

Клинические рекомендации

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

МКБ 10: A04.7 / K59.3 / K52.8.0

Год утверждения: 2017 (пересмотр каждые 3 года)

Профессиональные ассоциации:

- Национальная ассоциация специалистов по контролю инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи
- Общероссийская общественная некоммерческая организация «Ассоциация колопроктологов России»

2017 (пересмотр каждые 3 года)

УДК:

ББК:

П

Клинические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике *Clostridium difficile*-ассоциированной диареи. Клинические рекомендации. - Москва: Изд-во «.....», 2017. – 24 с.

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

Клинические рекомендации согласованы Профильной комиссией Минздрава России по эпидемиологии (протокол № 11 от 27. 09. 2017). Клинические рекомендации утверждены на общем собрании членов НП «НАСКИ» в рамках Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Риск-ориентированные технологии в обеспечении эпидемиологической безопасности медицинской деятельности», 27-29 сентября 2017 года, г. Пермь (Протокол № 15 от 27.09.2017 Общего собрания членов НП «НАСКИ»).

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

Клинические рекомендации предназначены для широкого круга специалистов: врачей общей практики, терапевтов, гастроэнтерологов, инфекционистов, педиатров, бактериологов, врачей КДЛ, клинических эпидемиологов, врачей различных специальностей, преподавателей, аспирантов, ординаторов и студентов медицинских образовательных учреждений.

В настоящих клинических рекомендациях изложен трёхэтапный алгоритм исследования *Clostridium difficile*-ассоциированной инфекции (CDI), которая является одной из основных причин нозокомиальной диареи. Сложность лабораторной диагностики CDI ведёт к прогрессированию заболевания, вызывающему обширные воспалительные изменения стенки толстой кишки, характеризующиеся поверхностным некрозом слизистой оболочки с образованием «псевдомембран», ведущих к формированию токсического мегаколона, перфорации кишечной стенки, перитониту, сепсису. Ведущая роль в постановке диагноза принадлежит индикации возбудителя и детекции его токсинов. Трёхэтапный алгоритм исследования предназначен для быстрого и полного лабораторного выявления антибиотикассоциированных диарей, скрининга пациентов, поступающих в отделения эпидемиологического риска. Использование трёхэтапного алгоритма лабораторного исследования обеспечит правильную и своевременную диагностику, локальный микробиологический мониторинг и эпидемиологический надзор за CDI.

© Шелыгин Ю. А. ¹, Алёшкин В. А. ², Сухина М. А. и др., 2017

© ИЗДАТЕЛЬСТВО «.....», 2017

ОГЛАВЛЕНИЕ

Ключевые слова:	5
Список сокращений	5
Термины и определения	6
1. Краткая информация	6
1.1 Определение	6
1.2. Этиология и патогенез	6
1.3. Эпидемиология	7
1.4. Кодирование по МКБ 10	8
1.5. Классификация	8
2. Диагностика	9
2.1. Жалобы и анамнез	9
2.2. Физикальное обследование	9
2.4. Лабораторная диагностика	10
2.4.1. Тест-системы для диагностики CDI	10
2.4.2. Питательные среды для культивирования <i>Clostridium difficile</i>	10
2.4.3. Идентификация чистой культуры <i>C. difficile</i>	10
2.4.4. Материал для исследования	11
2.4.5. Диагностика CDI	13
Заключение	24
2.4.6. Интерпретация результатов	26
3. Лечение	27
3.1 Консервативное лечение	27
3.2 Хирургическое лечение	28
3.3 Иное лечение	29
4. Реабилитация	29
5. Профилактика	30
Список литературы	33
Приложение А1. Состав рабочей группы	33
Приложение А2. Методология разработки клинических рекомендаций	42
Приложение А3. Связанные документы	46
Приложение Б. Алгоритмы ведения пациента	48
Схема трёхэтапного алгоритм лабораторного микробиологического исследования просветных фекалий при подозрении на CDI (Вариант 1)	48

Схема трёхэтапного алгоритм лабораторного микробиологического исследования просветных фекалий при подозрении на CDI (Вариант 2)	49
Приложение В. Информация для пациента	50

Ключевые слова:

Clostridium (Clostridioides) difficile, *Clostridium difficile*-ассоциированная инфекция, глутаматдегидрогеназа, иммуноферментный анализ, иммунохроматографический анализ, полимеразная цепная реакция, экзотоксин А *Clostridium (Clostridioides) difficile*, экзотоксин В *Clostridium (Clostridioides) difficile*, бинарный токсин *Clostridium (Clostridioides) difficile*.

Список сокращений

CCFA – циклосерин-цефокситин-фруктозный агар (селективная среда для *Clostridium difficile*);

CDI – *Clostridium difficile*-ассоциированной инфекции;

GPP – Индикаторы доброкачественной практики (Good Practice Points);

TcdA – экзотоксин А *Clostridium difficile*;

TcdB – экзотоксин В *Clostridium difficile*;

АГ – антиген;

АТ – антитело;

ГДГ – глутаматдегидрогеназа;

ГЖХ – газо-жидкостная хроматография;

ИФА – иммуноферментный анализ;

ИХА – иммунохроматографический анализ;

КО – контрольный образец;

ЛПУ – лечебно-профилактическое учреждение;

МПК – минимальная подавляющая концентрация;

НАСКИ – Национальная ассоциация специалистов по контролю инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи;

НК – нуклеиновые кислоты;

ПЦР – полимеразная цепная реакция;

РАЛ – реакция агглютинации латексов;

РН – реакция нейтрализации;

СОП – стандартные операционные процедуры;

ТЛ – тиолактон;

ФЗ – Федеральный закон;

ФКР – Федеральные клинические рекомендации;

ЦПД – цитопатическое действие.

Термины и определения

***Clostridium difficile*-ассоциированная инфекция** — заболевание, развивающееся при нарушении кишечного микробиома с избыточной колонизацией *Clostridium (Clostridioides) difficile*, токсины которой вызывают воспаление и повреждение толстой кишки [1-5].

Псевдомембранозный колит — колит, как правило, вызванный токсигенной *Clostridium (Clostridioides) difficile*, характерным признаком служат фибриновые наложения на слизистой оболочке толстой кишки [6; 7, 8].

Краткая информация

1.1 Определение

Clostridium difficile-ассоциированная инфекция (CDI) — заболевание, развивающееся при нарушении кишечного микробиома с избыточной колонизацией *Clostridium (Clostridioides) difficile*, токсины которой вызывают воспаление и повреждение слизистой оболочки толстой кишки.

Псевдомембранозный колит — колит, как правило, вызванный токсигенной *C. difficile*, характерным признаком служат фибриновые наложения на слизистой оболочке толстой кишки [6; 7;8].

