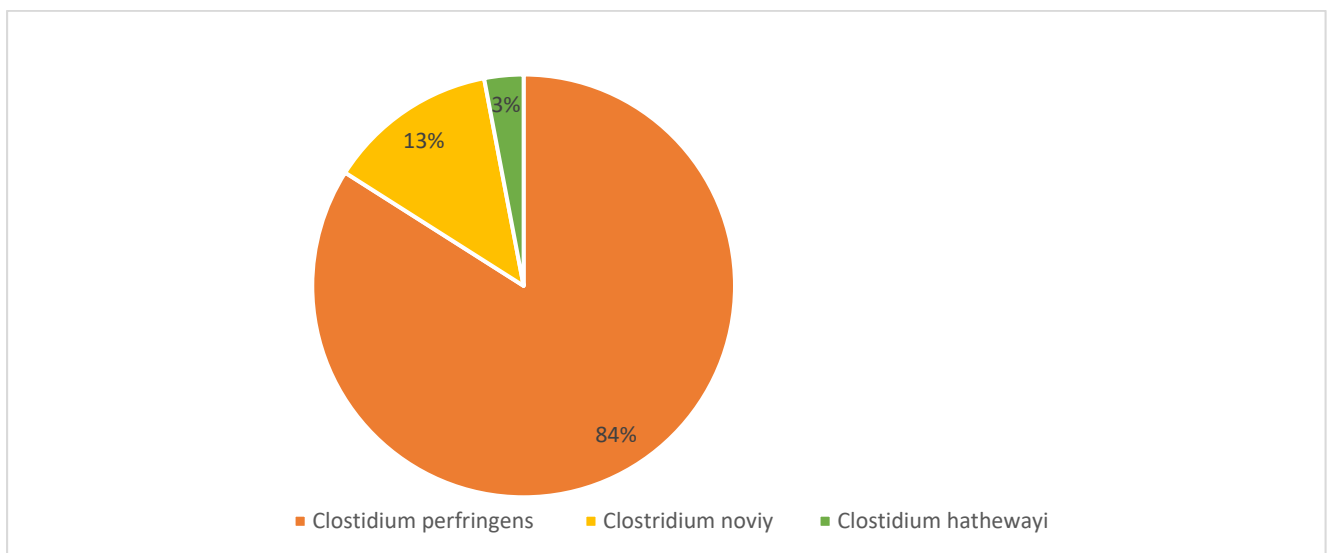


В результате, проведенного исследования, нами были получены интересные данные, так у 114 (53,8%) из 212 пациентов 1 группы, у которых не обнаруживалась *Clostridium (Clostridioides) difficile* в кале при поступлении, у 81 (71%) больного при госпитализации развилась клиническая картина клостридиального колита, обусловленная *C. difficile*. Этот факт свидетельствует о значимости экзогенного пути заражения, то есть заражение пациента *C. difficile* произошло из

внутрибольничной среды. Перед выпиской оценен факт носительства *Clostridium (Clostridioides) difficile*. Так, в 1 группе оно имелось у 90 (79%) из 114 больных, у которых ранее этот возбудитель не определялся. А у 168 (49,9%) из 337 пациентов 2 группы, у которых отсутствовала *C. difficile* в кале при поступлении в стационар, при выписке возбудитель детектировался у 75 (44,7%) больных.

В случае возникновения клинической картины клостридиального колита у больных основной группы, при бактериологическом исследовании *C. difficile* обнаруживалась у 163 (76,9%) пациентов. При этом, особый интерес представляют пациенты с диареей, когда при бактериологическом исследовании кала были выявлены другие представители рода *Clostridium*. Эти микроорганизмы были обнаружены у 38 больных (17,9 %) при отсутствии *C. difficile*. Так, у 32 (84%) пациентов обнаружена *Clostridium perfringens*, у 5 (13%) больных - *Clostridium novyi*, у 1 (3%) пациента - *Clostridium hathewayi* (рис. 2).

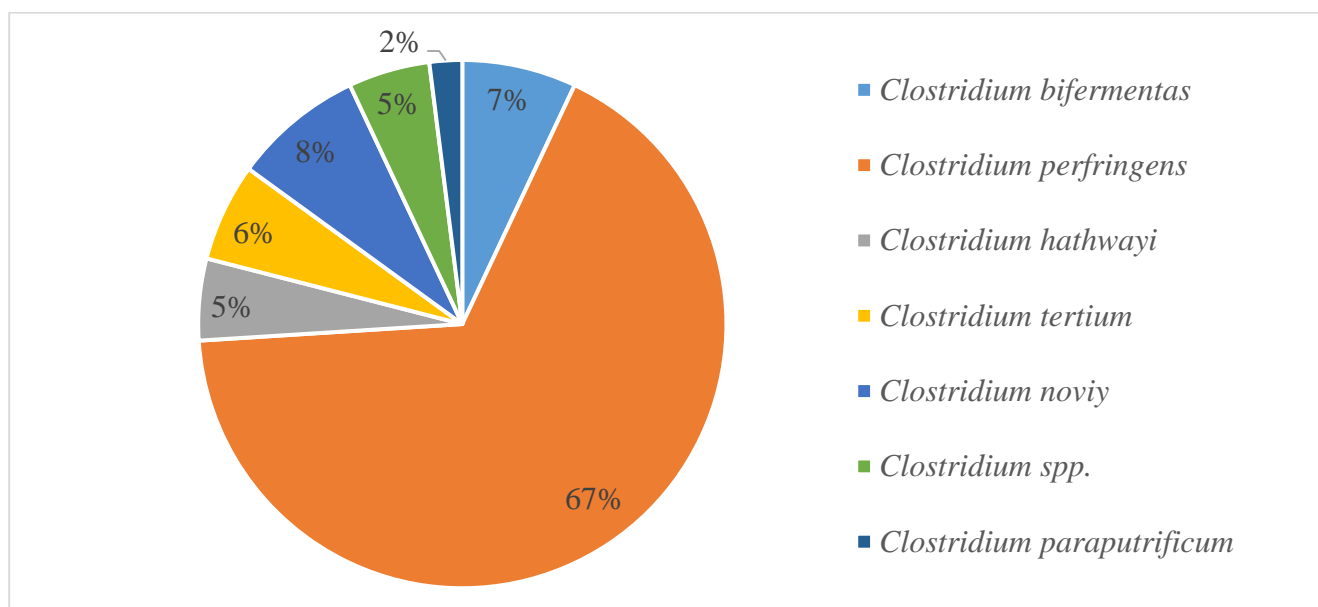
Рисунок 2. Клинически значимые микроорганизмы рода *Clostridium* при отсутствии *Clostridium (Clostridioides) difficile*. N=38.



Стоит отметить, что у 86 (41%) из 212 пациентов 1 группы помимо наличия *C. difficile* в кале выявлялись и другие представители этого рода. Так, у 58 (67%) больных были обнаружены *Clostridium perfringens*, а у других 28 (33%) пациентов

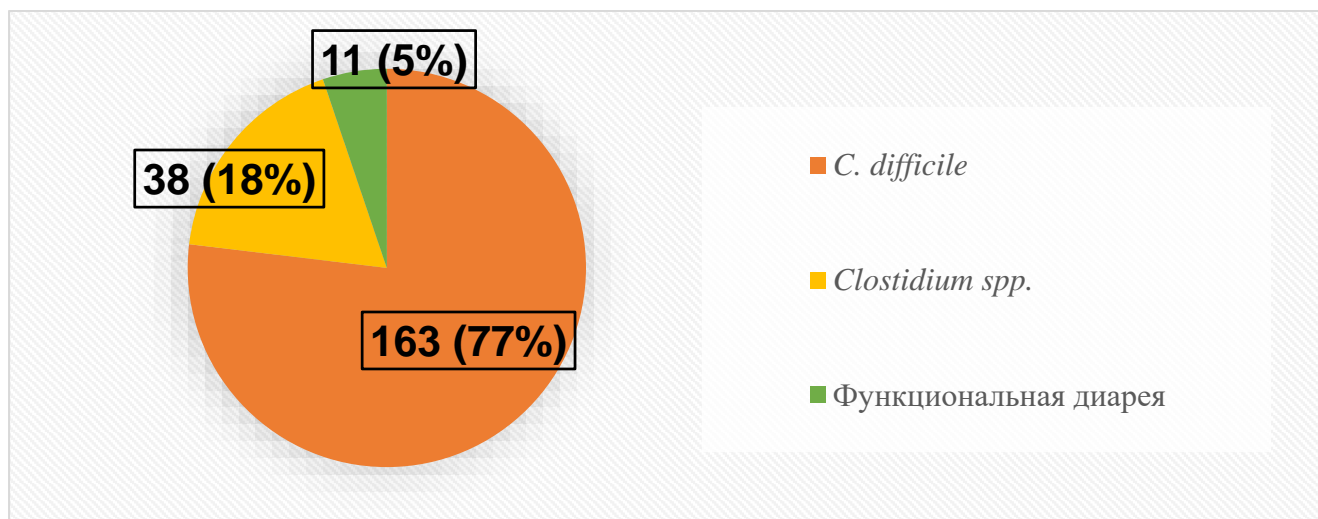
- остальные представители рода *Clostridium* (рис. 3). Учитывая тот факт, что у пациентов с клинической картиной CDI, определялись токсины *C. difficile*, при этом сам возбудитель не был обнаружен при микробиологическом исследовании. Ввиду близкого родства микроорганизмов рода *Clostridium* существует обмен генетической информацией, в том числе ответственной за синтез определенных белков - токсинов, которые при детекции в ИХА и ИФА определяются как положительные вследствие неспецифических и перекрестных реакций.

Рисунок 3. Клинически значимые в отношении развития диареи микроорганизмы рода *Clostridium* без учета *Clostridium difficile*. N= 86.



При бактериологическом исследовании кала у 11 (5,2%) больных 1 группы пациентов с клинической картиной диареи не были обнаружены микроорганизмы, способные вызвать данное состояние. Оно было расценено, как функциональное нарушение ЖКТ (рис. 4).

Рисунок 4. Структура диареи у больных 1 группы в зависимости от этиологического фактора. N=212.



В ходе нашей работы также оценивалась чувствительность *C. difficile* к антибактериальным препаратам. Оказалось, что резистентность к ванкомицину составила - 4%, а к метронидазолу - 20%. По данным Freeman J. (2015) она составляла 0,87% и 0,11%, соответственно, [36], а в исследовании Freeman J. (2017) резистентность к ванкомицину была 0,1% , а к метронидазолу – 0,2%, что несомненно меньше, чем по нашим данным [37]. Эта негативная тенденция говорит о чрезмерном использовании антибактериальных препаратов, как на амбулаторном этапе, в том числе самостоятельное использование лекарственных средств без назначения врача, так и избыточное их применение в стационаре.

Для понимания актуальности проблемы приводим следующий клинический случай. Данный пример показывает возможность отсроченного возникновения клостридиального колита, даже на фоне однократного профилактического введения антибиотика.

Пациент Л., 1984 года рождения, и/б №2781-16 в плановом порядке 25.04.2016 поступил в ФГБУ "ГНЦК им А.Н. Рыжих" Минздрава России с жалобами на наличие стомы на передней брюшной стенке для решения вопроса о возможности выполнения реконструктивно-восстановительной операции – закрытия илеостомы.

Из анамнеза известно, что в течение 11 лет пациента беспокоило отсутствие самостоятельного стула более 3 дней, которое сопровождалось болью в животе. Больной самостоятельно пытался скорректировать данное состояние диетой богатой клетчаткой, прибегал к очистительным клизмам и приему слабительных препаратов. Однако несколько раз на фоне приема значительного количества солевых слабительных случались завороты сигмовидной кишки, приводящие к госпитализации и консервативному лечению, включающему проведение спазмолитической, инфузионной терапии с интубацией и декомпрессией толстой кишки. Весь проводимый комплекс мероприятий был эффективен, что приводило к разрешению клинической симптоматики. 25.03.13 подобное состояние не удалось купировать консервативным лечением, в связи с чем выполнено экстренное оперативное вмешательство в объеме лапаротомии, деторсии сигмовидной кишки, мезосигмопексии, ретроградной трансанальной интубацией толстой кишки. Интраоперационно был выявлен заворот брыжейки сигмы на 360 градусов. В декабре 2014 года больной обратился в ГНЦК, где был установлен диагноз идиопатического мегаректума, левостороннего мегаколона, осложненного персистирующими заворотами сигмовидной кишки с нарушением кишечной проходимости. 12.12.14 больной был оперирован. Выполнено плановое оперативное лечение - резекция левых отделов ободочной кишки с резекцией прямой кишки, продольной проктопластикой, с формированием десцендоректального анастомоза, илеостомей по Торнболлу. 25.12.14 в связи с развившейся несостоятельностью колоректального анастомоза был оперирован повторно после лапаротомии произведено разобщение десцендоректального анастомоза, формирование одноствольной десцендостомы, санация и дренирование брюшной полости. Получал антибактериальный препарат дорипрекс по 500 мг 3 раза в течение 10 дней. Дальнейший послеоперационный период протекал без осложнений. Во время следующей госпитализации 07.10.15 в ГНЦК выполнена плановая реконструктивно-восстановительная операция в объеме ликвидации одноствольной десцендостомы с формированием

десцендоректального анастомоза с сохранением существующей илеостомы по Торнболлу. 25.04.2016 поступил в ГНЦК для закрытия превентивной илеостомы.

При поступлении общее состояние пациента было удовлетворительным. Больной нормального питания, ИМТ = 20,4 кг/м<sup>2</sup>. Кожные покровы и видимые слизистые физиологической окраски и влажности. Периферические лимфатические узлы не увеличены. В легких дыхание везикулярное, проводилось во все отделы, хрипы не определялись, ЧДД – 16 в 1 минуту. Тоны сердца ясные, ритмичные. Пульс – 70 уд/мин. АД – 120/70 мм рт. ст. Язык влажный, чистый. Живот не был вздут, при пальпации мягкий, безболезненный во всех отделах. Перитонеальных симптомов нет. Дизурических явлений не отмечал. В правой мезогастральной области определялась двуствольная илеостома без признаков парастомальных осложнений.

При осмотре промежности: перианальная область не изменена. Мацерации, расчёсов нет. Тонус анального сфинктера нормальный, волевые усилия достаточные. При пальцевом исследовании колоректальный анастомоз определяем на 5 см от края ануса. Свободно проходим при пальцевом исследовании. Стенка кишки в области анастомоза без отека. Предстательная железа плотно эластичной консистенции, междолевая бороздка сохранена, патологических образований не выявлено.

При поступлении обращали на себя внимание изменения в результатах лабораторных исследований. Так, в биохимическом анализе крови был увеличен уровень С-реактивного белка до 24,4 мг\л (норма 0-5 мг\л), в общем клиническом анализе мочи - лейкоцитурия, бактериурия, в гемокоагулограмме – гипокоагуляция (протромбиновое время - 16,6 с; норма 9,9-13,5 с), МНО - 1,28 (норма 0,9-1,2), АЧТВ - 39,9 с (28,6-38,6 с). В общем клиническом анализе крови отклонений от нормы не выявлено. При иммунологическом исследовании кала ГДГ, токсины А и В *S. difficile* методами ИХА и ИФА – выявлены не были. При бактериологическом исследовании бактерии *Clostridium spp.* – не обнаружены.