1.2. Этиология и патогенез

Clostridium difficile-ассоциированная инфекция — заболевание, развивающееся при нарушении кишечного микробиома с избыточной колонизацией *Clostridium (Clostridioides) difficile*, токсины которой вызывают воспаление и повреждение толстой кишки [1-4, 9]. Псевдомембранозный колит, как правило, вызывается токсигенной *Clostridium (Clostridioides) difficile*; его характерным признаком служат фибриновые наложения на слизистой оболочке толстой кишки [6, 9, 10]. Заселение кишечника и пролиферация токсигенных штаммов *Clostridium (Clostridioides) difficile* обуславливает развитие CDI, одной из основных причин нозокомиальной диареи. Патогенез CDI обусловлен нерациональным и бесконтрольным применением антибактериальных препаратов, хирургическими вмешательствами, приёмом препаратов, вызывающих иммунодепрессию, биологическими свойствами самого возбудителя. Ведущими факторами патогенности *C. difficile* являются экзотоксины А (TcdA), В (TcdB) и бинарный токсин. TcdA и TcdB — энтеротоксины, действующие на энтероциты кишечника, нарушающие актиновый цитоскелет, что приводит к воспалению и некрозу слизистой оболочки, потере плотных контактов между клетками и увеличение эпителиальной проницаемости. Бинарный токсин *C. difficile* риботипа NAP1/BI/027 образует на мембране

энтероцита комплекс, который проникает в цитоплазму, нарушает функционирование клетки посредством дезорганизации цитоскелета и ведёт к её гибели [9, 10], а также усиливает адгезию и колонизацию *C. difficile* [11, 12, 13].

При отсутствии рациональной антибактериальной терапии, направленной на иррадикацию токсигенных штаммов *C. difficile*, CDI может прогрессировать и вызывать обширные воспалительные изменения в стенке толстой кишки, характеризующиеся поверхностным некрозом слизистой оболочки с образованием «псевдомембран» (экссудативных бляшек) в некоторых случаях может сопровождаться токсическим мегаколон, перфорацией стенки кишки, сепсисом.

1.3. Эпидемиология

Во многих странах ведется мониторинг распространённости CDI [7]. В США из 500 млн. пациентов, обращавшихся в систему неотложной медицинской помощи с 2006 по 2010 год, у 500 тыс. человек установлен диагноз CDI [14, 15, 17]. За этот же период в США отмечено увеличение заболеваемости CDI на 24%, с 34,1 до 42,3 случаев на 100 тыс. населения ($p < 0,01$). Высокий уровень заболеваемости CDI (163,18 случаев на 100 тыс. населения) характерен преимущественно для пациентов старше 65 лет [16, 17, 18, 19, 20].

С 2003 года в Северной Америке и Европе рост заболеваемости CDI, связывают с появлением высоковирулентного токсигенного штамма - ПЦР риботипа NAP1/027, характеризующегося продукцией белковых токсинов TcdA, TcdB и бинарного токсина. Появление данного штамма обусловлено мутацией со сдвигом рамки считывания в негативном регуляторе гена кодирующего токсинообразование, что клинически проявляется развитием тяжёлой диареи и сопровождается высокой летальностью [18, 22]. В 2013 году в Великобритании (население 64,1 млн. человек) от CDI умерло 3 тыс. человек, в США (население 316,5 млн человек) – 20 тыс. [18, 21, 23, 24].

Расходы на лечение пациентов с CDI составляют более 13 тыс. USD на одного пациента, заболевшего впервые и более 28 тыс. USD на 1 пациента с рецидивирующей CDI [14]. Расходы на лечение и профилактику CDI в США в 2006 году превысили 3,2 млрд. USD [16; 18, 25].

Среди здорового населения широко распространено носительство токсигенных штаммов *C. difficile*. Доля носителей составляет до 15% здоровых взрослых, 84% новорожденных, 57% пожилых людей в домах престарелых [8, 24]. Распространение *C. difficile* в популяции и окружающей среде обусловлено биологическими особенностями возбудителя, защищающими его от оксидативного шока, химических и физических факторов [15; 23; 24, 26].

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

В мире разработан ряд подходов к лабораторной диагностике CDI [23, 27, 31]. Американское и Европейское общества микробиологов рекомендуют двухэтапный подход, включающий скрининговый тест на обнаружение глутаматдегидрогеназы (ГДГ) и определение экзотоксинов TcdA и TcdB серологическим методом [8, 28]. Опробован трёхэтапный алгоритм лабораторной диагностики CDI [29, 30, 31, 32], включающий индикацию ГДГ в пробах фекалий в иммуноферментном анализе (ИФА), с последующей изоляцией копрокультур *C. difficile* из положительных образцов. Культуральный метод позволяет определять чувствительность *C. difficile* к антимикробным препаратам и типировать возбудитель.

1.4. Кодирование по МКБ 10

A04.7 – Энтероколит, вызванный *Clostridium difficile*;

K59.3 – Мегаколон, не классифицированный в других рубриках;

K52.8.0 – Колит псевдомембранозный.

1.5. Классификация

Выделяют лёгкую, среднетяжёлую и тяжёлую форму CDI.

Лёгкая 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 лёгкой формы у пациента с сопутствующими заболеваниями, особенно в послеоперационном периоде, CDI может значительно ухудшить состояние и прогноз на выздоровление.

Среднетяжёлая форма CDI характеризуется развитием диареи, повышением температуры тела до 38⁰ С. Создается впечатление, что данная форма заболевания выделена искусственно, ввиду отсутствия чётких критериев, позволяющих её отличить от лёгкой и тяжёлой форм.

Тяжёлая форма клостридиальной инфекции помимо диареи проявляется болями в животе спастического характера, развитием лихорадки вплоть до гектических значений, лейкоцитоза, гипоальбуминемии. Отсутствие диареи у данной группы больных может свидетельствовать о развитии молниеносной формы CDI. Необходимо помнить, что при увеличении уровня в крови лейкоцитов более 15×10⁹ кл/л, повышении уровня креатинина в сыворотке крови выше 115 мкмоль/л, подъёме температуры тела выше 38,8⁰ С и

снижении уровня альбумина менее 25 г/л пациенты должны получать лечение в условиях отделения интенсивной терапии.

Главным проявлением заболевания является развитие диарейного синдрома, поэтому значительные изменения наблюдаются в водно-электролитном обмене. Для установления тяжести заболевания правильнее всего ориентироваться на степень выраженности эксикоза по В. И. Покровскому. Ослабленному пациенту после хирургического лечения, на фоне хронических соматических заболеваний, даже небольшое количество потерь кишечного отделяемого, выше физиологической нормы, может привести к нарушению гомеостаза системы человек-микроорганизм.