При колоноскопии от 30.03.16 колоноскоп Pentax (16) проведен через анус до купола слепой кишки. Просвет ободочной кишки во всех отключенных оставшихся отделах не изменен. На 9 см от наружного края анального канала визуализируется межкишечный анастомоз "конец в конец". Зона анастомоза четко дифференцируется, линия анастомоза в виде циркулярной складки, края анастомоза ровные, просвет кишки в зоне анастомоза до 1,3 см в Д, стенки эластичные, слизистая оболочка розовая. В зоне анастомоза визуализируются 2 металлические скрепки. Просвет оставшейся части прямой кишки не изменен, слизистая оболочка розовая.

При проктографии от 1.04.16 дистальный отдел толстой кишки контрастирован бариевой взвесью, осмотрен после опорожнения и после раздувания воздухом. Сигморектальный анастомоз определялся на уровне копчика, шириной 2 см. Контуры анастомоза ровные, симметричные. Складки сохранены, стенка эластичная. Выхода контрастного вещества за пределы кишечной стенки нет.

30.03.16 выполнено УЗИ органов брюшной полости, малого таза, забрюшинного пространства: печень без патологии. Полость желчного пузыря размерами 72x23мм, пристеночно выявлялись гиперэхогенные округлые образования размером 2 и 5мм, аваскулярные при доплерографии, не смещаемые при перемене положения тела, не дающие УЗ тень. Стенки пузыря не утолщены, уплотнены. Общий желчный проток не визуализируется из-за метеоризма. Поджелудочная железа не увеличена, контур ровный, структура диффузно неоднородная. Осмотрена парааортальная зона на уровне поджелудочной железы, патологические образования и увеличенные л\у не выявляются. Селезенка не увеличена, структура однородная. Селезеночная вена не расширена. Почки расположены типично, при дыхании подвижны. Правая почка размерами 102x50мм, контур ровный, ЧЛС не расширена, лоханка расположена внепочечно, размером 13x9мм, паренхима не истончена – 17мм. Левая почка размерами 111x50мм, контур ровный, ЧЛС не расширена, паренхима не истончена – 20мм. В обеих почках определяется

кортикомедуллярная дифференцировка, пирамидки не расширены. При исследовании органов малого таза определяется симметричный мочевой пузырь с ровными стенками, в полости его патологические образования не выявляются. Семенные пузырьки не расширены, пониженной эхогенности, однородной структуры.

При эзофагогастродуоденоскопии от 30.03.16 видеогастроскоп ГИФ КУ150(1) проведен за глоточное кольцо, пищевод проходим, слизистая розовая, сосудистый рисунок не изменен. В желудке складки воздухом расправлялись, слизистая розовая, область угла не деформирована, в теле и антральном отделе желудка имеются лимфоидные фолликулы 0,2см, белесоватые, сосудистый рисунок не изменен. Луковица двенадцатиперстной кишки деформирована рубцом по передней стенке, слизистая розовая. Двенадцатиперстная кишка осмотрена до нижнего изгиба рельеф и просвет не деформированы, слизистая розовая, область фатерова соска не изменена.

При магниторезонансной томографии органов малого таза с контрастированием от 31.03.16 Мочевой пузырь равномерно заполнен, содержимое его однородное. Утолщения стенок мочевого пузыря не выявлено. Предстательная железа не увеличена, имеет обычную форму, четкие контуры, структура однородная. Парарепродуктивные ткани не изменены. Семенные пузырьки не увеличены. Паравезикальное пространство без особенностей. Культия прямой кишки протяженностью 8,7 см. Колоректальный анастомоз по типу "конец в бок" без патологических изменений. Правый и левый семенные пузырьки подпаяны к зоне колоректального анастомоза. Параректальная клетчатка не инфильтрирована. Тазовые лимфатические узлы не увеличены.

Суммируя все выше изложенные результаты клинико-инструментального обследования, был установлен диагноз: двуствольная илеостома. Состояние после ликвидации одноствольной десцендостомы, формирования реконструктивно-



восстановительного десцендо-ректального анастомоза с сохранением существующей илеостомы по Торнболлу (07.10.15). Состояние после разобщения десцендоректального анастомоза, формирования одноствольной десцендостомы, санации, дренирования брюшной полости и малого таза (25.12.14) по поводу несостоятельности десцендоректального анастомоза, тазового перитонита. Состояние после резекции левых отделов ободочной кишки с резекцией прямой кишки, продольной проктопластики, формирования десцендоректального анастомоза, илеостомии по Торнболлу (12.12.14) по поводу идиопатического мегаректума, левостороннего мегаколона, осложненного персистирующими заворотами сигмовидной кишки с нарушением кишечной проходимости. Состояние после деторсии заворота сигмовидной кишки, сигмопексии (25.03.13). Пропалс митрального клапана 1ст.

Больной в плановом порядке оперирован 27.04.16 выполнено внутрибрюшное закрытие илеостомы. В ходе операции решено было сформировать антиперистальтический илеоилеоанастомоз по типу «бок в бок» при помощи аппарата NTLC-75.

Необходимо отметить, что в предоперационном периоде больному однократно было введено 1,2 г амоксиклава. На 3 сутки у больного было отмечено появление активной перистальтики, начали самостоятельно отходить газы. Температура тела оставалась нормальной. На 4 сутки отмечен самостоятельный стул до 3 раз в сутки, небольшими порциями. В биохимическом анализе крови от 5.05.16 на 9 день после операции у пациента отмечались изменения показателей: гипопроотеинемия до 57 г\л (норма 66.0-83,00 г\л), гипокалиемия до 3 ммоль\л (норма 3,8-5,5 ммоль\л), увеличение уровня С-реактивного белка до 61 мг\л (норма 0-5 мг\л). В клиническом анализе крови от 5.05.16 легкая анемия до 117 г\л. Ранний послеоперационный период протекал без особенностей.

С 6 дня послеоперационного лечения отмечалось повышение температуры тела до

37,2 °С, общее состояние пациента не страдало.

Однако, 10.05.16 на 13 день после операции пациент отметил повышение температуры тела до 38°С, слабость. При физикальном обследовании обращали на себя внимание болезненность при пальпации в области послеоперационной раны. Перитонеальные симптомы - отрицательные. При аускультации перистальтика активная. Стул был 1 раз в сутки. При ревизии послеоперационной раны - признаков локального воспаления не выявлено. В легких - дыхание везикулярное, хрипов нет, ЧД=16 в мин. С целью исключения острой хирургической патологии пациенту решено было выполнить КТ (компьютерная томография) органов брюшной полости и малого таза.

Лечащим врачом назначены таблетки Метронидазола по 500 мг 3 раза в день, а также: Альфа нормикс по 2 кап. 2 раза в день, Аспаркам 1 таб. 3 раза в день, Дюспаталин по 2 кап. 2 раза в день, Метоклопрамид по 1 таб. 3 раза в день.

При КТ от 10.05.16: в дистальные отделы толстой кишки введено водорастворимое контрастное вещество. В участках легких изменений не выявлено. Оставшиеся отделы ободочной кишки расширены до 9-10 см. Стенка кишки в правых отделах представляется утолщенной до 0,7 см. Паракишечная клетчатка несколько уплотнена. В илеоцекальной области по ходу сосудов брыжейки определялись увеличенные до 1,3 - 1,6 см лимфатические узлы. В правом латеральном канале определялись незначительное количество жидкости. Зона десцендоректального анастомоза, сформированного «конец в бок» определяется на уровне 4 крестцового позвонка. Выхода контраста за пределы стенки кишки не было. Зона илеоилеоанастомоза определялась по скрепкам. Изменений также не было.

В общем анализе крови от 10.05.16 анемия до 111г/л, лейкоцитоз до  $23,7 \times 10^9$  сдвиг лейкоцитарной формулы влево - палочкоядерные лейкоциты до 19,0% низкий уровень гематокрита до 35,0, тромбоцитоз до  $605 \times 10^9$ .

11.05.16 у больного отмечено повышение температуры до 38°С, сильная слабость,

участился стул до 10 раз в сутки. В анализе кала обнаружен токсин В (при ИХА), однако при ИФА он был негативным, при этом тест на ГДГ *C. difficile* был отрицательным (при ИХА, ИФА). При бактериологическом исследовании выделена культура *Clostridium (Clostridioides) difficile* в титре  $10^5$  КОЕ.

При колоноскопии от 11.05.16 Колоноскоп Olympus (24) проведен на 30 см выше уровня анастомоза. Просвет кишки во всех отделах не изменен, тонус нормальный, циркулярные складки обычных размеров, кишечная стенка эластична. Слизистая оболочка кишки на всем осмотренном участке, выше и ниже анастомоза розового цвета, с гладкой, блестящей поверхностью, покрыта множественными до 0,3-0,4 см в диаметре, фибринозными бляшками. Зона анастомоза четко дифференцирована, просвет кишки в зоне анастомоза широкий, стенки эластичные. Просвет прямой кишки не изменен, слизистая оболочка розовая, покрыта фибринозными бляшками. В куполе культи определялись металлические скрепки (рис. 1).

Клиническая картина была обусловлена развитием CDI, к терапии решено добавить ванкомицин по 0,25х4 раза в день через рот.

На фоне лечения, уже 12.05.16 пациент отметил клиническое улучшение, выражающееся в нормализации температуры тела, уменьшении боли, снижении частоты стула до 3 раз в сутки.

Рисунок 1. Колоноскопия эндофото:



а - восходящая ободочная кишка



б - прямая кишка

В дальнейшем послеоперационный период проходил без осложнений. При контрольном исследовании кала 19.05.16 на ГДГ и токсины А и В *C. difficile* (ИХА, ИФА) - анализы были отрицательные, однако при бактериологическом исследовании выявлена *C. difficile*. в титре  $10^3$ . Даны рекомендации по поводу предотвращения возможного рецидива клостридиального колита – ограничение приема антибактериальных препаратов. Ввиду отсутствия клинического проявления CDI, пациент выписан в удовлетворительном состоянии на амбулаторное долечивание хирургом и гастроэнтерологом по месту жительства.

### **3.2.4 Характеристика методов микробиологической диагностики *C. difficile*.**

Весьма сложный процесс диагностики клостридиального колита создает предпосылки к созданию многоступенчатого алгоритма анализа. Для оценки методов детекции *Clostridium (Clostridioides) difficile* выполнялось сравнение с бактериологическим методом, который является «золотым» стандартом диагностики данного заболевания.

Главным признаком, характеризующим тест-систему, является достоверность, которая подразумевает под собой комплекс критериев оценки результатов

диагностических и скрининговых тестов. К основным понятиям относят следующие характеристики: специфичность, чувствительность, прогностическая ценность отрицательного и положительного результата. Каждый из признаков является статистическим показателем. Чувствительность — это способность индикатора выявлять определенный микроорганизм в минимальных концентрациях. При этом возможность реагирования иммунологического теста зависит от многих факторов (авидности, аффинности, от условий проведения реакции). Еще одна из важных характеристик метода - специфичность. Это способность теста показывать отрицательный результат при отсутствии возбудителя. Для того чтобы описать тест - систему используют понятие - диагностическая эффективность, под этим термином подразумевают возможность одновременно правильно оценивать положительные пробы как позитивные, а отрицательные пробы - как негативные.

Для детекции в фекалиях *C. difficile* проводят определение фермента глутаматдегидрогеназы, что является первым этапом диагностики данного микроорганизма. По данным литературы, чувствительность тест-систем, основанных на иммунохроматографическом методе составляет - 94%, а специфичность - 93%. В нашей работе результаты существенно отличались, так чувствительность теста составила - 43%, а специфичность - 85 %, положительная и отрицательная прогностическая ценность - 85% и 56%, соответственно. При использовании иммуноферментного анализа для определения ГДГ чувствительность была - 22%, а специфичность - 94%, положительная и отрицательная прогностическая ценность - 95% и 82%, соответственно.

В нашей Клинике при возникновении у пациента клинической картины клостридиального колита традиционно применяли определение токсинов А и В *Clostridium (Clostridioides) difficile* в кале при помощи иммунохроматографического метода. По данным Legaria M. С. из Аргентины чувствительность данного метода составляет - 59%, а специфичность - 97% [69].

При анализе собственных результатов выяснилось, что при детекции токсина А тем же методом чувствительность была - 20%, а специфичность - 86%, положительная и отрицательная прогностическая способность составили - 73% и 63%, соответственно. При определении токсина В иммунохроматографическим методом чувствительность составила - 63%, специфичность - 56%, положительная и отрицательная прогностическая ценность - 72% и 54%, соответственно.

Отличались также от литературных данные, полученные при детекции токсинов А и В в стуле при помощи иммуноферментного метода. Этот тест не позволял определять токсины по отдельности. Так, чувствительность этой тест-системы была - 48%, а специфичность - 94%, положительная и отрицательная прогностическая ценность - 98% и 76 %, соответственно.

Суммируя вышесказанное нужно понимать, что самые простые и распространенные методы в нашей стране для выявления фермента ГДГ, токсинов А и В *Clostridium (Clostridioides) difficile* в кале (иммунохроматографический и иммуноферментный анализ). Они позволяют получить быстрый ответ, обладая при этом низкой чувствительностью (ИФА) и специфичностью (ИХА), но при этом ведет к большому числу ложноотрицательных и ложноположительных результатов. Бактериологический метод, безусловно, следует считать эталонным в детекции *C. difficile*. Он позволяет не только определить вид микроорганизма, но и изучить его патогенные свойства (био пленкообразование, антибиотикорезистентность, способность к синтезу токсинов и др.).

### **3.2.5 Роль лактобактерий при CDI.**

В международных публикациях описано использование пробиотических препаратов, содержащих *Lactobacillus spp.* для лечения и профилактики развития псевдомембранозного колита [24],[36],[40],[85],[94]. В нашей работе изучено содержание микроорганизмов этого рода в кале. Так, в первой группе при поступлении пациентов в стационар медиана титра микроорганизмов *Lactobacillus*

*spp.* составляла  $10^5$  ( $10^4$ ;  $10^6$ ) КОЕ/г, что значительно ниже чем у здоровых людей (норма от  $10^7$  до  $10^9$  КОЕ/г), во 2 группе медиана количества микроорганизмов была  $10^5$  ( $10^4$ ;  $10^6$ ) КОЕ/г. При колите, вызванном *Clostridium (Clostridioides) difficile* так и другими представителями *Clostridium spp.*, медиана численности лактобактерий в кале была  $10^5$  ( $10^4$ ;  $10^5$ ) КОЕ/г. Таким образом, статистически достоверно происходило уменьшение их количества при развитии CDI ( $p < 0,01$ ) (табл. 13).

Также в процессе исследования мы хотели определить связь титра *C.difficile* в кале с количеством *Lactobacillus spp.* В результате проведенного корреляционного анализа мы выяснили, что количество микроорганизмов *Lactobacillus spp.* не влияет на численность *C. difficile* и связь отсутствует ( $r = 0,06$ ). По-видимому, эффект от терапии CDI пробиотическими препаратами связан не только с восстановлением численности лактобактерий, но и с активностью каждого конкретного штамма *Lactobacillus spp.*

В основе влияния *Lactobacillus spp.* на *Clostridium (Clostridioides) difficile*, лежит индивидуальная штамм специфичная способностью микроорганизма продуцировать вещества, негативно воздействующих на *C. difficile* [91].