Диагностика

2.1. Жалобы и анамнез

Чаще всего пациенты предъявляют жалобы на жидкий стул более 3 раз в сутки либо увеличение количества кишечного отделяемого по илеостоме более 1000 мл/сутки или по колостоме более 500 мл/сутки, повышение температуры тела до 39⁰С, метеоризм, редко на тошноту, рвоту, боли в животе спастического характера. Анамнестически у пациентов до развития клинической симптоматики может быть перенесенное хирургическое лечение, применение антибактериальных препаратов, ингибиторов протонной помпы, H₂-блокаторов, противоопухолевых препаратов, наличие воспалительных заболеваний кишечника, сахарного диабета, хронических болезней почек и т.д. При лабораторных исследованиях: анемия, гипопротеинемия, гипоальбуминемия, гипокалиемия, повышение уровня С-реактивного белка, редко увеличение концентрации креатинина. При колоноскопии слизистая оболочка толстой кишки розового цвета, с гладкой, блестящей поверхностью, покрыта множественными до 0,3-1 см в диаметре, фибринозными бляшками. При ультразвуковом исследовании отмечается усиленная перистальтика тонкой кишки и утолщение стенки толстой кишки. При компьютерной томографии органов брюшной полости стенка поражённого отдела кишечника утолщена, в случае развития токсического мегаколон резко увеличен диаметр кишки, стенка при этом истончена. Могут наблюдаться увеличенные лимфатические узлы брыжейки

Уровень убедительности рекомендаций А (уровень достоверности доказательств – Ib) [23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 33]

2.2. Физикальное обследование

При осмотре: живот симметричный

При пальпации мягкий, умеренно болезненный во всех отделах

При перкуссии: тимпанит

При колоноскопии; слизистая оболочка кишки розового цвета, с гладкой, блестящей поверхностью, покрыта множественными до 0,3-1 см в диаметре, фибринозными бляшками.

При ультразвуковом исследовании отмечается усиленная перистальтика тонкой кишки и утолщение стенки толстой кишки.

При компьютерной томографии органов брюшной полости стенка поражённого отдела кишечника утолщена, в случае развития токсического мегаколон резко увеличен диаметр кишки, стенка при этом истончена. Могут наблюдаться увеличенные лимфатические узлы брыжейки.

2.4. Лабораторная диагностика

2.4.1. Тест-системы для диагностики CDI

Для проведения экспресс-диагностики в лаборатории проводят определения ГДГ и токсинов А и В в просветных фекалиях иммунологическими методами.

- Диагностический экспресс-тест для качественного определения антигенов *C. difficile*: ГДГ, токсинов А и В. – метод иммунохроматографического анализа (ИХА).
- Диагностические тест-наборы для определения антигенов *C. difficile*: ГДГ, токсинов А и В. – метод ИФА.
- Диагностические тест-наборы для определения антигенов *C. difficile*: ГДГ, токсинов А и В. – иммунохемилюминесцентный анализ.
- Тесты для выявления ГДГ, токсинов А и В, бинарного токсина – ПЦР, в том числе мультиплексная.

Уровень убедительности рекомендаций А, (уровень достоверности доказательств – Ib) [12, 28, 30, 34, 35, 36, 37].

2.4.2. Питательные среды для культивирования *Clostridium difficile*

Выбор питательных сред, условий и сроков культивирования определяется биологическими свойствами *C. difficile*, выбор методики исследования остается за бактериологом.

Уровень убедительности рекомендаций А (уровень достоверности доказательств – Ib) [3, 8, 28, 31, 35, 37].

2.4.3. Идентификация чистой культуры *C. difficile*.

Для культивирования *C. difficile* и определения её чувствительности к антибактериальным препаратам, применяются оптимальные питательные среды и условия.

Для определения чувствительности *C. difficile* к антибактериальным препаратам

используется метод серийных разведений в агаре или бульоне и коммерческие тест-системы, основанные на определении минимальной подавляющей концентрации (МПК), возможно использование Е-тестов для определения МПК на питательной среде «Агар Уилкинса-Чалдрена» (Wilkins Chalgren Agar). При использовании коммерческих систем для определения МПК необходимо следовать инструкциям производителя. Критерии интерпретации диско-диффузионного метода не установлены. Определение чувствительности к антибактериальным препаратам *C. difficile* должно проводиться в анаэробных условиях.

Уровень убедительности рекомендаций А (уровень достоверности доказательств – Ib) [3, 8, 30, 32, 33, 37, 38, 39, 40].

2.4.4. Материал для исследования

Преаналитический этап определяет правильный выбор, отбор, хранение и использование биологического материала. Материал должен соответствовать конкретной нозологии заболевания, содержать максимальное количество возбудителя, быть доступным для получения не инвазивными методами.

Материалом для диагностики CDI являются образцы свежих просветных фекалий. Минимальное количество материала, необходимого для трёхэтапной диагностики составляет 10 мл/г просветных фекалий. Предпочтительно исследовать водянистые испражнения в количестве 10-15 мл. Исследование просветных фекалий необходимо осуществлять у пациентов с диареей. Для эпидемиологического исследования по установлению распространённости токсигенных *C. difficile* в той или иной популяции в качестве биоматериала для исследования можно использовать оформленный стул. При клинической картине непроходимости и подозрении на наличие токсигенных *C. difficile* можно исследовать мазки, взятые со слизистой оболочки толстой кишки. Допускается исследование содержимого просвета или биоптата слизистой оболочки, полученные при эндоскопическом исследовании или во время операции. **Уровень убедительности рекомендаций С (уровень достоверности доказательств – IV) [5, 8, 32, 33, 35, 38, 39, 40]**

Взятие, хранение, транспортировка биологического материала

Просветные фекалии забираются в одноразовый стерильный контейнер. Адекватное количество возбудителя для бактериологического исследования сохраняется в испражнениях при температуре +4-5⁰С в течении двух суток. Для более длительного хранения образцы кала замораживаются при -70⁰С. Замораживание даже при -20⁰С снижает цитотоксическую активность. Образцы для проведения латекс-агглютинации

замораживаться не должны.

Уровень убедительности рекомендаций В (уровень достоверности доказательств – II) [8, 33, 39, 40].

Маркировка материала для лабораторного исследования

На этикетке контейнеров с материалом указывается: Ф.И.О., возраст пациента, тип биоматериала. В направлении необходимо указать: наименование учреждения/отделения, которое направляет биоматериал на исследования, Ф.И.О. обследуемого лица; возраст или дата рождения; пол; дату взятия биоматериала для лабораторного исследования; дату заболевания; предварительный клинический диагноз или повод к обследованию; степень тяжести заболевания; данные о применении антибактериальных препаратов (наименование и длительность приёма); Ф.И.О., должность, медицинского работника, отправившего биоматериал, дату отправки биоматериала и контактный телефон, по которому можно связаться с данным медицинским работником.