Таблица 13. Содержание *Lactobacillus spp.* в кале пациентов 1 и 2 группы

<i>Lactobacillus spp.</i> медиана (квартили), $10^n$ КОЕ/г	1 группа (n=212)		2 группа (n=337)
Поступление в стационар	5 ( 4;6)		5 ( 4;6)
	$p > 0,05^*$		
Клиническая картина кlostридиального колита	Поступление в стационар	Манифестация CDI (n=163)	
	5 ( 4;6)	5 ( 4;5)	

		$p < 0,01^{*a}$	
Выписка стационара	из	5 ( 4;6)	5 ( 4;6)
		$p > 0,05^*$	

\* - t-критерий Стьюдента.

\*<sup>a</sup> - при расчете достоверности сравнивались показатели содержания *Lactobacillus spp.* при поступлении у всех пациентов и при развитии клостридиального колита, обусловленного *C. difficile* и другими микроорганизмами *Clostridium spp.*



#### ГЛАВА 4. ОЦЕНКА УРОВНЯ КОНТАМИНАЦИИ *CLOSTRIDIUM (CLOSTRIDIOIDES) DIFFICILE* СРЕДИ МЕДИЦИНСКОГО ПЕРСОНАЛА.

Особый интерес представляет та часть работы, которая посвящена оценке уровня контаминации *C. difficile* среди медицинского персонала.

Всего было исследовано 39 образцов просветных фекалий. Позитивные тесты на токсины А и В *C. difficile* были в 28 (71,8%) пробах. По способности продуцировать токсины *C. difficile* распределялись следующим образом: бактерии, синтезирующие только токсин В обнаружили в 14 (50%) образцах, оба токсина А + В были в 14(50%) пробах. Бактерии, продуцирующие токсин А не обнаружены ни в одном случае.

В 1 группе, представляющей врачебное звено, положительные результаты на токсины *C. difficile* были в 14 (70%) образцах, во 2 группе, состоящей из среднего и младшего медперсонала - в 14 (73,7%) пробах (табл. 14).

Таблица 14. Характеристика групп по приему антибактериальных препаратов, диареи в анамнезе и результатам проб на наличие токсинов *C. difficile*.

Группа	Состав сотрудников	Прием антибактериальных препаратов в течение 2 месяцев до анализа	Эпизоды немотивированной диареи	Позитивные токсины <i>C.difficile</i>
1 (n=20)	А	7	6	14
2 (n=19)	Б	7	6	14

А - руководитель отдела - 1, заведующий отделением - 1, старший научный сотрудник - 1, научные сотрудники - 3, младший научный сотрудник - 1, врачи - 3, клинические аспиранты - 6, ординаторы - 4.

Б - медицинские сестры - 12, сестра - хозяйка - 1, раздатчицы - 2, санитарки - 4.

В 24 (61,5%) из 39 образцов просветных фекалий удалось выделить культуру микроорганизмов представителей рода клостридий. Из них 17 (70,8%) проб имели позитивные тесты на токсин *C. difficile* и 7 (29,2%) - негативные. Среди детектированных микроорганизмов были обнаружены не только *C. difficile* (3), но и другие представители этого рода: *C. perfringens* (17), *C. bifermentans* (4), *C. tertium* (3), *C. disporicum* (2), *C. sordeli* (2) и др. (табл. 15).

Так же стоит отметить, что 12 (31%) сотрудников имели эпизоды диареи в течение 2 месяцев до тестирования, не связанные с какими-то явными причинами, из них позитивные тесты на токсины *C. difficile* были у 10 (83%) человек, а 2 (17%) медработника, у которых в анамнезе было отмечено нарушение стула, имели отрицательные результаты иммунохимических тестов. Интересен тот факт, что у 18 (46,2%) человек тест на токсины А и В *C. difficile* был позитивный, но они не имели каких-либо эпизодов диареи в течении 2 месяцев до сдачи анализа кала.

Кроме того, 14 (35,9%) медицинских работников принимали антибактериальные препараты в течение 2 месяцев до сдачи анализа, при этом у 12 (86%) человек тест на токсины *C. difficile* был позитивен. В тоже время 16 сотрудников не использовали антибиотики, и изучаемые токсины определялись только у 5 (12,8%) работников, у которых в анамнезе имелся факт приема антибактериальных препаратов и эпизоды диареи, тест на токсины был положительным.

Таблица 15. Структура колонизации бактериями рода *Clostridium*, детектируемых в кале сотрудников отдела.

№	ГДГ *	Токсин А *	Токсин В *	Культура
1	0	0	1	<i>C.disporicum</i>
2	0	0	0	<i>C.perfringens/tertium</i>
3	0	0	0	Нет
4	0	0	0	<i>C.perfringens, innocuum, tertium</i>
5	0	0	1	<i>C.perfringens, spirofor, sept</i>
6	0	1	1	<i>C.perfringens</i>
7	0	0	0	<i>C.perfringens, ghonii, bifermentans</i>
8	0	1	1	Нет
9	0	0	1	<i>C.clostridieformis, disporicum</i>
10	0	0	0	<i>C.perfringens, sp, bifermentans, butyricum</i>
11	0	0	0	<i>C.perfringens, bifermentans, baratii</i>
12	1	1	1	<i>C.paraputrificum, perfringens, tertium</i>
13	0	0	1	Нет
14	1	1	1	<i>Clostridium difficile</i>
15	0	0	1	<i>C.perfringens, bifermentans</i>
16	1	0	1	<i>Clostridium difficile</i>
17	0	1	1	<i>C.perfringens</i>
18	0	1	1	Нет
19	0	1	1	<i>C.perfringens, disporicum, sp</i>
20	0	1	1	Нет
21	0	0	1	Нет
22	0	0	1	Нет
23	0	1	1	<i>C.perfringens</i>
24	0	0	1	<i>C.perfringens</i>
25	1	1	1	<i>Clostridium difficile</i>
26	0	1	1	<i>C.perfringens</i>
27	0	1	1	Нет
28	0	0	1	<i>C.perfringens, sordellii</i>
29	0	0	0	Нет
30	0	0	1	<i>C.perfringens</i>
31	0	0	1	Нет
32	0	0	0	Нет
33	0	0	0	Нет
34	0	0	0	Нет
35	0	0	0	<i>C.sordellii</i>
36	0	0	1	Нет
37	0	0	1	<i>C.perfringens</i>
38	0	1	1	<i>C.perfringens</i>
39	1	1	1	Нет

\* - 1 - положительный, 0 - отрицательный.

В ходе проведенного нами исследования удалось установить, что у 28 (71,8%) сотрудников колопроктологического стационара определялись позитивные токсины *C. difficile*. При бактериологическом исследовании изолированы клостридии в 24 (61,5%) из 39 образцов кала (*C. difficile* (3), *C. perfringens* (17), *C. bifermentans* (4), *C. tertium* (3), *C. disporicum* (2), *C. sordeli* (2) и др.).

*C. difficile* идентифицирована в 3 (7,7%) случаях, что практически не отличается от данных, полученных Kato H., где она составляет 4,2% [55].

Учитывая результаты Surawicz С.М. (2013), где частота носительства токсигенных клостридий среди здорового взрослого населения составляла 15%, можно утверждать, что носительство этих микроорганизмов у медицинского персонала почти в 5 раз выше, чем в среднем в популяции [94]. Таким образом необходимо отметить, что профессиональная деятельность сопряжена с высоким уровнем носительства токсин - продуцирующих бактерий вида *Clostridium*. И несмотря на введение особого алгоритма уборки в стационаре, уровень контаминации остается очень высоким. В этой связи требуется тщательное соблюдение санитарно – эпидемиологического режима, как для предотвращения распространения инфекции, так и для ее локализации, в случае возникновения заболевания у пациента, введение новых схем и методов дезинфекции, направленных на разрыв эпидемической цепочки.

Прием антибактериальных препаратов является значимым фактором риска контаминации *C. difficile*. Так, из 14 сотрудников отдела, принимавших антибиотики, токсины были обнаружены у 12 (86%).

Учитывая то, что число положительных результатов на токсины *C. difficile* было почти одинаковым в обеих группах, можно сделать вывод, что частота и длительность контактов с пациентами врачей по сравнению со средним и младшим медперсоналом не оказывает существенного влияния на уровень контаминации токсигенными клостридиями. Отсутствие эпизодов диареи у сотрудников, имеющих положительный тест на токсины А и В *C. difficile*, скорее всего связано с антагонистической способностью нормальной микрофлоры кишечника не только в отношении данного микроорганизма, но и всего рода клостридий.

Высокий уровень носительства *C. difficile* среди медицинских работников делает особенно актуальным не только соблюдение известных ранее, но и разработку новых методов профилактики клостридиальной инфекции.

Для оценки эффективности проведения нового алгоритма уборки, который был внедрен в декабре 2015 в онкопроктологии и отдел хирургии и онкологии ободочной кишки. Ретроспективно изучалась частота встречаемости клостридиального колита в период с 2012 по 2015 год. Факт возникновения заболевания оценивался по соответствующей клинической картине, при наличии известных факторов риска и лабораторного подтверждения (ИХА тест на токсины А и В *Clostridium difficile*) (табл. 16). Заболеваемость (инцидентность) клостридиальным колитом за 2015 год в отделе онкологии и хирургии ободочной кишки и онкопроктологии составила 200,5 случаев на 1000 человек в год, а за 2016 год – 78,3 на 1000 пациентов в год.

Для расчета использовалась формула:

$$\text{заболеваемость (инцидентность)} = M \times 1000 (‰) / N,$$

где М – количество заболевших за год,

N – число госпитализированных за год.

При этом пораженность больных в двух отделениях 2016 году составляла 51%.

Для вычисления применялась формула:

$$\text{пораженность (встречаемость } C. \textit{difficile} \text{ у пациентов)} = M / N,$$

где М - количество пациентов носители *C. difficile* при госпитализации,

N – общее количество пациентов, подвергнутых скринингу.

Таблица 16. Результаты исследований кала на токсины А и В *C.difficile* больных в отделах онкопроктологии и онкологии и хирургии ободочной кишки.

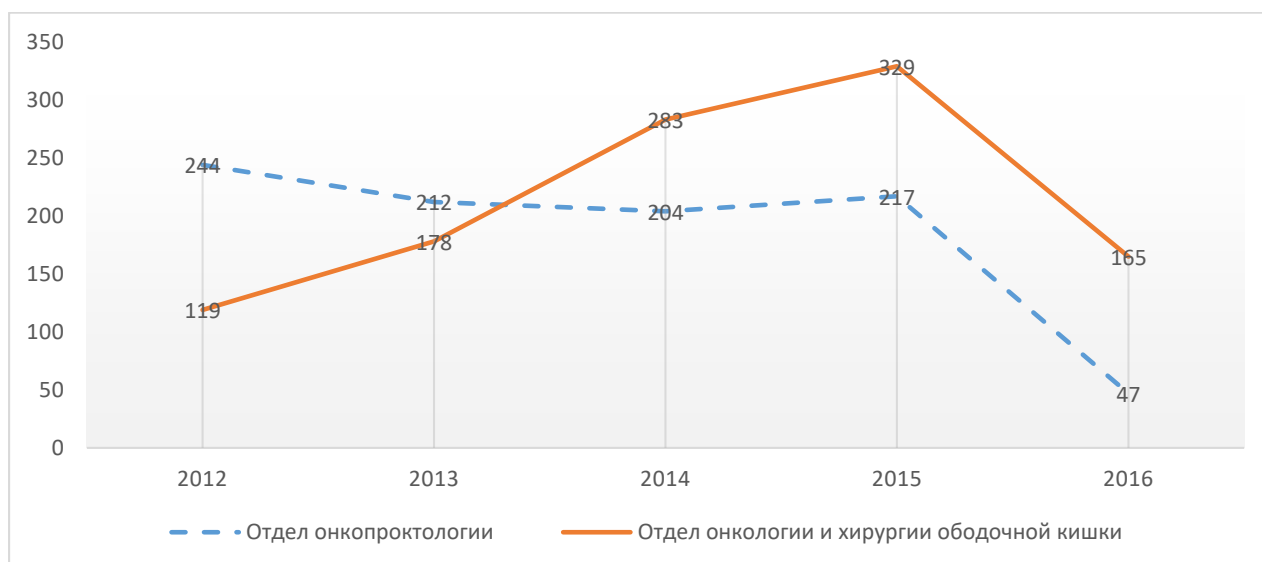
Год	Отдел онкопроктологии	Отдел хирургии и онкологии ободочной кишки

	*A	* B	* A+B	-	Всего	* A	* B	* A+B	-	Всего
2012	4	54	53	133	244	0	22	8	78	119
2013	2	63	38	109	212	0	31	19	128	178
2014	1	40	30	133	204	2	53	19	209	283
2015	0	68	13	136	217	2	81	9	237	329
2016	1	18	6	22	47	1	75	12	77	165

\* - токсин, «-» - отрицательный результат теста.

В результате проведения комплекса дезинфекционных и профилактических мероприятий удалось снизить частоту встречаемости клостридиального колита за 2016 год с 329 до 165 пациентов в отделении хирургии и онкологии ободочной кишки, а в отделении онкопроктологии с 217 до 47 больных, при этом заболеваемость CDI снизилась в 2,6 раза (рис. 5). Это положительная динамика говорит о несомненной важности и эффективности внедренного алгоритма.

Рисунок 5. Количество пациентов с клиникой клостридиального колита в отделении онкологии и хирургии ободочной кишки и онкопроктологии за 2012 - 2016 год.



## ГЛАВА 5. ФАКТОРЫ РИСКА РАЗВИТИЯ КЛОСТРИДИАЛЬНОГО КОЛИТА.

### 5.1 Однофакторный анализ.

Для прогнозирования развития клостридиального колита необходимо учитывать наличие различных факторов риска у конкретного больного. По результатам исследования было оценено влияние назогастрального зондирования на частоту развития CDI. Подобная манипуляция выполнялась у 36 (22%) и у 19 (5%) больных А и 2А группы, соответственно. Таким образом в основной группе, это мероприятие увеличивало частоту возникновения данного заболевания в 5,5 раза (ОШ=5,48; ДИ 95%: 3,03-9,9,  $p < 0,001$ ) (табл. 17).

Было также изучено влияние оперативного доступа на частоту возникновения клостридиального колита в послеоперационном периоде. При статистической обработке результатов выявлено, что сам факт хирургического лечения достоверно увеличивал частоту возникновения колита, ассоциированного с *C. difficile* в 5 раз (ОШ=5,39; ДИ 95%: 2,58-5,88,  $p = 0,02$ ). Так, при анализе в зависимости от вида доступа, при выполнении лапаротомии риск возникновения клостридиального колита увеличивался в 1,5 раза (ОШ=1,49; ДИ 95%: 1-2,21,  $p > 0,05$ ), что практически не отличалось от лапароскопического способа выполнения операции (ОШ=1,89; ДИ 95%: 1,2-3,0,  $p = 0,006$ ) (табл. 17).

В ходе исследования были пациенты, которые перенесли повторные оперативные вмешательства в течение одной госпитализации. Так подобный факт статистически достоверно увеличивал в 5 раз частоту возникновения колита, ассоциированного с *Clostridium (Clostridioides) difficile* (ОШ= 4,7; ДИ 95%: 1,84-12,  $p < 0,001$ ) (табл. 17). По результатам нашей работы оценен факт влияния сахарного диабета на частоту возникновения колита, обусловленного *C. difficile*. Так, у 13 (8%) пациентов 1А группы и у 39 (10%) больных 2А группы имелось данное заболевание. Установлено, что наличие сахарного диабета незначительно снижало вероятность

возникновения CDI. Этот факт возможно связан с использованием гипогликемических препаратов. Однако, результаты не являются статистически достоверными (ОШ=0,77; ДИ 95%: 0,40-1,49,  $p=0,43$ ) (табл. 17).

По результатам работы оценивалась значимость предыдущей госпитализации пациента в лечебное учреждение в течение 6 месяцев до настоящей. Так клостридиальный колит развивался, у 94 (58%) и у 189 (49%) пациентов 1А группы, имевших и не имевших госпитализацию в анамнезе, соответственно. Это обстоятельство говорит о том, что у больных, которые госпитализировались в лечебное учреждение чаще развивалась CDI (ОШ=1,42; ДИ 95%: 0,98-2,05,  $p=0,062$ ) (табл. 17).

В научной литературе показана связь назначения препаратов из группы защищенных  $\beta$ -лактамных антибактериальных препаратов (амоксиклав) с высокой частотой возникновения клостридиального колита. Так, у 87 (53%) больных 1А группы и 184 (48%) пациентов 2А группы применялся данный препарат. Проведенный анализ не выявил влияние амоксиклава на частоту развития CDI (ОШ=1,26; ДИ 95%: 0,87-1,81,  $p=0,22$ ) (табл. 17).

Также нами было оценено влияние назначения антибактериальных препаратов из группы фторхинолонов на частоту развития клостридиального колита. Так, 56 % больным в 1А и 111 (29%) пациентам во 2А группе назначался ципрофлоксацин. Установлено, что назначение этого препарата увеличивало вероятность возникновения CDI, однако данные не являются статистически достоверными (ОШ=1,3; ДИ 95%: 0,87-1,92,  $p=0,19$ ) (табл. 17).

Та же гипотеза проверена в отношении карбопенемов. Так, у 20 (12%) больных в основной и у 20 (5%) в контрольной группе проводилась терапия этими антибактериальными препаратами. Выяснилось, что медикаменты из группы карбопенемов увеличивают частоту возникновения клостридиального колита почти в 3 раза (ОШ=2,56; ДИ 95%: 1,34-4,9,  $p=0,004$ ) (табл. 17).



У 8 (5%) пациентов, которым назначались цефалоспорины возникла диарея, ассоциированная с *Clostridium (Clostridioides) difficile*. Прием препаратов из этой группы значительно, более чем в 19 раз, увеличивал частоту возникновения данного осложнения (ОШ=19,87; ДИ 95%: 2,47-160,2,  $p<0,001$ ) (табл. 17).

Так же в ходе работы был оценен фактор применение лучевой терапии. Так, у 12 больных 1А и у 28 (7%) пациентов 2А группы проводилась лучевая терапия в анамнезе. Применение подобного лечения не влияло на частоту развития CDI (ОШ=1,02; ДИ 95%: 0,50-2,05,  $p=0,96$ ) (табл. 17).

В колопроктологическом стационаре часто находятся пациенты, в анамнезе которых есть факт применения химиотерапии. Так, у 38 (23%) больных основной группы и у 88 (23%) контрольной группы данная терапия применялась. Проведенный нами анализ не показал увеличения риска возникновения клостридиального колита у больных, у которых использовалось противоопухолевое лечение в анамнезе (ОШ=1,03; ДИ 95%: 0,67-1,59,  $p=0,9$ ) (табл. 17).

Гормональная терапия в анамнезе была проведена у 38 (23%) больных в 1А и у 43 больных 2А группы. Этот вид лечения повышал вероятность возникновения CDI более чем в 2 раза (ОШ=2,43; ДИ 95%: 1,5-3,93,  $p<0,001$ ) (табл. 17).

Еще одним из часто описываемых в литературе [58] факторов риска, повышающих вероятность возникновения клостридиального колита, является использование ингибиторов протонной помпы (ИПП), которые использовались у 28 (17%) пациентов основной и 61 (16%) больных контрольной группы. В нашем исследовании мы не обнаружили подобной тенденции (ОШ=1,11; ДИ 95%: 0,68- (табл. 17).

Помимо ИПП для профилактики стрессовых язв применяли H<sub>2</sub> - блокаторы у 154 (94%) пациентов 1А и у 322 (83%) больных 2А группы [73]. Такая терапия увеличила частоту возникновения CDI более чем в 3 раза (ОШ=3,4; ДИ 95%: 1,65– (табл. 17).

Также мы выяснили, что применение предоперационной механической подготовки, равно как и использование осмотических слабительных уменьшает риск возникновения колита, обусловленного *Clostridium (Clostridioides) difficile* в 2 раза (ОШ=0,51; ДИ 95%: 0,35-0,75,  $p<0,001$ ) и (ОШ=0,52; ДИ 95%: 0,36-0,75,  $p<0,001$ ), соответственно (табл. 17).

В ходе работы было оценено влияние онкологического заболевания в анамнезе на вероятность возникновения клостридиального колита. Так, 103 (63%) больных 1А и 234 (61%) пациента 2А группы проходили лечение по поводу данной патологии. Выяснилось, что онкологическое заболевание не влияет на частоту возникновения ОШ=1,12; ДИ 95%: 0,76-1,63,  $p=0,57$ ) (табл. 17).

В литературе упоминается важный фактор риска для возникновения CDI, как наличие в анамнезе пациента антибиотикоассоциированной диареи. Так, у 10 (6%) больных в 1А и 4 (1%) пациентов 2А группы проходили лечение по поводу CDI в анамнезе. Вероятность развития данного осложнения статистически достоверно выше, чем у пациентов, не имеющих отягощенный анамнез по данному заболеванию (ОШ=6,24; ДИ 95%: 1,93-20,2,  $p=0,001$ ) (табл. 17).

Часто хирургические вмешательства заканчиваются дренированием брюшной полости и малого таза. Мы в нашей работе оценили этот факт, как возможный фактор риска в отношении развития клостридиального колита. Так, у 131 (80%) пациентов 1А и у 226 (59%) больных 2А группы оперативное лечение заканчивалось дренированием брюшной полости и малого таза. Оказалось, что подобная манипуляция увеличивает вероятность возникновения данного осложнения в 3 раза (ОШ=2,9; ДИ 95%: 1,87–4,48,  $p<0,001$ ) (табл. 17).

В колопроктологическом стационаре часто находятся пациенты с воспалительными заболеваниями кишечника. Так, в 1А группе было 29 (18%) больных с язвенным колитом, а во 2А группе — 35 (9%) пациентов. Таким образом, частота возникновения CDI у пациентов с данной патологией в 2 раза выше, чем у больных при ее отсутствии (ОШ=2,17; ДИ 95%: 1,28-3,69,  $p=0,006$ ) (табл. 17).

У 6 (4%) больных в 1А и у 22 (6%) пациентов 2А группы были госпитализированы по поводу Болезни Крона. Частота возникновения клостридиального колита была ниже в группе больных с данной патологией (ОШ=0,63; ДИ 95%: 0,25–1,59,  $p=0,33$ ). Подобная картина, по нашему мнению, может быть связана с частым назначением этим больным антибактериальных препаратов (Альфа-нормикс, метронидазол) (табл. 17).

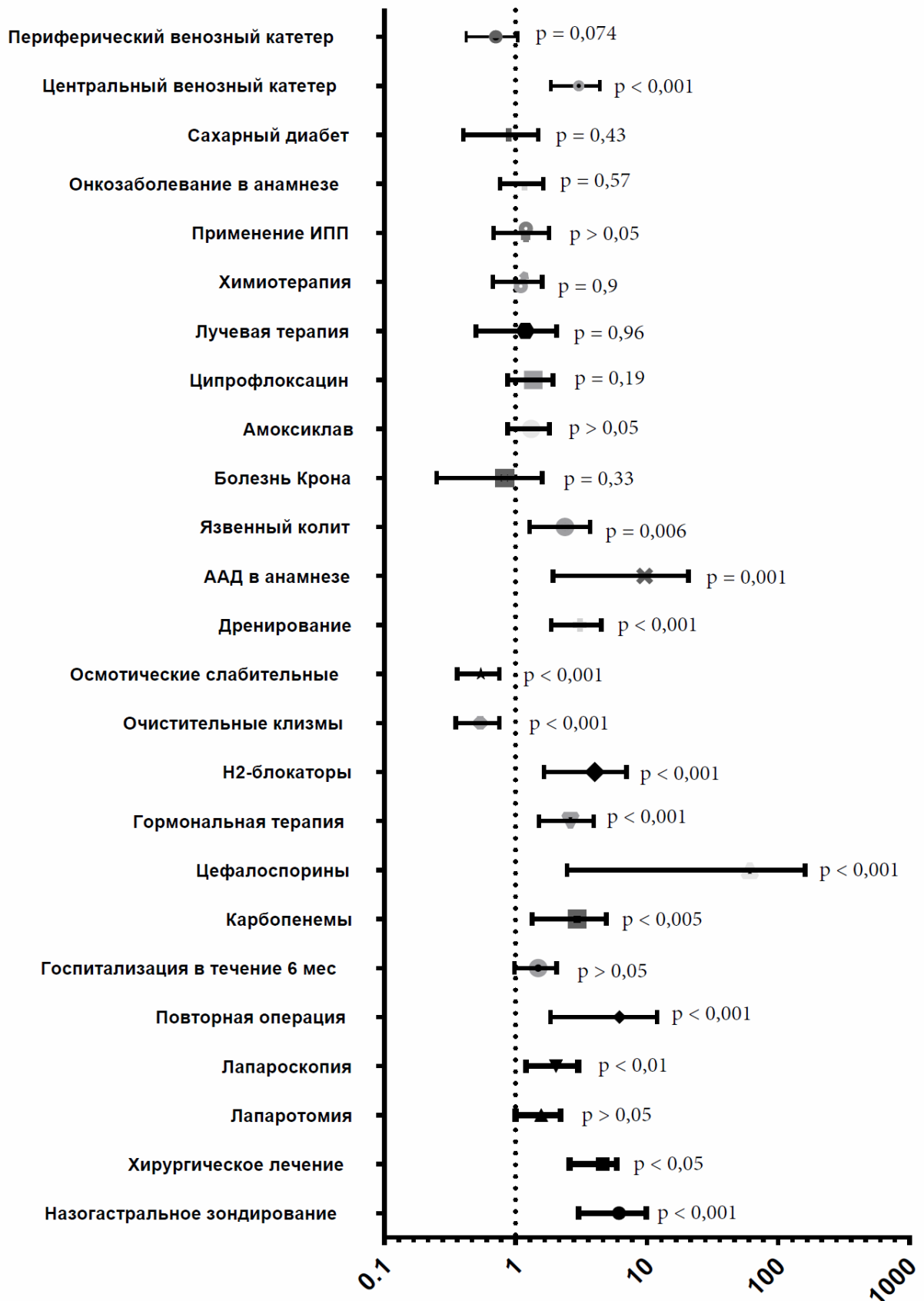
В процессе нашей работы также оценен фактор риска, как наличие постоянного венозного доступа. Так, у пациентов имеющих центральный катетер чаще развивался CDI (ОШ=2,85; ДИ 95%: 1,85–4,39,  $p<0,001$ ), чем у больных с периферическим венозным доступом (ОШ=0,66; ДИ 95%: 0,42–1,04,  $p=0,07$ ) (табл.

Таблица 17. Факторы риска развития CDI.

Фактор риска	ОШ	ДИ 95%	p
Назогастральное зондирование	5,48	3,03-9,9	$p < 0,001$
Хирургическое лечение	5,39	2,58-5,88	$p < 0,05$
Лапаротомия	1,49	1-2,21	$p > 0,05$
Лапароскопия	1,89	1,2-3,0	$p < 0,01$
Повторные оперативные вмешательства в течение одной госпитализации	4,7	1,84-12	$p < 0,001$
Госпитализация в течение 6 месяцев до настоящей	1,42	0,98-2,05	$p > 0,05$
Применение карбопенемов	2,56	1,34-4,9	$p < 0,005$
Применение цефалоспоринов	19,87	2,47-160,2	$p < 0,001$
Гормональная терапия	2,43	1,5-3,93	$p < 0,001$
Применение H2-блокаторов	3,4	1,65-7,01	$p < 0,001$
Применение очистительных клизм	0,51	0,35-0,75	$p < 0,001$

Применение осмотических слабительных	0,52	0,36-0,75	p < 0,001
Дренирование	2,9	1,87-4,48	p < 0,001
Антибиотико - ассоциированная диарея в анамнезе	6,24	1,93-20,7	p = 0,001
Язвенный колит	2,17	1,28-3,69	p = 0,006
Болезнь Крона	0,63	0,25 – 1,59	p = 0,33
Применение амоксициллина	1,26	0,87-1,81	p > 0,05
Применение ципрофлоксацина	1,3	0,88-1,92	p = 0,19
Лучевая терапия	1,02	0,50- 2,05	p = 0,96
Химиотерапия	1,03	0,67- 1,59	p = 0,9
Применение ИПП	1,11	0,68 – 1,80	p > 0,05
Онкологическое заболевание в анамнезе	1,12	0,76 – 1,63	p = 0,57
Сахарный диабет	0,77	0,40-1,49	p = 0,43
Центральный венозный катетер	2,85	1,85-4,39	p < 0,001
Периферический венозный катетер	0,66	0,42-1,04	p = 0,074

Рисунок 6. Факторы риска развития CDI



## 5.2 Многофакторный анализ.

Для того, чтобы оценить важность влияния каждого из факторов в развитии CDI мы использовали корреляционно–регрессионный анализ с расчетом непараметрического коэффициента ранговой корреляции Спирмена. Для этого была построена корреляционная матрица. В качестве точки отсечки мы выбрали значение коэффициента корреляции более 0,3. Для дальнейшего анализа было решено рассмотреть отдельные совокупности факторов риска развития CDI.

В результате многофакторного корреляционного анализа независимыми значимыми факторами оказались: хирургическое лечение (ОШ=2,4; ДИ 95%: 1,05–5,49,  $p=0,038$ ), повторные оперативные вмешательства (ОШ=4,4; ДИ 95%: 1,71–11,29,  $p=0,002$ ), госпитализация в течение 6 месяцев до настоящей (ОШ=1,5; ДИ 95%: 1,02–2,21,  $p=0,041$ ), установка центрального венозного катетера (ОШ=7,47; ДИ 95%: 2,83–19,45,  $p<0,01$ ), дренажа (ОШ=1,87; ДИ 95%: 1,09–3,18,  $p=0,022$ ), назогастрального зонда (ОШ=5; ДИ 95%: 2,70–9,18,  $p>0,001$ ), применение цефалоспоринов (ОШ=17,67; ДИ 95%: 2,09–149,67,  $p=0,008$ ), глюкокортикоидов (ОШ=3,62; ДИ 95%: 1,33–9,89,  $p=0,012$ ), H<sub>2</sub>-блокаторов (ОШ=2,51; ДИ 95%: 1,15–5,93,  $p=0,022$ ), осмотических слабительных (ОШ=0,51; ДИ 95%: 0,33–0,78,  $p=0,002$ ), очистительных клизм (ОШ=0,24; ДИ 95%: 0,14–0,39,  $p<0,001$ ), наличие антибиотико–ассоциированной диареи (ОШ=5,47; ДИ 95%: 1,60–18,73,  $p=0,007$ ) и язвенного колита в анамнезе (ОШ=2,95; ДИ 95%: 1,56–5,60,  $p=0,001$ ) (табл. 18).

Таблица 18. Многофакторный анализ факторов риска.