Транспортировка биологического материала

При транспортировке внутри одного здания, контейнеры с биологическим материалом помещают в штативы и специальные герметичные контейнеры-переноски. При длительной транспортировке образцы помещают в индивидуальный герметичный пакет с адсорбирующим материалом, упаковывают в общий герметичный пакет, и помещают в термоконтейнер. Транспортировка производится при температуре от +2⁰С до +8⁰С. Сопроводительные документы помещаются в индивидуальную упаковку отдельно от биологического материала и прочно прикрепляются снаружи контейнера. Полученные образцы транспортируются в герметичных пластиковых или стеклянных стерильных контейнерах. Транспортировка в лабораторию при комнатной температуре допускается не более двух часов. При невозможности быстрой транспортировки образцы должны быть помещены в транспортные среды для анаэробов.

Уровень убедительности рекомендаций В (уровень достоверности доказательств – II) [8, 13, 29, 33, 39, 40].

Оценка пригодности образцов

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

Непригодными для исследования являются образцы:

- немаркированные или несущие неверную/нечитаемую маркировку;
- без даты получения материала;
- хранившиеся и транспортировавшиеся с нарушением установленных требований для биологического материала;
- с нарушением целостности и/или герметичности контейнеров.

В случае непригодности доставленного образца необходимо уведомить врача, назначившего исследование, и рекомендовать повторное взятие материала с соблюдением всех перечисленных правил.

Уровень убедительности рекомендаций C (уровень достоверности доказательств – IV) [27, 28].

2.4.5. Диагностика CDI

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

Уровень убедительности рекомендаций A (уровень достоверности доказательств – Ib) [7, 8, 24, 25, 26, 28,32]

Для диагностики CDI используется ряд лабораторных тестов. В большинстве случаев используются тесты для определения токсинов непосредственно в образцах просветных фекалий (таблица 1).

Таблица 1

Эффективность различных тестов для лабораторной диагностики CDI

Тест	Цель исследования	Чувствительность, %	Специфичность, %	Время исследования	Примечание
Бактериологический метод	Выделение токсигенной культуры, определение антибиотикограммы	89-100	84-99	48-72 часа	Высокая чувствительность и специфичность, можно определять резистентность к антибактериальным препаратам. Трудность культивирования, необходимость использования специального оборудования
ЦПД в	Токсин В	67-100	85-100	28-48	Рекомендуется

культура клеток				часов	использовать в сочетании с культуральным методом. Возможно полуколичественное определение путём титрования проб
РН токсина (на культуру клеток)	Токсин В	67-80	85-90	28-48 часов	Хорошая чувствительность и специфичность. Целесообразно использовать в сочетании с ЦПД
РАЛ	ГДГ	58-92	80-96	30 минут	Низкая чувствительность и специфичность. Применяется только для экспресс-диагностики
ИФА	ГДГ, токсины А и В	63-99	75-100	2-4 часа	Скринговый тест
ИХА	ГДГ, токсины А и В	93	75	15 минут	Скринговый тест
ПЦР	Ген токсина А, В, бинарного	95-98	99	2-4 часа	Хорошая чувствительность и специфичность, возможно определение бинарного токсина

Ни один из лабораторных тестов не может быть использован в качестве самостоятельного метода диагностики CDI.

Уровень убедительности рекомендаций С (уровень достоверности доказательств – III) [24, 25, 28, 32, 33, 37, 39, 40, 41].

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

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

Серологический метод

Метод индикации ГДГ и токсинов А/В в образцах просветных фекалий посредством ИХА и ИФА позволяет получить быстрый ответ, но у каждой реакции есть свои достоинства и недостатки. ИФА обладает высокой специфичностью (до 95%), при

низкой чувствительности (70-80%), обусловленной большим количеством ложноотрицательных результатов. ИХА при низкой специфичности показывает более высокую чувствительность по сравнению с ИФА. **Уровень убедительности рекомендаций А (уровень достоверности доказательств – Ib) [8, 24, 25, 26, 28, 30, 33, 36, 37, 41, 42, 43].**

Определение ГДГ *C. difficile* в образцах просветных фекалий

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

Уровень убедительности рекомендаций А (уровень достоверности доказательств – Ib) [8, 24, 31, 32, 34, 40].

Латекс-агглютинация

Первым доступным коммерческим тестом для диагностики CDI была реакция агглютинации латексов (РАЛ). В основе РАЛ лежит связывание токсина А *C. difficile*, который присутствует в кале, со специфическими антителами (АТ), фиксированными на частицах латекса. РАЛ имеет низкую стоимость, проста в применении, результаты исследования оцениваются через 30 минут. Положительная реакция наблюдается как с токсигенными, так и с не токсигенными штаммами *C. difficile*, а также некоторыми другими микроорганизмами вследствие того, что, антиген (АГ), распознаваемый РАЛ - ГДГ, присутствует у микроорганизмов многих других видов клостридий [8, 41].

Принцип ИХА

ИХА относится к реакциям с мечеными антителами (АТ), специфическими к искомому антигену (АГ). Исследуемый материал в небольшом количестве (5-7 капель) суспензируется в экстрагенте и вносится в стартовое окно тест-системы. Происходит взаимодействие антигена с антителами, адсорбированными на частицах, начинается движение образовавшихся иммунных комплексов за счёт капиллярности носителя. Дойдя до АТ, расположенных на носителе в окне учёта результата, иммунные комплексы

связываются, при этом частицы латекса или коллоидного золота проявляются в виде линии голубого, зелёного или коричневого цвета. Поскольку частицы, нагруженные АТ, берутся в избытке, часть их движется дальше и связывается в окне (окнах) внутреннего контроля реакции. Полоса в этом окне свидетельствует о правильной работе тест-системы (рис. 1). По чувствительности ИХ-системы уступают другим методам иммуноанализа, что позволяет применять их лишь в качестве скринингового теста **Уровень убедительности рекомендаций А (уровень достоверности доказательств – Ib) [8, 20, 22, 27, 28, 29, 30, 34, 39, 40].**