Факторы риска	р	ОШ	95% ДИ	
			Нижняя	Верхняя
Хирургическое лечение	0,038	2,398	1,048	5,490
Повторные оперативные вмешательства в течение одной госпитализации	0,002	4,398	1,713	11,288
Применение осмотических слабительных	0,002	0,506	0,327	0,782
Применение очистительных клизм	0,000	0,237	0,145	0,390
Применение цефалоспоринов	0,008	17,667	2,085	149,673
Гормональная терапия	0,012	3,624	1,328	9,887
Применение H2-блокаторов	0,022	2,612	1,151	5,931
Антибиотико - ассоциированная диарея в анамнезе	0, 007	5,474	1,600	18,727
Госпитализация в течение 6 месяцев до настоящей	0,041	1,498	1,017	2,207
Дренирование	0,022	1,865	1,093	3,181
Назогастральное зондирование	0,000	4,976	2,701	9,167
Язвенный колит	0,001	2,952	1,555	5,604
Центральный венозный катетер	0,000	7,414	2,825	19,453

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящее время проблема клостридиального колита стоит особенно остро, так как наблюдается отрицательная динамика, связанная с ростом случаев данного заболевания и увеличением числа антибиотико–резистентных штаммов. В последнее время все чаще становится актуальным вопрос об оперативном лечении пациентов старшей возрастной группы, особенно лиц, которые ранее перенесли хирургическое вмешательство и/или истощенных онкологическим процессом. Особую категорию занимают лица с хронической болезнью почек, особенно на фоне хронической почечной недостаточности, либо пациенты с тяжелыми эндокринными заболеваниями, такими как сахарный диабет. Отдельная группа пациентов, имеющих воспалительные заболевания кишечника, сам факт наличия данного заболевания несомненно повышает частоту возникновения клостридиального колита, при этом само лечение (иммуносупрессивная, антибактериальная, гормональная, биологическая терапия), направленное на купирование воспалительного процесса, способно отрицательно влиять на частоту развития CDI.

В Российской Федерации отсутствуют какие-либо статистические данные о распространенности *C. difficile* как в целом в популяции, так и в отдельных декретированных группах (например, медицинские работники), единого подхода к лабораторной диагностике клостридиального колита, что способствует поздней выявляемости и несвоевременному назначению специфической терапии. Все чаще в процессе лечения нам приходится применять антибактериальные препараты, это обстоятельство негативно влияет на формирование резистентных штаммов *C. difficile* и, как следствие, их безудержный рост на фоне данной терапии с возникновением клостридиального колита. Учитывая актуальность данной темы в ФГБУ «ГНЦК им. А.Н. Рыжих» Минздрава России было



проведено проспективное исследование, которое включало в себя 549 пациентов, находившихся на лечении в отделении онкологии и хирургии ободочной кишки, а также в отделении онкопроктологии с декабря 2015 по декабрь 2016 года. В аналогичный анализ были включены 39 медицинских сотрудников, осуществлявших работу на базе отдела онкологии и хирургии ободочной кишки в этот же период времени. Все пациенты включались в исследование путем их случайного отбора во время поступления в стационар. За время проведения работы зарегистрировано 2 летальных исхода (1 мужчина, 1 женщина), в связи с развитием перитонита, связанного с несостоятельностью илеоилео- и колоанального анастомоза. Соответственно, эти больные были исключены из дальнейшего анализа. Таким образом в 1 (основную) группу входило 212 пациентов, у которых в процессе лечения развилась клиническая картина клостридиального колита, а во 2 группу (контрольную) – 337 больных, у которых она не отмечалась за весь период нахождения в стационаре.

В основной группе мужчин и женщин было 108 (51%) и 104 (49%), а в контрольной – 151 (45%) и 186 (55%), соответственно ( $p = 0,16$ ). При этом средний возраст пациентов 1 группы составил  $53 \pm 11$  лет, а во 2 группе он был  $55 \pm 16$  лет. Выявленные различия по возрасту между обеими группами оказались статистически достоверными ( $p = 0,01$ ). Также в основной группе было больше больных в возрасте от 20 до 29 лет, чем во 2 ( $p = 0,049$ ). Среднее значение ИМТ в основной группе было  $24,9 \pm 4,1$  кг/м<sup>2</sup>, а в контрольной группе было  $25,3 \pm 4,1$  кг/м<sup>2</sup> ( $p = 0,61$ ). Преобладали больные с нормальным и повышенным весом, так в 1 группе их было 158 (74%), а во 2 - 247 (73%).

Большинство пациентов в обеих группах были пациенты с раком ободочной и прямой кишки. Были выявлены статистически значимые различия по характеру заболевания. Так во 2 группе пациентов с полипами и ворсинчатыми новообразованиями кишечника было больше, чем в 1 ( $p < 0,001$ ).

Пациенты, включенные в исследование, перенесли различный характер и объем оперативных вмешательств. При этом были выявлены следующие различия: в контрольной группе, по сравнению с основной, преобладали пациенты, подвергшиеся миниинвазивному вмешательству – 43 (13%) и 4 (2%) больных, соответственно ( $p < 0,0001$ ). Также было статистически значимо больше неоперированных пациентов – 38 (11%) и 9 (5%), соответственно ( $p = 0,004$ ). В то же время в 1 группе, по сравнению со 2 было статистически больше операций на прямой и ободочной кишке – 15 (7%) и 10 (3%), соответственно ( $p = 0,025$ ). По остальным хирургическим вмешательствам в основной и контрольной группе достоверных различий не было выявлено ( $p > 0,05$ ).

У большинства пациентов в основной и контрольной группе имелись сопутствующие заболевания – у 166 (54%) и 277 (55%) пациентов, соответственно. Чаще всего у больных 1 и 2 группы выявлялись заболевания сердечно - сосудистой системы – в 74 (24%) и 137 (27,2%) наблюдениях, соответственно. При этом статистически значимых различий не было выявлено.

По результатам нашей работы оценен факт влияния сахарного диабета на частоту CDI. Так, у 19 (9%) пациентов 1 группы и у 33 (10%) больных 2 группы имелось данное заболевание. В ходе анализа выяснено, что наличие сахарного диабета незначительно снижало вероятность возникновения колита, обусловленного *S. difficile*. Этот факт возможно связан с использованием гипогликемических препаратов. И влияние этих медикаментов на качественный и количественный состав кишечной микрофлоры. Однако, результаты не являются статистически достоверными (OR=0,77; ДИ 95%: 0,4-1,49,  $p = 0,43$ ).

При изучении распределения больных в зависимости от наличия в анамнезе предшествующей госпитализации в течение 6 месяцев, было установлено, что в 1 группе таких больных было в 2 раза больше, чем во 2 - 25 (12%) и 20 (6%), соответственно ( $p = 0,015$ ).

Проведенный анализ показал, что между группами отсутствовали статистически значимые различия по половому составу, ИМТ, характеру сопутствующих заболеваний, наличию сахарного диабета. В тоже время группы различались по возрасту, характеру основного заболевания, объему оперативного лечения, по наличию госпитализации в анамнезе.

В рамках нашего исследования было оценена частота носительства токсинпродуцирующих штаммов клостридий среди 39 медицинских работников колопроктологического стационара отделения онкологии и хирургии ободочной кишки ФГБУ «Государственного научного центра колопроктологии им. А.Н. Рыжих» Минздрава России в декабре 2016 года. У сотрудников выяснялся факт приема антибактериальных препаратов в ближайшие 2 месяца перед забором материала и имели ли место эпизоды диареи без явных на то причин (жидкий стул более 3 раз в сутки). Нами решено было разделить весь персонал на 2 группы: 1-врачебный (руководитель отдела, заведующий отделением, научные сотрудники, врачи, аспиранты, ординаторы) – 20 человек, 2 - средний (медицинские сестры, сестра-хозяйка, санитарки, раздатчицы) - 19 человек.

Всего в основном исследовании участвовало 549 пациентов, из них 47 (8,5%) проходили обследование, а 502 (91,5%) были подвергнуты хирургическому лечению, причем у 482 (96%) больных это были первичные вмешательства в данном лечебном учреждении, а у 20 (4%) пациентов повторные операции.

Так, в 1 группе 203 (96%) больных были прооперированы, а 9 (4%) пациентов находились на обследовании. Структура пациентов основной группы была следующая: с сохраненной анальной дефекацией - 91 (43%); с наличием илеостомы и колостомы - 80 (38%) и 41 (19%), соответственно. У всех больных отмечался диарейный синдром. Так у пациентов с сохраненной анальной дефекацией медиана частоты стула составляла 8 (5; 10) раз/сутки, гипертермия выявлялась у 165 (78%), метеоризм определялся у 95 (45%), а рвота и боли в животе наблюдались значительно реже и регистрировались у 33 (16%) и 24 (11%) больных.

У пациентов с клинической картиной CDI были диагностированы изменения в клиническом и биохимическом анализе крови. Так, у 124 (58%) больных выявлялась анемия (гемоглобин менее 120 г\л), медиана содержания лейкоцитов в периферической крови была  $8,82 \times 10^9$  ( $6,49 \times 10^9$ ;  $11,3 \times 10^9$ ) клеток /л. А медиана количества С-реактивного белка составляла 62,7 (24,65; 121,75) мг/л. У 101 (48%) больных зарегистрирована гипоальбуминемия ниже 35 г/л.

У пациентов с илеостомой при манифестации CDI мы отмечали увеличение количества кишечного отделяемого за сутки и изменение его консистенции в сторону разжижения. Так, медиана этого показателя составила 1500 (1400; 2000) мл/сутки. А у 41 (19%) больных 1 группы с наличием колостомы медиана потерь составила 725 (600; 800) мл/сутки.

Проведенный корреляционный анализ не выявил влияния титра обсемененности *Clostridium (Clostridioides) difficile* на частоту стула, объем кишечного отделяемого по илео-, колостоме. Таким образом нами не установлено связи между степенью выраженности клинической симптоматики клостридиального колита с определяемым с уровнем обсемененности кала *C. difficile*.

Анализ клинической картины клостридиального колита выявил ее схожесть вне зависимости от определяемого этиологически значимого микроорганизма с клиникой CDI. Так при колите, вызванном другими представителями *Clostridium spp.* (*Clostridium perfringens*, *Clostridium novyi*, *Clostridium hathwayi*) также, как и при CDI клинически проявлялись развитием диарейного синдрома в 100%, повышенной температуры тела в 82%, метеоризма в 42%, рвоты в 13%, болей в животе в 11% случаев.

Степень выраженности диареи, обусловленной *Clostridium spp.*, варьировалась в широких пределах. Так, у 19 пациентов из 31 больных с сохраненной анальной дефекацией медиана частоты стула была 10 (5; 14) раз/сутки. У 14 пациентов этой группы оценено количество кишечного содержимого, которое выделялось по илеостоме за сутки, при этом медиана составила 1750 (1500; 2300) мл/сутки. А у 5

больных с наличием колостомы медиана объема потерь кишечного содержимого составила 750 (550; 1000) мл/сутки. Статистических различий выявлено не было ( $p > 0,05$ ).

В ходе работы оценивалось влияние факта возникновения клостридиального колита на продолжительность госпитализации пациента в стационаре. При этом медиана общего койко-дня в основной группе была 15 (12; 21), а в контрольной - 11 (7; 14) ( $p < 0,01$ ). Также изучался предоперационный и послеоперационный койко-день в 1 и 2 группе. При анализе длительности предоперационного периода статистически значимых различий не получено ( $p > 0,05$ ), однако при оценке нахождения больных после оперативного вмешательства он был больше на 4 койко-дня, чем в контрольной группе ( $p < 0,01$ ).

В нашей работе на начальном этапе во всех образцах кала исследовалось наличие фермента ГДГ и токсинов А и В *C. difficile* при помощи ИХА.

У 47 (22%) пациентов основной и у 104 (31%) больных контрольной группы при поступлении тест на наличие ГДГ был позитивным, а при развитии клинической картины CDI - у 78 (37%) пациентов 1 группы. При выписке из стационара тест был положительным у 40 (19%) и у 125 (37%) больных основной и контрольной группы, соответственно.

При определении токсинов А и В *C. difficile* методом ИХА токсин А был выявлен у 6 (3%) пациентов 1 и у 7 (2%) больных 2 группы. У 64 (30%) пациентов основной и у 135 (40%) больных контрольной группы обнаружен только токсин В. Наличие же обоих токсинов зарегистрировано у 23 (11%) больных 1 и у 44 (13%) пациентов 2 группы. При возникновении клинической картины клостридиального колита токсин А выявлен у 2 (1%) пациентов, а токсин В - у 93 (44%) больных основной группы. Оба токсина определялись у 21 (10%) пациента.

При выписке выполняли повторный анализ кала, при этом, токсин А *C. difficile* выявлялся у 2 (1%) пациентов 1 и у 2 (1%) больных 2 группы, а токсин В *C. difficile* - у 66 (31%) больных основной и у 111 (33%) пациентов контрольной группы.

Наличие обоих токсинов *C. difficile* детектировалось у 11 (5%) больных 1 и у 53 (16%) пациентов 2 группы.

Стул пациентов помимо метода ИХА исследовался при помощи ИФА на наличие фермента ГДГ и токсинов А и В *C. difficile*.

При госпитализации позитивные результаты ГДГ определялись у 8 (4%) больных 1-ой и у 21 (6%) пациента 2 группы. При развитии клинической картины CDI наличие этого фермента отмечено у 34 (16%) пациентов основной группы. При выписке ГДГ обнаруживали в образцах кала у 17 (8%) больных 1-ой и у 6 (2%) пациентов 2 группы.

Тест - система для идентификации токсинов А и В *C. difficile* не давала возможности разграничить их наличие по отдельности. Так, при поступлении пациентов в стационар позитивный результат на наличие токсинов определялся у 24 (11%) больных 1-ой и у 83 (25%) пациентов 2 группы. При развитии клинической картины CDI тест был положительным у 80 (38%) больных. При выписке из стационара все пациенты повторно сдавали анализ кала, при этом, позитивный результат на наличие токсинов *C. difficile* был у 54 (26%) больных основной и у 110 (33%) пациентов контрольной группы.

В результате бактериологического исследования при поступлении удалось выделить культуру *C. difficile* у больных 1 и 2 группы у 98 (46,2%) и 169 (50,1%), соответственно ( $p > 0,05$ ). В период госпитализации у 212 (38,6%) пациентов развилась клиника CDI, при бактериологическом исследовании стула у 163 (76,9%) больных детектирована *C. difficile*, как этиологический фактор нозокомиальной диареи. При выписке *C. difficile* выявлялась в образцах кала у 95 (44,8%) и у 141 (41,8%) пациентов 1 и 2 группы, соответственно ( $p > 0,05$ ). В тоже время не выявляется статистически значимых различий в 1 группе по частоте обнаружения *C. difficile* при поступлении и выписке, так она определялась у 98 (46,2%) и у 95 (44,8%) пациентов ( $p > 0,05$ ).

В ходе нашего исследования были получены интересные данные: так, у 114 (53,8%) пациентов 1 группы, которые не имели *C. difficile* при поступлении, у 81 (71%) больного в процессе лечения развилась клиническая картина CDI, обусловленная *C. difficile*. Это обстоятельство говорит о важности экзогенного пути заражения клостридиальным колитом, то есть попадание *C. difficile* в организм пациента из внутрибольничной среды. Перед выпиской оценено носительство *Clostridium (Clostridioides) difficile*, так, в 1 группе оно имело место у 90 (79%) больных, у которых ранее возбудитель не определялся. А у 168 (49,9%) пациентов во 2 группе, у которых отсутствовала *C. difficile* в кале при поступлении в стационар, при выписке возбудитель детектировался у 75 (44,7%) больных.