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

Принцип ИФА

ИФА основан на специфическом распознавании и взаимодействии АГ и АТ. Процесс образования иммунных комплексов носит равновесный характер и зависит от аффинности компонентов, их концентрации и других условий реакции. Для оценки их количества возможно прямое определение концентрации образующихся иммунных комплексов либо измерение оставшихся свободными мест специфического связывания. Второй общей стадией ИФА является формирование связи меченного ферментом соединения со специфическим комплексом или свободными центрами связывания. Заключительным обязательным процессом в ИФА является трансформация ферментной метки в соответствующий сигнал, измеряемый каким-либо физико-химическим методом (спектрофотометрическим, флуориметрическим и т. д.), что достигается путём измерения скорости превращения субстрата или количества продукта, образующегося за фиксированный промежуток времени. Достоинства ИФА высокая чувствительность, позволяющая детектировать до 10 пг/мл АГ, стандартность, воспроизводимость; возможность использовать минимальные объёмы исследуемого материала; стабильность при хранении всех ингредиентов, необходимых для проведения ИФА (срок годности составляет год и более); простота проведения реакции; наличие как инструментального (в

качественном и количественном варианте), так и визуального учёта; возможность автоматизации всех этапов ИФА (автоматические ИФА-анализаторы не вилирующие человеческий фактор при интерпретации результатов); относительно низкая стоимость диагностических наборов и оборудования.

Определение токсинов *Clostridium difficile* в образцах просветных фекалий

Определение ГДГ в образцах просветных фекалиях не позволяет судить о токсигенности *C. difficile*. Токсины А/В в стуле больных определяют посредством ИФА и/или ИХА, культуральным методом, с последующим определением токсигенности чистой культуры *C. difficile* в ПЦР или биологическим методом на культуре клеток по цитопатическому действию (ЦПД).

Уровень убедительности рекомендаций А (уровень достоверности доказательств – Ib) [8, 13, 20, 22, 27, 29, 30, 32,34, 40, 41, 42].

ИФА для детекции токсинов быстр, не трудоёмок по сравнению с бактериологическим методом, но имеет низкую чувствительность. Чувствительность ИФА составляет 75-95%, специфичность 83-98%. Индикация токсинов *C. difficile* в образцах кала в ИФА получило широкое распространение. Коммерческие ИФА тест-системы хотя несколько различаются по чувствительности и специфичности, обладают высокой сходимостью результатов [8, 35, 36, 37, 38, 39].

За рубежом разработан двухэтапный алгоритм позволяющий исключить наличие *C. difficile* без дополнительных исследований и отказаться от культурального метода в 92% случаях [8, 40]. Данный алгоритм не позволяет определить чувствительность *C. difficile* к антибактериальным препаратам. Для детекции токсинов А и В *C. difficile* используется ИФА [40, 41, 42, 43], которые позволяют определять токсин А, либо токсин В или оба токсина. Предпочтительнее использовать тест-системы, одновременно детектирующие оба токсина. Встречаются токсигенные штаммы *C. difficile*, вызывающие заболевания и продуцирующие токсин А, который не детектируется серологическим методом. Такие штаммы имеют мутацию гена *tcdA* в 139-й позиции [37, 43]. **Уровень убедительности рекомендаций А (уровень достоверности доказательств – Ib) [8, 41, 37, 44, 45].**

Бактериологический метод

Необходим для лабораторной диагностики CDI, основан на выделении токсигенной культуры и определении её цитотоксичности в реакции нейтрализации (РН) на культуре клеток. Чувствительность и специфичность метода превышает 97%. Метод позволяет идентифицировать возбудитель, определить его токсигенность, чувствительность к антибактериальным препаратам. Бактериологический метод исследования используется

для диагностики CDI и при проведении эпидемиологического надзора.

Уровень убедительности рекомендаций А (уровень достоверности доказательств – Ib) [8, 28, 37, 41, 42, 43, 45].

C. difficile – грамположительная спорообразующая палочка. По типу дыхания облигатный анаэроб. Впервые выделена в 1935 году Hall I. C. и O'Toole E. из фекалий здоровых новорожденных. В 1970 году Bartlett J. связал наличие этого возбудителя с возникновением колита, развившегося после применения клиндамицина [4, 9]. Изначально микроорганизм назван *Bacillus difficilis* на основании морфологии и трудности культивирования [8, 39, 46, 47, 48].

Рекомендуется для выделения *C. difficile* использовать питательные среды:

- Бруцелла агар с цефокситином, циклоспорином и фруктозой;
- Циклосерин-цефокситин-фруктозный агар (CCFA) – селективная и диагностическая среда для *Clostridium difficile*;
- Циклосеринманнитовый агар (CMA) – селективная среда для *Clostridium difficile*;
- Циклосеринманнитовый кровяной агар (CMBA) – селективная среда для *Clostridium difficile*;
- Агар Шедлера с 7% бараньей дефибринированной кровью (Schaedlers agar);
- Бруцелла-агар с 7% бараньей дефибринированной кровью;
- Сердечно-мозговая плотная среда с 7% бараньей дефибринированной кровью;
- Усиленный агар для клостридий с 7% бараньей дефибринированной кровью;
- Колумбийский агар с 7% бараньей дефибринированной кровью;
- Тиогликолевая среда.

Образцы просветных фекалий засеваются на питательные среды, которые используют в лаборатории для выделения *Clostridium difficile*, инкубируют в условиях строго анаэробноза при температуре 35-37⁰С в течение 24-48 часов согласно стандартным лабораторным методам. *C. difficile* на среде CCFA образует бело-жёлтые колонии диаметром 2-4 мм, плоские, округлой или неправильной формы, с неровным или ризоидным краем, матовые. Рост сопровождается появлением характерного запаха, подобного запаху р-крезола или лошадиного помета. Использование для выделения возбудителя других питательных сред, не имеет преимуществ перед CCFA.

Идентификация *C. difficile* проводится на основании культуральных, морфологических и тинкториальных, ферментативных, антигенных свойств. Определяют специфические рибосомальные белки с помощью десорбционного метода «мягкой»

ионизации, обусловленной воздействием импульсами лазерного излучения на матрицу с анализируемым веществом (бактериальных белков) на основе технологии матрично-активированной лазерной десорбция/ионизации времяпролетной масс-спектрометрии (Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization Time of Flight – MALDI-TOF MS), полимеразной цепной реакции (ПЦР) и/или продукты метаболизма (жирные кислоты) методом газо-жидкостной хроматографии (ГЖХ).

Уровень убедительности рекомендаций А (уровень достоверности доказательств – Ib) [5, 8, 37, 41, 43, 44, 46, 47, 48].