В случае возникновения клинической картины клостридиального колита, при бактериологическом исследовании обнаруживалась *C. difficile* у 163 (76,9%) пациентов. При этом особый интерес представляют пациенты с клинической картиной CDI, так при бактериологическом исследовании в кале были выявлены другие представители рода *Clostridium*. Эти микроорганизмы оказались у 38 больных (17,9 %) при отсутствии *C. difficile*. Так у 32 (84%) пациентов обнаружена *Clostridium perfringens*, а *Clostridium novyi* выявлена у 5 (13%) больных. *Clostridium hathewayi* была определена у 1 (3%) пациента.

Стоит отметить, что у 86 (41%) из 212 пациентов 1 группы помимо наличия *Clostridium difficile* в кале выявлялись и другие представители этого рода. Так, у 58 (67%) больных были обнаружены *Clostridium perfringens*, а у других 28 (33%) пациентов - остальные представители рода *Clostridium*.

Учитывая тот факт, что у пациентов с клинической картиной CDI, определялись токсины *C. difficile*, при этом сам возбудитель не был обнаружен при микробиологическом исследовании. Можно предположить, что ввиду близкого родства микроорганизмов рода *Clostridium* существует обмен генетической

информацией, в том числе ответственной за синтез определенных белков - токсинов.

При анализе основной группы пациентов с клинической картиной CDI у 11 (5,2%) больных в результате бактериологического исследования не были обнаружены микроорганизмы, способные вызвать данное состояние. Таким образом, мы характеризовали это состояние, как функциональное нарушение ЖКТ.

В работе оценена специфичность, чувствительность, прогностическая ценность отрицательного и положительного результата для ИХА и ИФА в отношении *C. difficile*. Для расчета показателей результаты сопоставляли с данными бактериологического исследования, который является «золотым» стандартом диагностики данного заболевания.

Для детекции в фекалиях *Clostridium (Clostridioides) difficile* проводят определение фермента глутаматдегидрогеназы, как первый этап диагностики данного микроорганизма. В ходе нашего исследования чувствительность теста составила - 43%, а специфичность - 85 %, положительная и отрицательная прогностическая ценность - 85% и 56%, соответственно при помощи ИХА. А при использовании иммуноферментного анализа для определения ГДГ чувствительность составила - 22%, специфичность - 94%, положительная и отрицательная прогностическая ценность - 95% и 82%, соответственно.

В нашей клинике традиционно применяли определение токсинов А и В *Clostridium (Clostridioides) difficile* в кале при помощи иммунохроматографического метода при возникновении у пациента клинической картины клостридиального колита. При определении токсина А тем же методом чувствительность составила 20%, специфичность - 86%, положительная и отрицательная прогностическая способность - 73% и 63%, соответственно. А при детекции токсина В иммунохроматографическим методом чувствительность оказалась на уровне = 63%, специфичность - 56%, положительная и отрицательная прогностическая ценность - 72% и 54%, соответственно.



Отличались также данные определения токсинов А и В в кале при помощи иммуноферментного метода, однако данный тест не позволял выявлять токсины по отдельности. Так, чувствительность теста составляла - 48%, а специфичность - 94%, положительная и отрицательная прогностическая ценность - 98% и 76%, соответственно.

Самые простые и распространенные в нашей стране методы для выявления фермента ГДГ, токсинов А и В *Clostridium (Clostridioides) difficile* в кале это иммунохроматографический и иммуноферментный анализ. Они позволяют получить быстрый ответ, при этом обладают низкой чувствительностью (ИФА) и специфичностью (ИХА), что определяет большое количество ложноотрицательных и ложноположительных результатов. Бактериологический метод безусловно считается эталонным в детекции *Clostridium difficile*, он позволяет не только определить микроорганизм, но и изучить его патогенные свойства (био пленкообразование, антибиотикорезистентность, способность к синтезу токсинов и др.).

В нашей работе изучено содержание микроорганизмов *Lactobacillus spp.* в кале. Так, в 1 группе при поступлении пациентов в стационар медиана титра микроорганизмов *Lactobacillus spp.* составляла  $10^5$  ( $10^4$ ;  $10^6$ ) КОЕ/г, что значительно ниже чем у здоровых людей (норма от  $10^7$  до  $10^9$  КОЕ/г), во 2 группе медиана количества была  $10^5$  ( $10^4$ ;  $10^6$ ) КОЕ/г. При колите, вызванном *C. difficile*, так и другими представителями *Clostridium spp.*, медиана численности лактобактерий в кале была  $10^5$  ( $10^4$ ;  $10^5$ ) КОЕ/г. Таким образом, статистически достоверно происходило уменьшение их количества при развитии CDI ( $p < 0,01$ ).

Также в процессе исследования мы хотели определить связь титра *Clostridium (Clostridioides) difficile* в кале с количеством *Lactobacillus spp.* В результате проведенного корреляционного анализа мы выяснили, что количество микроорганизмов *Lactobacillus spp.* не влияет на численность *C. difficile* и связь отсутствует ( $r = 0,06$ ). По-видимому, эффект от терапии CDI пробиотическими

препаратами связан не только с восстановлением численности лактобактерий, но и с активностью каждого конкретного штамма *Lactobacillus spp.*

В основе влияния *Lactobacillus spp.* на *C. difficile*, лежит индивидуальная штамм специфическая способность микроорганизма продуцировать вещества, негативно воздействующих на *C. difficile*.

Особый интерес представляет та часть работы, которая посвящена оценке уровня контаминации *Clostridium (Clostridioides) difficile* среди медицинского персонала.

Всего было исследовано 39 образцов просветных фекалий. Позитивные тесты на токсины А и В *C. difficile* были в 28 (71,8%) пробах. По способности продуцировать токсины *C. difficile* распределялись следующим образом: бактерии, синтезирующие только токсин В обнаружили в 14 (50%) образцах, оба токсина А + В были в 14 (50%) пробах. Бактерии, продуцирующие токсин А не обнаружены ни в одном случае.

В 1 группе, представляющей врачебное звено, положительные результаты на токсины *C. difficile* были в 14 (70%) образцах, во 2 группе - в 14 (73,7%) пробах.

В 24 (61,5%) из 39 образцов просветных фекалий удалось выделить культуру микроорганизмов представителей рода клостридий. Из них 17 (70,8%) проб имели позитивные тесты на токсин *C. difficile* и 7 (29,2%) - негативные. Среди детектированных микроорганизмов были обнаружены не только *C. difficile* (3), но и другие представители этого рода: *C. perfringens* (17), *C. bifermentas* (4), *C. tertium* (3), *C. disporicum* (2), *C. sordeli* (2) и др.

Так же стоит отметить, что 12 (31%) сотрудников имели эпизоды диареи в течение 2 месяцев до тестирования, не связанные с какими-то явными причинами, из них позитивные тесты на токсины *C. difficile* были у 10 (83%) человек, а 2 (17%) медработника, у которых в анамнезе было отмечено нарушение стула, имели отрицательные результаты иммунохимических тестов. Интересен тот факт, что у 18 (46,2%) человек тест на токсины А и В *C. difficile* был позитивный, но они не

имели каких-либо эпизодов диареи в течении 2 месяцев до сдачи анализа кала.

Кроме того, 14 (35,9%) медицинских работников принимали антибактериальные препараты в течение 2 месяцев до сдачи анализа, при этом у 12 (86%) человек тест на токсины *C. difficile* был позитивен. В тоже время 16 сотрудников не использовали антибиотики, и изучаемые токсины определялись только у 5 (12,8%) работников, у которых в анамнезе имелся факт приема антибактериальных препаратов и эпизоды диареи, тест на токсины был положительным.

Учитывая то, что число положительных результатов на токсины *C. difficile* было почти одинаковым в обеих группах, можно сделать вывод, что частота и длительность контактов с пациентами врачей по сравнению со средним и младшим медперсоналом не оказывает существенного влияния на уровень контаминации токсигенными клостридиями. Отсутствие эпизодов диареи у сотрудников, имеющих положительный тест на токсины А и В *C. difficile*, скорее всего связано с антагонистической способностью нормальной микрофлоры кишечника не только в отношении данного микроорганизма, но и всего рода клостридий.

Была оценена эффективность нового алгоритма уборки, при этом ретроспективно изучалась частота встречаемости клостридиального колита в период с 2012 по 2015 год. Факт возникновения заболевания оценивался по соответствующей клинической картине, при наличии известных факторов риска и лабораторного подтверждения (ИХА тест на токсины А и В *Clostridium (Clostridioides) difficile*). Заболеваемость (инцидентность) клостридиальным колитом за 2015 год в отделе онкологии и хирургии ободочной кишки и онкопроктологии составила 200,5 случаев на 1000 человек в год, а за 2016 год – 78,3 на 1000 пациентов в год. При этом пораженность больных в двух отделениях 2016 году составляла 51%.

В результате проведения комплекса дезинфекционных и профилактических мероприятий удалось снизить частоту встречаемости клостридиального колита за 2016 год с 329 до 165 пациентов в отделении хирургии и онкологии ободочной

кишки, а в отделении онкопротологии с 217 до 47 больных, при этом заболеваемость CDI уменьшилась в 2,6 раза. Это положительная динамика говорит о несомненной важности и эффективности внедренного алгоритма.

Для прогнозирования развития клостридиального колита необходимо учитывать наличие различных факторов риска у конкретного больного.

Исследование, полученных данных показало, что применение назогастрального зондирования в качестве лечения послеоперационного пареза ЖКТ увеличивало частоту возникновения данного заболевания в 5,5 раз (ОШ=5,48; ДИ 95%: 3.03-

По результатам исследования изучалось влияние оперативного доступа на частоту возникновения клостридиального колита в послеоперационном периоде. При статистической обработке результатов выявлено, что сам факт хирургического лечения достоверно увеличивал частоту возникновения колита, ассоциированного с *C. difficile* в 5 раз (ОШ=5,39; ДИ 95%: 2,58-5,88,  $p=0,02$ ). Так при оценке вида доступа при выполнении лапаротомии риск возникновения клостридиального колита увеличивался в 1,5 раза (ОШ=1,49; ДИ 95%: 1-2,21,  $p>0,05$ ), а при лапароскопическом данные оказались схожими (ОШ=1,89; ДИ 95%: 1,2-3,  $p=0,006$ ). В работе были пациенты, которые перенесли повторные оперативные вмешательства в течение одной госпитализации. Так при анализе данных выяснено, что подобный факт достоверно увеличивал в 5 раз частоту возникновения колита, ассоциированного с *C. difficile* (ОШ=4,7; ДИ 95%: 1,84-12,  $p<0,001$ ).

По результатам нашей работы оценен факт влияния сахарного диабета на частоту возникновения колита, обусловленного *C. difficile*. Установлено, что наличие сахарного диабета незначительно снижало вероятность возникновения CDI. Этот факт возможно связан с использованием гипогликемических препаратов. Однако, результаты не являются статистически достоверными (ОШ=0,77; ДИ 95%: 0,4-1,49,  $p = 0,43$ ).

В ходе работы также оценивался факт госпитализации пациента в лечебное учреждение в течение 6 месяцев после нахождения в медицинском учреждении. Это обстоятельство говорит о том, что больные, которые госпитализировались в стационар в 1,4 раза чаще имели CDI (ОШ=1,42; ДИ 95%: 0,98-2,05,  $p=0,062$ ).

В литературе показана связь назначения препаратов из группы защищенных  $\beta$ -лактамов антибактериальных препаратов (амосиклав) с высокой частотой возникновения клостридиального колита. По нашим результатам он практически не влияет на вероятность возникновения подобного осложнения, и результаты не являются статистически достоверными (ОШ=1,26; ДИ 95%: 0,87-1,81,  $p>0,05$ ).

Также в работе оценено применение антибактериальных препаратов из групп фторхинолонов на частоту развития CDI. Ципрофлоксацин увеличивал вероятность возникновения CDI в 1,3 раза, однако данные не являются статистически достоверными (ОШ=1,3; ДИ 95%: 0,87-1,92,  $p>0,05$ ).

Также изучался вопрос об увеличении частоты CDI при использовании карбопенемов. Выяснилось, что медикаменты из группы карбопенемов статистически значимо увеличивают частоту возникновения клостридиального колита почти в 3 раза (ОШ=2,56; ДИ 95%: 1,34-4,9,  $p=0,004$ ).

Достаточно часто в клинической практике применяются антибактериальные препараты из группы цефалоспоринов. Таким образом прием препаратов из этой группы увеличивал частоту возникновения CDI более, чем в 19 раз (ОШ=19,87; ДИ 95%: 2,47-160,2,  $p<0,001$ ).

Так же в ходе работы был оценен факт применение лучевой терапии.

Обнаружилось, что применение она практически не влияет на частоту CDI, однако, данные не являются статистически достоверными (ОШ=1,02; ДИ 95%:

В колопроктологическом стационаре часто находятся пациенты, в анамнезе которых есть факт применения химиотерапии. Выяснилось, что данный вид

лечения не увеличивает риск возникновения клостридиального колита, однако результаты не являются статистически достоверными (ОШ=1,03; ДИ 95%: 0,67-

В исследовании был изучен важный фактор риска, увеличивающий частоту возникновения колита, ассоциированного с *Clostridium (Clostridioides) difficile*. Это применение гормональной терапии в анамнезе. Такое лечение повышало вероятность возникновения данного осложнения почти в 3 раза (ОШ=2.43; ДИ

Еще один из часто описываемых в литературе факторов риска, влияющий на заболеваемость клостридиальным колитом, является использование блокаторов протонной помпы (ИПП). В результате анализа мы обнаружили, что ИПП не увеличивают вероятность возникновения данного заболевания (ОШ=1,11; ДИ 95%:

Также помимо ИПП в стационаре использовали H2 - блокаторы для профилактики появления стрессовых язв. Такая терапия увеличивала частоту возникновения CDI почти в 4 раза (ОШ=3,4; ДИ 95%: 1,65-7,01,  $p<0,001$ ).

Также мы выяснили, что применение предоперационной подготовки кишечника при помощи очистительных клизм и осмотических слабительных уменьшают риск возникновения колита, обусловленного *Clostridium (Clostridioides) difficile* приблизительно в 2 раза (ОШ=0,51; ДИ 95%: 0,35-0,75,  $p<0,001$ ) и (ОШ=0,52; ДИ

В ходе работы было оценено влияние онкологического заболевания в анамнезе на вероятность возникновения клостридиального колита. Выяснилось, что онкологическое заболевание статистически достоверно не влияет на частоту возникновения CDI (ОШ=1,12; ДИ 95%: 0,76–1,63,  $p=0,57$ ).

В литературе упоминается важный фактор риска для возникновения CDI как наличие в анамнезе пациента антибиотико-ассоциированной диареи. Вероятность развития данного осложнения статистически достоверно выше, чем у пациентов,

не имеющихотягощенный анамнез по данному заболеванию (ОШ=6,24; ДИ 95%:

Часто хирургические вмешательства заканчиваются дренированием брюшной полости и малого таза. Мы в нашей работе оценили этот факт, как возможный фактор риска для возникновения клостридиального колита. Оказалось, что подобная манипуляция увеличивает вероятность возникновения данного осложнения почти в 3 раза (ОШ=2,9; ДИ 95%: 1,87-4,48,  $p<0,001$ ).