Изоляты *C. difficile* должны тестироваться на токсигенность *in vitro*. Для этого отбирают 4-6 колоний, которые культивируют в сердечно-мозговом бульоне в анаэробных условиях при температуре 35-37⁰ С в течении 24 час. Фильтраты суточной бульонной культуры тестируют на наличие токсина по ЦПД в культуре клеток, либо определяют ген токсина А, В или бинарного в ПЦР. Описаны штаммы *C. difficile* не вызывающие ЦПД в культуре клеток, продуцирующие токсин *in vitro*, хотя его титр у таких штаммов ниже, чем у штаммов, вызывающих ЦПД, что может объяснить расхождение между клиническими и лабораторными данными.

Изоляты *C. difficile* должны тестироваться на присутствие генов токсина А и В (*tcdA* и *tcdB*) с помощью различных методов, в том числе мультиплексной ПЦР при этом используется суспензия от 5 до 10 колоний.

Несмотря на длительность исследования (продолжительность 2-3 суток) бактериологический метод является надёжным методом лабораторной диагностики. Многие лаборатории в России не имеют оборудования для работы с облигатными анаэробами. Это ведёт к некорректной диагностике, отсутствию мониторинга за антибактериальной резистентностью изолированных токсигенных штаммов и эпидемического надзора. Недостатком бактериологического метода диагностики является его трудоёмкость, необходимость наличия специальных навыков работы с культурой и оборудования для анаэробной бактериологии. Выделение токсигенной культуры *C. difficile* возможно только в хорошо оснащённых лабораториях, имеющих высококвалифицированный персонал и анаэробную бактериологическую технику. У выделенных штаммов необходимо определять резистентность к антимикробным препаратам, спектр которых для лечения тяжёлой CDI ограничен. **Уровень убедительности рекомендаций В (уровень достоверности доказательств – II) [8, 28, 37, 41, 43, 44, 45, 47].**

Штаммы *C. difficile* резистентные к ванкомицину и метронидазолу всё ещё

сохраняют чувствительность к тайгеклину. Большинство изолятов *C. difficile* резистентны к цефалоспорином, 83,3% к клиндамицину, 66,7% к хлорамфениколу, 19% штаммов к метронидазолу, 6% к ванкомицину.

Молекулярно-генетический метод диагностики CDI

Молекулярные методы позволяют детектировать присутствие генома *C. difficile* и его репликацию. К ним относятся: ПЦР, риботипирование, гель-электрофорез в пульсирующем поле, мультилокусный анализ и определение мультилокусной последовательности [49]. ПЦР – перспективный метод для диагностики CDI. Для детекции токсигенных штаммов *C. difficile* используется амплификация специфических участков генома возбудителя, кодирующих токсин А и/или В или бинарный токсин. Разработана методика, позволяющая амплифицировать специфический для *C. difficile* участок гена, кодирующий токсин А и не имеющий перекрестной реакции с фрагментом ДНК токсигенных штаммов *C. sordellii* [50, 51, 52]. В ПЦР определяется токсигенность *C. difficile* и наличие других факторов патогенности. ПЦР анализ просветных фекалий используется для определения источника возбудителя CDI [51, 52, 53, 54].

Уровень убедительности рекомендаций В (уровень достоверности доказательств – II) [8, 37, 49, 50, 51, 52, 53, 54].

Известны различные модификации ПЦР, обладающие высокой чувствительностью - 95,5% и специфичностью - 99,0%. Корреляции между положительной детекцией и выделением токсигенного штамма *C. difficile* составляет 98,5% [53, 54, 55, 56].

Применение антибактериальных препаратов способствует селекции штаммов резистентных микроорганизмов. Это лежит в основе появления бактерий с множественной лекарственной устойчивостью. Популяция *C. difficile* синтезирует токсин-индуцирующий мессенджер, относящийся к группе тиолактона (ТЛ), который накапливается во внеклеточной среде. При достижении популяцией *C. difficile* определённой плотности активируется двухкомпонентная система AgrC2A2. В результате этого усиливается транскрипция генов, кодирующих токсины. Детекция ТЛ методом ПЦР в образцах стула у пациентов с CDI показывает, что этот процесс, играет ключевую роль в патогенезе клостридиального колита.

Резистентность к антибиотикам вызывает растущее беспокойство во врачебной среде, поскольку появляется много панрезистентных бактериальных штаммов, что затрудняет лечение, повышает смертность и расходы. Выпускаются коммерческие наборы для оценки резистентности *C. difficile* к антибиотикам. Детекция генов антибиотикорезистентности важна для диагностики и лечения CDI.

Уровень убедительности рекомендаций А (уровень достоверности доказательств – Ib) [8, 25, 30, 54, 55, 56].

Принцип метода ПЦР

Принцип ПЦР – многократное увеличение числа копий (амплификация) специфического фрагмента ДНК, катализируемое ферментом ДНК-полимеразой. ПЦР происходит в буферном растворе с участием термостабильной ДНК-полимеразы, четырёх типов нуклеотидов, двух синтетических олигонуклеотидных праймеров, каждый из которых комплементарен специфическому для выявляемого микроорганизма участку одной из цепей ДНК. ПЦР включает три циклически повторяющихся этапа: разделение (денатурацию) двуцепочечной молекулы ДНК на одиночные цепи; гибридизацию (отжиг) праймеров со специфическими участками своих цепей; полимеризацию - синтез ДНК-полимеразой новых цепей с присоединившихся праймеров и появлением новых двуцепочечных молекул ДНК. ПЦР проводится в программируемых термоциклерах (амплификаторах). В результате повторяющихся 30-45 циклов амплификации концентрация специфических фрагментов экспоненциально увеличивается и достигает 10^9 - 10^{11} копий. Детекция продуктов амплификации осуществляется одним из способов. При электрофоретическом способе детекции продукты ПЦР анализируются электрофорезом в агарозном геле. В лунки агарозного геля, помещённого в камеру с буферным раствором и интеркалирующим красителем, вносится аликвота продукта ПЦР. Электроды камеры подключаются к источнику постоянного тока, в поле которого в геле молекулы ДНК, заряженные отрицательно, движутся в направлении анода. Скорость движения зависит от длины фрагмента ДНК. Наличие специфического продукта ПЦР в исследуемых образцах определяется по наличию флуоресцирующей полосы, расположенной в геле на одном уровне с продуктом амплификации положительного контрольного образца (КО), содержащего нативный, либо рекомбинантный препарат ДНК выявляемого микроорганизма. Гибридизационно-флуоресцентная детекция продуктов амплификации ПЦР проводится в присутствии олигонуклеотидных ДНК-зондов, комплементарных специфическому участку ДНК микроорганизма, расположенному между праймерами. Зонды содержат флуоресцентную метку и тушитель флуоресценции, которые при накоплении специфического продукта амплификации и гибридизации зонда обеспечивают появление и накопление флуоресцентного сигнала заданной длины волны. Использование флуоресцентных меток с разной длиной волны испускания сигнала в составе гибридизационных зондов и нескольких пар праймеров, каждая из которых