В колопроктологическом стационаре часто находятся пациенты с воспалительными заболеваниями кишечника. Таким образом частота возникновения CDI у пациентов с язвенным колитом в 2 раза выше, чем у пациентов при отсутствии данного заболевания (ОШ=2,17; ДИ 95%: 1,28-3,69,  $p=0,006$ ).

Интересные данные получены у пациентов с болезнью Крона. При этом частота возникновения клостридиального колита была ниже в группе больных, имеющих данное заболевание, однако результаты не являются статистически достоверными частым назначением подобным пациентам, в качестве лечения осложнений данного заболевания, антибактериальных препаратов активных против *C. difficile* (Альфа-нормикс, метронидазол).

В процессе нашей работы также оценен фактор риска, как наличие постоянного венозного доступа. Так, пациенты, имеющие центральный катетер имели большую вероятность развития CDI (ОШ=2,85; ДИ 95%: 1,85–4,39,  $p<0,001$ ), чем больные с периферическим венозным доступом (ОШ=0,66; ДИ 95%: 0,42–1,04,  $p=0,07$ )

В результате многофакторного корреляционного анализа независимыми значимыми факторами оказались: хирургическое лечение (ОШ=2,4; ДИ 95%: 1,05–5,49,  $p=0,038$ ), повторные оперативные вмешательства (ОШ=4,4; ДИ 95%: 1,71–11,29,  $p=0,002$ ), госпитализация в течение 6 месяцев до настоящей (ОШ=1,5; ДИ 95%: 1,02–2,21,  $p=0,041$ ), установка центрального венозного катетера (ОШ=7,47;

ДИ 95%: 2,83–19,45,  $p < 0,01$ ), дренажа (ОШ=1,87; ДИ 95%: 1,09–3,18,  $p = 0,022$ ), назогастрального зонда (ОШ=5; ДИ 95%: 2,70–9,18,  $p > 0,001$ ), применение цефалоспоринов (ОШ=17,67; ДИ 95%: 2,09–149,67,  $p = 0,008$ ), глюкокортикоидов (ОШ=3,62; ДИ 95%: 1,33–9,89,  $p = 0,012$ ), Н2-блокаторов (ОШ=2,51; ДИ 95%: 1,15–5,93,  $p = 0,022$ ), осмотических слабительных (ОШ=0,51; ДИ 95%: 0,33–0,78,  $p = 0,002$ ), очистительных клизм (ОШ=0,24; ДИ 95%: 0,14–0,39,  $p < 0,001$ ), наличие антибиотико–ассоциированной диареи (ОШ=5,47; ДИ 95%: 1,60–18,73,  $p = 0,007$ ) и язвенного колита в анамнезе (ОШ=2,95; ДИ 95%: 1,56–5,60,  $p = 0,001$ ).



## ВЫВОДЫ

1. Проведенный анализ показал, что уровень заболеваемости клостридиальным колитом в колопроктологическом стационаре составил 200,5 случаев на 1000 пациентов в 2015 году. Развитие CDI увеличивает сроки госпитализации на 4 дня.
2. В результате проведенного многофакторного анализа независимыми в прогностическом отношении развития CDI факторами оказались: хирургическое лечение (ОШ=2,4; ДИ 95%: 1,05–5,49,  $p=0,038$ ), повторные оперативные вмешательства (ОШ=4,4; ДИ 95%: 1,71–11,29,  $p=0,002$ ), госпитализация в течение 6 месяцев до настоящей (ОШ=1,5; ДИ 95%: 1,02–2,21,  $p=0,041$ ), установка центрального венозного катетера (ОШ=7,47; ДИ 95%: 2,83–19,45,  $p<0,01$ ), дренажа (ОШ=1,87; ДИ 95%: 1,09–3,18,  $p=0,022$ ), назогастрального зонда (ОШ=5; ДИ 95%: 2,70–9,18,  $p>0,001$ ), применение цефалоспоринов (ОШ=17,67; ДИ 95%: 2,09–149,67,  $p=0,008$ ), глюкокортикоидов (ОШ=3,62; ДИ 95%: 1,33–9,89,  $p=0,012$ ), H2-блокаторов (ОШ=2,51; ДИ 95%: 1,15–5,93,  $p=0,022$ ), осмотических слабительных (ОШ=0,51; ДИ 95%: 0,33–0,78,  $p=0,002$ ), очистительных клизм (ОШ=0,24; ДИ 95%: 0,14–0,39,  $p<0,001$ ), наличие антибиотико-ассоциированной диареи (ОШ=5,47; ДИ 95%: 1,60–18,73,  $p=0,007$ ) и язвенного колита в анамнезе (ОШ=2,95; ДИ 95%: 1,56–5,60,  $p=0,001$ ).
3. Исследование образцов кала сотрудников колопроктологического отделения установило, что в 71,8% наблюдений определялись позитивные токсины *C. difficile*. При этом клиническая картина, сопровождающаяся диареей на момент исследования или в анамнезе в течение 2 месяцев, присутствовала в 31% случаев.

4. Важную роль в снижении заболеваемости клостридиальным колитом, сыграл внедренный в работу стационара комплекс санэпидмероприятий.  
Установлено, что применение нового алгоритма уборки снижает заболеваемость клостридиальным колитом в 2,6 раза с 200,5 случаев на 1000 больных в 2015 году, до 78,3 случаев на 1000 пациентов в 2016 году.
5. При установлении диагноза CDI не следует опираться только на ИХА, ИФА - диагностику, учитывая низкую чувствительность и специфичность этих методик. Так, чувствительность ИХА ГДГ теста составила - 43%, а специфичность - 85 %. При использовании ИФА для определения ГДГ чувствительность была - 22%, а специфичность - 94%. При выявлении токсина А при помощи ИХА чувствительность была - 20%, а специфичность - 86%. При детекции токсина В тем же методом чувствительность составила - 63%, специфичность – 56%. При определении токсинов А и В при ИФА чувствительность тест-системы ИФА без конкретизации по типу токсина А или В составляла - 48%, а специфичность - 94%.
6. Анализ этиологического фактора в развитии CDI показал, что в отличие от 163 (76,9%) больных 1 группы, у которых клиническая картина клостридиального колита была обусловлена наличием у них в кале *C. difficile*, в 38 (17,9 %) случаях этиологическим фактором развития диареи были другие представители этого рода. Так, у 32 (84%) пациентов обнаружена *Clostridium perfringens*, у 5 (13%) больных - *Clostridium novyi*, у 1 (3%) пациента - *Clostridium hathewayi*.
7. Проведенный анализ резистентности *C. difficile* к основным препаратам, рекомендованным в качестве этиотропной терапии клостридиального колита показал, что к ванкомицину она составила – 4%, а к метронидазолу – 20% в российском колопроктологическом стационаре.

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Целесообразно внедрить в практику новый алгоритм санэпидмероприятий мероприятий в колопроктологический стационар, так как это эффективно снижает заболеваемость клостридиальным колитом и сокращает сроки госпитализации.
2. Принимая во внимание низкую диагностическую значимость лабораторных тестов для идентификации *C. difficile* необходимо использовать, а комплексный алгоритм диагностики, включающий несколько методов. При этом следует отметить, что бактериологический метод является «золотым» стандартом.
3. Для прогнозирования и снижения частоты развития CDI необходимо учитывать наличие факторов риска у конкретного пациента, повышающих вероятность появления этого осложнения, таких как, назогастральное зондирование, наличие центрального венозного катетера, хирургическое лечение, лапароскопия, повторные оперативные вмешательства, применение карбопенемов.
4. Учитывая высокую распространенность резистентных штаммов *C. difficile* у колопроктологических больных необходимо оптимизировать и исключить необоснованное назначение антибактериальных препаратов, особенно рекомендованных для лечения CDI.
5. В связи с высоким уровнем контаминации медицинского персонала токсигенными *Clostridium spp.* следует уделять особое внимание личной гигиене сотрудников в целях предотвращения возможной передачи возбудителя.
6. Полиэтиологический характер клостридиального колита диктует необходимость учета роли других представителей рода *Clostridium* в развитии, дренажирование брюшной полости, наличие антибиотико - ассоциированной диареи и/или язвенного колита в анамнезе, применение Н<sub>2</sub>-блокаторов, гормональной терапии в анамнезе, применение цефалоспоринов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Дуда А.К., Окружнов Н.В. и др. Антибиотико-ассоциированные диареи и псевдомембранозный колит: диагностика и рациональная терапия. // Семейная медицина. 2012. №5. С. 116-120.
2. В.А. Малов. Инфекция *Clostridium difficile*: современное состояние проблемы // Фарматека. 2010. №4. С. 27–31.
3. Пилиев Д.В., Ачкасов С.И., Корнева Т.К. и др. Антибиотико-ассоциированная диарея: современное состояние проблемы // Российский Журнал Гастроэнтерологии Гепатологии Колопроктологии. 2014. № 5. С. 54–61.
4. Захаренко А. А., Суворов А.Н., Шлык И.В. и др. Нарушение микробиоциноза кишечника у больных колоректальным раком и способы их коррекции (обзор литературы) // Колопроктология. 2016. № 56 (2). С. 48–56.
5. Секачева. М.И. Антибиотико-ассоциированная диарея // Гастроэнтерология. 2007. № 2. С. 39–42.
6. Маянский А.Н., Чеботарь И.В. Стафилококковые биопленки: структура, регуляция, отторжение // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2011. №1. С. 101-108.
7. Муляр Н.Ф., Верещагина С.А., Фадеева Т.В. и др. *Clostridium difficile* - ассоциированные диареи в многопрофильном стационаре // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. 2012. №5(87). С. 72–75.
8. Корнеева О.Н., Ивашкин В.Т. Антибиотикоассоциированный колит: патоморфология, клиника, лечение // Национальная школа гастроэнтерологов, гепатологов. 2007. №3. С. 65–70.
9. Пикунов Д.Ю., Рыбаков Е.Г., Головенко О.В. Псевдомембранозный колит (обзор литературы) // Колопроктология. 2010. № 2 (32). С. 55–60.
10. Шелыгин Ю.А. Головенко О.В., Головенко А.О. и др. Трансплантация фекальной микробиоты - перспективы применения при заболеваниях кишечника. (обзор литературы) // Колопроктология. 2015. № №4 (54). С. 65–73.

11. Шульпекова Ю.О. Антибиотикоассоциированная диарея // «Русский Медицинский Журнал» 2007, Том 15, № 6, С. 1-6.
12. Успенский Ю.П., Фоминых Ю.А. Антибиотик-ассоциированная диарея: актуальность проблемы, профилактика и терапия // Рациональная фармакотерапия. 2013. №2(10). С. 46-53.
13. Abou Chakra C.N., McGeer A., Labbé A. et al. Factors Associated With Complications of Clostridium difficile Infection in a Multicenter Prospective Cohort. // Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America. 2015. № 12 (61). P. 1781–1788.
14. Aguado J.M., Anttila V.J., Galperine T. et al. Highlighting clinical needs in Clostridium difficile infection: the views of European healthcare professionals at the front line // Journal of Hospital Infection. 2015. № 2 (90). P. 117–125.
15. Ahmetagic S., Salkic N., Ahmetagic A. et al. Clostridium difficile infection in hospitalized patients at university clinical center tuzla, bosnia and herzegovina: a 4 year experience. // Materia socio-medica. 2013. № 3 (25). P. 153–157.
16. Alicino C., Giacobbe D.R., Durando P. et al. Increasing incidence of Clostridium difficile infections: results from a 5-year retrospective study in a large teaching hospital in the Italian region with the oldest population. // Epidemiology and infection. 2016. № 12 (144). P. 2517–2526.
17. Angarone M., Ison M.G. Diarrhea in solid organ transplant recipients. // Current opinion in infectious diseases. 2015. № 4 (28). P. 308–316.
18. Aquina C.T., Probst C.P., Becerra A.Z. et al. High variability in nosocomial Clostridium difficile infection rates across hospitals after colorectal resection // Diseases of the Colon & Rectum. 2016. № 4 (59). P. 323–331.
19. Blixt T., Gradel K.O., Homann C. et al. Asymptomatic carriers contribute to nosocomial Clostridium difficile infection: a cohort study of 4508 patients // Gastroenterology. 2017. № 5 (152), P. 1031–1041.

20. Bomers M.K., Agtmael M.A., Luik H. et al. Using a dog's superior olfactory sensitivity to identify *Clostridium difficile* in stools and patients: proof of principle study. // *BMJ (Clinical research ed.)*. 2012. (345). P. 1-8.
21. Buonomo E.L., Petri W.A. The microbiota and immune response during *Clostridium difficile* infection // *Anaerobe*. 2016. (41). P. 79–84.
22. Carey-Ann D. Burnham, Carroll K.C. Diagnosis of *Clostridium difficile* infection: an ongoing conundrum for clinicians and for clinical laboratories. // *Clinical microbiology reviews*. 2013. № 3 (26). P. 604–630.
23. Chen Y., Glass K., Liu B. et al. Burden of *Clostridium difficile* infection: associated hospitalization in a cohort of middle-aged and older adults // *American Journal of Infection Control*. 2017. № 5 (45). P. 508–511.
24. Clements A.C., Magalhães R.J.S., Tatem A.J. et al. *Clostridium difficile* PCR ribotype 027: assessing the risks of further worldwide spread // *The Lancet Infectious Diseases*. 2010. № 6 (10). P. 395–404.
25. Cohen S.H., Gerding D.N., Johnson S. et al. 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) // *Infection Control and Hospital Epidemiology*. 2010. № 5 (31). P. 431–455.
26. Dave M., Purohit T., Razonable R. et al. Opportunistic infections due to inflammatory bowel disease therapy // *Inflammatory Bowel Diseases*. 2014. № 1 (20). P. 196–212.
27. Deshpande A., Pasupuleti V., Thota P. et al. Risk factors for recurrent *Clostridium difficile* infection: a systematic review and meta-analysis. // *Infection control and hospital epidemiology*. 2015. № 4 (36). P. 452–60.
28. Donskey C.J., Arduino M., Ostrowsky B.E. et al. Does improving surface cleaning and disinfection reduce health care-associated infections? // *American journal of infection control*. 2013. № 5 (41). P. 12-19.

29. Dubberke E.R., Butler A.M., Reske K.A. et al. Attributable outcomes of endemic *Clostridium difficile*-associated disease in nonsurgical patients. // *Emerging infectious diseases*. 2008. № 7 (14). P. 1031–1038.

30. Dubberke E.R., Reske K.A., Noble-Wang J. et al. Prevalence of *Clostridium difficile* environmental contamination and strain variability in multiple health care facilities // *American Journal of Infection Control*. 2007. № 5 (35). P. 315–318.

31. Dupuy B., Sonenshein A.L. Regulated transcription of *Clostridium difficile* toxin genes // *Molecular Microbiology*. 1998. № 1 (27). P. 107–120.

32. Durrani K.M., Gruhn J.G. Pseudomembranous enterocolitis // *The American Journal of Surgery*. 1963. № 6 (106). P. 966–973.

33. Eichel-Streiber C. von, Warfolomeow I., Knautz D. et al. Morphological changes in adherent cells induced by *Clostridium difficile* toxins. // *Biochemical Society transactions*. 1991. № 4 (19). P. 1154–1160.

34. Eiland E.H., Sawyer A.J., Massie N.L. et al. Fidaxomicin use and clinical outcomes for *Clostridium difficile*-associated diarrhea. // *Infectious diseases in clinical practice (Baltimore, Md.)*. 2015. № 1 (23). P. 32–35.