направлена на амплификацию своего специфического фрагмента, позволяет проводить в одной реакции амплификацию фрагментов ДНК одновременно нескольких микроорганизмов (мультиплексная ПЦР). В этом случае регистрация сигнала флуоресценции происходит по одному из нескольких каналов детекции. Существует два способа регистрации флуоресцентного сигнала – «по конечной точке» (ПЦР-КТ) или в «режиме реального времени» (ПЦР-РВ). В случае ПЦР-КТ регистрация флуоресцентного сигнала осуществляется после окончания реакции в флуоресцентном ПЦР-детекторе. Результаты ПЦР-КТ интерпретируются автоматически с помощью программного обеспечения прибора на основании отношения уровня флуоресцентного сигнала в исследуемом образце и уровнем фонового сигнала, в образце, не содержащем препарат ДНК. В случае ПЦР-РВ регистрация флуоресцентного сигнала(-ов) осуществляется в процессе реакции, после каждого цикла амплификации. Используются амплификаторы, имеющие модуль для регистрации флуоресцентного сигнала в режиме реального времени. При проведении мультиплексной ПЦР-РВ регистрация сигнала осуществляется по каждому из каналов детекции в соответствии с количеством выявляемых мишеней и длиной волны флуоресцентной метки. Появляющаяся в этом случае кривая, описывающая накопление флуоресцентного сигнала(-ов) отражает накопление специфических продуктов ДНК возбудителей. Результаты ПЦР-РВ анализируют на основании наличия/отсутствия кривой флуоресцентного сигнала, пересекающей линию порога базовой флуоресценции с определением значения порогового цикла (Ct-цикла), при котором это пересечение происходит.

Стандартная операционная процедура (СОП) молекулярно-биологической детекции ДНК методом ПЦР; выделения и очистки нуклеиновых кислот

Биологический материал содержит вещества, ингибирующие ПЦР, ДНК, РНК находятся внутри клеток микроорганизмов, поэтому первым этапом ПЦР является получение нуклеиновых кислот (НК), очищенных от ингибиторов ПЦР. Существует две группы методов очистки НК – методы сорбционной экстракции НК и методы термической обработки биоматериала. В основе методов сорбционной экстракции лежит лизис и денатурация компонентов биологического материала с помощью хаотропных агентов - высоко концентрированных растворов солей (гуанидин хлорид, гуанидин изоцианат) с одновременной избирательной сорбцией НК на твёрдой фазе (частицах силикагеля, нейлоновых или нитроцеллюлозных мембранах). Отмывкой в спирте ингибиторы удаляются, а НК снимаются с твёрдофазных носителей путём растворения их в воде или низкосолевого буфере. Данные методы очистки высокоэффективны, как в отношении

ДНК, так и РНК. За счёт высокой воспроизводимости результатов экстракции возможна количественная оценка содержания ДНК возбудителей в биологическом материале. Для наборов реагентов, включающих в составе сорбентов магнитные частицы или нитроцеллюлозные (нейлоновые) мембраны в составе микроколонок, разработаны автоматизированные варианты экстракции с использованием автоматизированных станций. При термической обработке биоматериала проводится нагревание и инкубация (от 5 до 15 мин) образцов биологического материала при температурах от 95⁰ до 100⁰ С, в присутствии детергентов. В результате этого происходит разрушение мембран клеток, выход НК в раствор и инактивации (иногда обратимая и частичная) ингибиторов. Так как ингибиторы не удаляются из раствора, а некоторые из них, в первую очередь РНК-азы, устойчивы к нагреванию, данный способ не может использоваться для очистки и экстракции РНК. Данные методы относятся к экспресс-методам экстракции, поскольку просты в исполнении и позволяют за короткое время обработать большое количество образцов. В связи с тем, что количество не инактивированных ингибиторов может значительно варьировать от образца к образцу, эффективность очистки ДНК такими методами трудно стандартизовать, поэтому их не рекомендуется использовать в тех случаях, когда необходима количественная оценка содержания ДНК в биологическом материале. Препараты ДНК, полученные при сорбционной экстракции, можно хранить в течение 1 недели при температуре от 2⁰ С до 8⁰С или в течение года при температуре -20⁰ С. Препараты ДНК, полученные с помощью термической обработки следует хранить при температуре не выше -16⁰С. Для более длительного хранения образцы ДНК замораживают и хранят при -60⁰С.

Требования к выделению и очистке НК

При работах по выделению и очистке НК из биологического материала на всех этапах необходимо использовать расходные материалы (пластиковые пробирки, наконечники с фильтрами) только с маркировкой «DNase, RNase- free» («свободные от ДНК-аз, РНК-аз»). Очистку и выделения нуклеиновых кислот необходимо проводить с использованием КО. Внутренний КО - образец, содержащий рекомбинантный препарат НК в зависимости от типа исследуемой НК микроорганизма и особенностей методики. Внутренний КО добавляется в каждую пробу на этапе выделения НК, и проходит все этапы ПЦР в составе биологического образца. КО служит для контроля потерь НК в процессе пробоподготовки, качества очистки ДНК/РНК от ингибиторов реакции амплификации.

Отрицательный КО – образец, заведомо не содержащий искомым возбудитель или

его НК. Служит для контроля возможной контаминации во время выделения и очистки НК, при приготовлении амплификационных смесей.

Мультиплексные решения для диагностики CDI

Лабораторная диагностика CDI базируется на одном из методов микробиологической диагностики: микроскопическом, серологическом (определение ГДГ и токсинов в стуле пациента), культуральном (выделение токсигенной культуры), молекулярно-биологическом (ПЦР). Эти методы показали хорошую производительность и ряд недостатков: низкую чувствительность и специфичность, трудоёмкость, времязатратность. Их выбор осуществляется врачом-бактериологом. В обзоре Binnicker M.J. (2015 г.) сравнивается использование трёх коммерческих мультиплексных панелей (FilmArray GI панель [BioFire Диагностика, США], Luminex xTag GI патоген панель [GPP] [Luminex Corporation, Канада], Nanosphere Verigene кишечно-патоген [EP] тест [Nanosphere, Inc., США]), которые одобрены FDA для детекции возбудителей желудочно-кишечных заболеваний из клинических образцов стула. Каждая из мультиплексных панелей для диагностики CDI утверждена FDA в качестве дополнительного средства диагностики, их использование при скрининге у бессимптомных пациентов не утверждены и требуют дальнейшего изучения [52, 53].

Несмотря на увеличение скорости исследования, удобства использования ПЦР, культуральный метод диагностики остаётся необходимым для определения чувствительности возбудителя к противомикробным препаратам и эпидемиологического надзора за CDI.