35. Eliakim-Raz N., Fishman G., Yahav D. et al. Predicting *Clostridium difficile* infection in diabetic patients and the effect of metformin therapy: a retrospective, case-control study. // *European journal of clinical microbiology & infectious diseases : official publication of the European Society of Clinical Microbiology*. 2015. № 6 (34). P. 1201–1205.

36. Freeman J., Vernon J., Morris K. et al. Pan-European longitudinal surveillance of antibiotic resistance among prevalent *Clostridium difficile* ribotypes. // *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 2015. № 3 (21). P. 248-256.

37. Freeman J., Vernon J., Pilling S. et al. The ClosER study: results from a three-year pan-European longitudinal surveillance of antibiotic resistance among prevalent *Clostridium difficile* ribotypes, 2011–2014 // *Clinical Microbiology and Infection*. 2017. P. 1-75.

38. Goudarzi M., Seyedjavadi S.S., Goudarzi H. et al. Clostridium difficile infection: epidemiology, pathogenesis, risk factors, and therapeutic options. // *Scientifica*. 2014. (2014). P. 1-9.
39. Guern R. Le, Wallet F. Diagnostic de l'infection à Clostridium difficile au laboratoire // *Annales de Biologie Clinique*. 2013. № 4 (71). P. 395–400.
40. Guo S., Yan W., McDonough S.P. et al. The recombinant Lactococcus lactis oral vaccine induces protection against C. difficile spore challenge in a mouse model // *Vaccine*. 2015. № 13 (33). P. 1586–1595.
41. Haines C.F., Moore R.D., Bartlett J.G. et al. Clostridium difficile in a HIV-infected cohort: incidence, risk factors, and clinical outcomes. // *AIDS (London, England)*. 2013. № 17 (27). P. 2799–2807.
42. Hargreaves K.R., Clokie M.R.J. Clostridium difficile phages: still difficult? // *Frontiers in microbiology*. 2014. (5). P. 184-198.
43. Hashash J.G., Binion D.G. Managing Clostridium difficile in inflammatory bowel disease (IBD). // *Current gastroenterology reports*. 2014. № 7 (16). P. 393-399.
44. Hensgens M.P.M., Goorhuis A., Dekkers O.M. et al. Time interval of increased risk for Clostridium difficile infection after exposure to antibiotics. // *The Journal of antimicrobial chemotherapy*. 2012. № 3 (67). P. 742–748.
45. Hill K.A., Collins J., Wilson L. et al. Comparison of two selective media for the recovery of Clostridium difficile from environmental surfaces. // *J. Hosp. Infect.* 2013. № 2 (83), P 164–166.
46. Huang H., Wu S., Chen R. et al. Risk factors of Clostridium difficile infections among patients in a university hospital in Shanghai, China // *Anaerobe*. 2014. (30). P. 65–69.
47. Huang J.S., Jiang Z.D., Garey K.W. et al. Use of rifamycin drugs and development of infection by rifamycin-resistant strains of Clostridium difficile. // *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2013. № 6 (57). P. 2690–2693.



48. Jin D., Luo Y., Huang C. et al. Molecular epidemiology of *Clostridium difficile* infection in hospitalized patients in Eastern China. // *Journal of clinical microbiology*. 2017. № 3 (55). P. 801–810.

49. Johansson K., Karlsson H., Norén T. *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 // *APMIS*. 2016. № 11 (124). P. 1016–1020.

50. Johnson S., Clabots C.R., Linn F. V et al. Nosocomial *Clostridium difficile* colonisation and disease. // *Lancet (London, England)*. 1990. № 8707 (336). P. 97–100.

51. Johnson S., Gerding D.N., Olson M.M. et al. Prospective, controlled study of vinyl glove use to interrupt *Clostridium difficile* nosocomial transmission // *The American Journal of Medicine*. 1990. № 2 (88). P. 137–140.

52. Kachrimanidou M., Malisiovas N. *Clostridium difficile* infection: a comprehensive review. // *Critical reviews in microbiology*. 2011. № 3 (37). P. 178–187.

53. Kanerva M., Mentula S., Virolainen-Julkunen A. et al. Reduction in *Clostridium difficile* infections in Finland, 2008-2010. // *The Journal of hospital infection*. 2013. № 2 (83). P. 127–131.

54. Kassam Z., Lee C.H., Yuan Y. et al. Fecal Microbiota Transplantation for *Clostridium difficile* Infection: systematic review and meta-analysis // *The American Journal of Gastroenterology*. 2013. № 4 (108). P. 500–508.

55. Kato H., Kita H., Karasawa T. et al. Colonisation and transmission of *Clostridium difficile* in healthy individuals examined by PCR ribotyping and pulsed-field gel electrophoresis. // *Journal of medical microbiology*. 2001. № 8 (50). P. 720–727.

56. Kazanowski M., Smolarek S., Kinnarney F. et al. *Clostridium difficile*: epidemiology, diagnostic and therapeutic possibilities—a systematic review // *Techniques in Coloproctology*. 2014. № 3 (18). P. 223–232.

57. Kim J., Pai H., Seo M. et al. Epidemiology and Clinical Characteristics of *Clostridium difficile* Infection in a Korean tertiary hospital // *Journal of Korean Medical Science*. 2011. № 10 (26). P. 1258–1264.

58. Kim J.W., Lee K.L., Jeong J.B. et al. Proton pump inhibitors as a risk factor for recurrence of *Clostridium difficile*-associated diarrhea. // *World journal of gastroenterology*. 2010. № 28 (16). P. 3573–3577.
59. Kostakioti M., Hadjifrangiskou M., Hultgren S.J. Bacterial biofilms: development, dispersal, and therapeutic strategies in the dawn of the postantibiotic era. // *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*. 2013. № 4 (3). P. 1-23.
60. Kouzegaran S., Ganjifard M., Tanha A.S. detection, ribotyping and antimicrobial resistance properties of *Clostridium difficile* strains isolated from the cases of diarrhea. // *Materia socio-medica*. 2016. № 5 (28). P. 324–328.
61. Krutova M., Matejkova J., Tkadlec J. et al. Antibiotic profiling of *Clostridium difficile* ribotype 176A multidrug resistant relative to *C. difficile* ribotype 027. // *Anaerobe*. 2015. (36). P. 88–90.
62. Kundrapu S., Sunkesula V., Jury I. et al. A randomized trial of soap and water hand wash versus alcohol hand rub for removal of *Clostridium difficile* spores from hands of patients // *Infection Control & Hospital Epidemiology*. 2014. № 2 (35). P. 204–206.
63. Kyne L., Merry C., O'Connell B. et al. Factors associated with prolonged symptoms and severe disease due to *Clostridium difficile* // *Age and Ageing*. 1999. № 2 (28). P. 107–113.
64. Kyne L., Warny M., Qamar A. et al. Asymptomatic carriage of *Clostridium difficile* and serum levels of IgG antibody against toxin A // *New England Journal of Medicine*. 2000. № 6 (342). P. 390–397.
65. Landelle C., Verachten M., Legrand P. et al. Contamination of healthcare workers' hands with *Clostridium difficile* spores after caring for patients with *C. difficile* Infection // *Infection Control & Hospital Epidemiology*. 2014. № 1 (35). P. 10–15.
66. Larson H.E., Parry J. V, Price A.B. et al. Undescribed toxin in pseudomembranous colitis. // *BMJ*. 1977. № 6071 (1). P 1246-1248.
67. Lasala P.R., Svensson A.M., Mohammad A.A. et al. Comparison of analytical and clinical performance of three methods for detection of *Clostridium difficile* // *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*. 2012. № 5 (136). P. 527–531.

68. Lee H.C., Kim K.O., Jeong Y.H. et al. Clinical outcomes in hospitalized patients with *Clostridium difficile* Infection by age group // *The Korean Journal of Gastroenterology*. 2016. № 2 (67). P. 81-86.

69. Legaria M.C., Rollet R., Martino A. Di et al. Detection of toxigenic *Clostridioides* [*Clostridium*] *difficile* : usefulness of two commercially available enzyme immunoassays and a PCR assay on stool samples and stool isolates // *Revista Argentina de Microbiología*. 2018. №1 (50). P. 36-44.

70. Levin J., Riley L.S., Parrish C. et al. The effect of portable pulsed xenon ultraviolet light after terminal cleaning on hospital-associated *Clostridium difficile* infection in a community hospital // *Am. J. Infect Control*. 2013.№ 8 (41). P. 746-748.

71. Locher H.H., Seiler P., Chen X. et al. In vitro and in vivo antibacterial evaluation of cadazolid, a new antibiotic for treatment of *Clostridium difficile* infections. // *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2014. № 2 (58). P. 892–900.

72. Lyytikäinen O., Turunen H., Sund R. et al. Hospitalizations and deaths associated with *Clostridium difficile* infection, Finland, 1996-2004. // *Emerging infectious diseases*. 2009. № 5 (15). P. 761–765.

73. MacLaren R., Reynolds P.M., Allen R.R. et al. Histamine-2 receptor antagonists vs proton pump Inhibitors on gastrointestinal tract hemorrhage and infectious complications in the intensive care unit // *JAMA Internal Medicine*. 2014. № 4 (174). P. 564-574.

74. McFarland L. V. Meta-analysis of probiotics for the prevention of antibiotic associated diarrhea and the treatment of *Clostridium difficile* disease // *The American Journal of Gastroenterology*. 2006. № 4 (101). P. 812–822.

75. McFarland L. V, Surawicz C.M. *Clostridium Difficile* associated disease: diagnosis and treatment // *Evidence-Based Gastroenterology and Hepatology: Third Edition*. 2010. P. 335–354.

76. Metan G., Türe Z., Kaynar L. et al. Tigecycline for the treatment of *Clostridium difficile* infection refractory to metronidazole in haematopoietic stem cell transplant recipients // *Journal of Chemotherapy*. 2015. № 6 (27). P. 354–357.

77. O'Brien J.A., Lahue B.J., Caro J.J. et al. The emerging infectious challenge of *Clostridium difficile*-associated disease in Massachusetts hospitals: clinical and economic consequences // *Infect. Control. Hosp. Epidemiology*. 2007. № 11 (28). P. 1219–1227.

78. Phatharacharukul P., Thongprayoon C., Cheungpasitporn W. et al. The risks of incident and recurrent *Clostridium difficile*-associated diarrhea in chronic kidney disease and end-stage kidney disease patients: a systematic review and meta-analysis // *Digestive Diseases and Sciences*. 2015. № 10 (60). P. 2913–2922.

79. Pichlo C., Montada A.A., Schacherl M. et al. Production, Crystallization and Structure Determination of *C. difficile* PPEP-1 via Microseeding and Zinc-SAD // *Journal of Visualized Experiments*. 2016. № 118. P 1-12.

80. Planche T.D., Davies K.A., Coen P.G. et al. Differences in outcome according to *Clostridium difficile* testing method: a prospective multicentre diagnostic validation study of *C. difficile* infection // *The Lancet Infectious Diseases*. 2013. № 11 (13). P. 936–945.

81. Podlaszewska K., Małecka-Panas E., Gąsiorowska A. *Clostridium difficile* infection in patients hospitalized in the gastroenterology ward – retrospective analysis // *Polish Journal of Surgery*. 2018. № 1 (90). P. 7–12.

82. Potter V.A., Aravinthan A. Identifying patients at risk of severe *Clostridium difficile*-associated disease. // *British journal of hospital medicine (London, England : 2005)*. 2012. № 5 (73). P. 265–70.

83. Putsathit P., Morgan J., Bradford D. et al. Evaluation of the BD Max Cdiff assay for the detection of toxigenic *Clostridium difficile* in human stool specimens // *Pathology*. 2015. № 2 (47). P. 165–168.

84. Qu H.-Q., Jiang Z.-D. *Clostridium difficile* infection in diabetes. // *Diabetes research and clinical practice*. 2014. № 3 (105). P. 285–294.

85. Rätsep M., Kõljalg S., Sepp E. et al. A combination of the probiotic and prebiotic product can prevent the germination of *Clostridium difficile* spores and infection // *Anaerobe*. 2017. (47). P. 94–103.

86. Ray A.J., Deshpande A., Fertelli D. et al. A multicenter randomized trial to determine the effect of an environmental disinfection intervention on the Incidence of healthcare-associated *Clostridium difficile* infection // *Infection Control & Hospital Epidemiology*. 2017. № 7 (38). P. 777–783.

87. Reveles K.R., Lee G.C., Boyd N.K. et al. The rise in *Clostridium difficile* infection incidence among hospitalized adults in the United States: 2001-2010 // *American Journal of Infection Control*. 2014. № 10 (42). P. 1028–1032.

88. Rodriguez C., Korsak N., Taminiou B. et al. *Clostridium difficile* infection in elderly nursing home residents // *Anaerobe*. 2014. (30). P. 184–187.

89. Schneeweiss S., Korzenik J., Solomon D.H. et al. Infliximab and other immunomodulating drugs in patients with inflammatory bowel disease and the risk of serious bacterial infections // *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*. 2009. № 3 (30). P. 253–264.

90. Shah D.N., Aitken S.L., Barragan L.F. et al. Economic burden of primary compared with recurrent *Clostridium difficile* infection in hospitalized patients: a prospective cohort study // *Journal of Hospital Infection*. 2016. № 3 (93). P. 286–289.

91. Sinclair A., Xie X., Saab L. et al. *Lactobacillus* probiotics in the prevention of diarrhea associated with *Clostridium difficile*: a systematic review and bayesian hierarchical meta-analysis. // *CMAJ open*. 2016. № 4 (4). P. 706–718.

92. Skřička T., Hemmelová B., Mitáš L. et al. Клостридиальный колит – важная проблема в хирургии // *Колопроктология*. 2014. №4(50). С. 17–23.

93. Steindl G., Fiedler A., Huhulescu S. et al. Effect of airborne hydrogen peroxide on spores of *Clostridium difficile* // *Wiener klinische Wochenschrift*. 2015. № 11–12 (127). P. 421–426.

94. Surawicz C.M., Brandt L.J., Binion D.G. et al. Guidelines for diagnosis, treatment, and prevention of *Clostridium difficile* infections // *The American Journal of Gastroenterology*. 2013. № 4 (108). P. 478–498.

95. Tang C., Cui L., Xu Y. et al. The incidence and drug resistance of *Clostridium difficile* infection in Mainland China: a systematic review and meta-analysis. // *Scientific reports*. 2016. (6). P. 1-10.
96. Vardakas K.Z., Polyzos K.A., Patouni K. et al. Treatment failure and recurrence of *Clostridium difficile* infection following treatment with vancomycin or metronidazole: a systematic review of the evidence // *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2012. № 1 (40). P. 1–8.
97. Verity P., Wilcox M.H., Fawley W. et al. Prospective evaluation of environmental contamination by *Clostridium difficile* in isolation side rooms. // *The Journal of hospital infection*. 2001. № 3 (49). P. 204–209.
98. Vesoulis Z., Williams G., Matthews B. Pseudomembranous enteritis after proctocolectomy // *Diseases of the Colon & Rectum*. 2000. № 4 (43). P. 551–554.
99. Wang Y., Guo S., Zhao C.N. et al. Colonization rate of *Clostridium Difficile* in healthy children. // *Zhonghua Er. Ke. Za. Zhi*. 2017. № 4 (55). P. 294–297.
100. Zhang T., Lin Q.-Y., Fei J.-X. et al. *Clostridium Difficile* Infection worsen outcome of hospitalized patients with inflammatory bowel disease. // *Scientific reports*. 2016. (6). P. 1-8.