Заключение

Важной, до сих пор нерешённой проблемой, является отсутствие в Российской Федерации единого подхода к лабораторной микробиологической диагностике CDI, что приводит к запаздыванию в постановке диагноза, нерациональной терапии и распространению возбудителя в лечебных учреждениях.

Для лабораторной микробиологической диагностики CDI следует использовать несколько методов. Алгоритм лабораторной микробиологической диагностики CDI начинается с определения ГДГ серологическим методом и заканчивается либо выделением токсигенного штамма *C. difficile* и определением его чувствительности к антибактериальным препаратам, либо отрицательным результатом, при котором возбудитель отсутствует или его этиологическая роль вызывает сомнение.

Уровень убедительности рекомендаций С (уровень достоверности доказательств – II) [22, 23, 42, 43, 44, 56, 57, 58].

В европейских и американских клинических рекомендациях предлагается комбинация тестов для диагностики CDI. На первом этапе определяют ГДГ *C. difficile*. Многими авторами считается, что в случае отрицательного результата дальнейшее обследование больного не требуется, при положительном необходимо проведение тестов, подтверждающих наличие токсинов (ПЦР или ИФА) [22, 23, 36, 40].

Многоэтапная лабораторная микробиологическая диагностика является адекватной стратегией, при которой низкая стоимость скринингового исследования и быстрота его исполнения, а именно определение ГДГ в просветных фекалиях, используется на первом этапе, за которым следует определение в них токсинов А и В. При наличии диареи и отрицательных тестах на ГДГ и токсины А и В необходимо исключить наличие бинарного токсина. Бинарный токсин детектируется методом ПЦР.

Уровень убедительности рекомендаций А (уровень достоверности доказательств – Ib) [22, 23, 27, 31, 37, 39, 40].

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

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

Уровень убедительности рекомендаций С (уровень достоверности доказательств – III) [29, 37, 39, 40, 45, 46, 48, 49, 50, 56, 57, 58].

При развитии у пациента клинической картины CDI лечение начинается до получения лабораторного подтверждения после взятия проб просветных фекалий. Отрицательные результаты лабораторных тестов не исключают наличия возбудителя. Необходимо лабораторное подтверждение и мониторинг за CDI.

Уровень убедительности рекомендаций С (уровень достоверности доказательств – III) [45, 46, 47, 55, 56, 57, 58].

Таким образом для проведения лабораторной микробиологической диагностики CDI оптимален трёхэтапный алгоритм лабораторного микробиологического исследования, включающий сочетание лабораторных методов для достижения максимально высокой чувствительности и специфичности исследования.

Уровень убедительности рекомендаций А (уровень достоверности доказательств – Ib) [7, 8, 20, 21, 22, 23, 24, 38, 39, 40, 54, 56, 57, 58].

2.4.6. Интерпретация результатов

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

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

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

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

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

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

Оценка методики

Разработанный диагностический алгоритм оценён по следующим параметрам:

- чувствительность
- специфичность
- точность теста
- положительное прогностическое значение
- отрицательное прогностическое значение

➤ воспроизводимость

Проведённый анализ результатов исследований 578 образцов просветных фекалий, полученных от пациентов, поступивших в стационар и пациентов с клинической картиной CDI показал высокую чувствительность, специфичность, диагностическую точность трехэтапного алгоритма диагностики заболевания (таблица 2) [8, 9].

Таблица 2

Значения параметров при трёхэтапном алгоритме лабораторной диагностики CDI

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

Алгоритм характеризуется высокими значениями воспроизводимости результатов исследований, чувствительности и специфичности. Трёхэтапный алгоритм исследования предназначен для лабораторной диагностики CDI. Его использование обеспечит правильную и своевременную диагностику, локальный микробиологический мониторинг и эпидемиологический надзор за CDI. **Уровень убедительности рекомендаций С (уровень достоверности доказательств – III) [8, 9, 42, 44, 49, 56, 57].**

3. Лечение

3.1 Консервативное лечение

Для прогнозирования эффективности антибактериальной терапии используют данные определения чувствительности *C. difficile* к антибактериальным препаратам. Пациентам с лёгкой и среднетяжёлой формой заболевания назначается метронидазол в дозе 500 мг внутрь три раза в день в течение 10 дней. При отсутствии клинического эффекта через 5-7 дней производят смену препарата на ванкомицин в дозе 125 мг 4 раза в день per os в течение 10 дней. Пациентам с тяжёлой формой CDI изначально показано назначение ванкомицина в дозе 125 мг внутрь 4 раза в день в течение 10 дней. Ухудшение состояния пациента с возникновением гипотонии, гипертермии выше 38,5⁰ С, задержке стула, выраженном вздутии живота, изменении сознания, лейкоцитозе свыше 15х10⁹ или лейкопении ниже 2х10⁹, повышении уровня лактата в сыворотке крови выше 2,2 ммоль/л, развитии синдрома полиорганной недостаточности требует перевод в отделение интенсивной терапии для дальнейшего лечения. Наряду с инфузионной терапией назначается ванкомицин внутрь в дозе 500 мг 4 раза в день в сочетании с метронидазолом

в дозе 500 мг 3 раза в день внутривенно. При невозможности введения препарата через рот ванкомицин назначается ректально. При этом препарат в дозе 500 мг разводится в 500 мл 0,9% раствора хлорида натрия и вводится в виде клизм четыре раза в день.

Уровень убедительности рекомендаций В (уровень достоверности доказательств – II) [22, 43, 57, 58, 59, 60, 61].

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

Уровень убедительности рекомендаций С (уровень достоверности доказательств – III) [22, 58, 59, 60, 61].

Следует отметить, что в ряде стран в настоящее время используется препарат из группы макролидов – фидаксомицин, который демонстрирует высокие фекальные концентрации при минимальной системной абсорбции. Ещё один препарат, который необходимо упомянуть, говоря о тяжёлых формах клостридиальной инфекции – тигециклин. По своей химической структуре он относится к производным миноциклина, и является перспективным препаратом при лечении CDI у пациентов после неэффективной терапии первой линии. Фармакокинетика препарата обуславливает его высокую концентрацию в просвете кишечника, до 59% назначенной дозы поступает в желчь. Режим дозирования тигециклина особенный. Начальная доза препарата для взрослых составляет 100 мг и вводится в/в капельно в течение 30-60 мин., далее по 50 мг через каждые 12 ч. Продолжительность терапии определяется степенью тяжести инфекции и клинической реакцией больного на лечение и составляет в среднем 5-14 дней. Несмотря на высокую эффективность, показания для лечения CDI тигециклином должны быть ограничены из-за широкого спектра активности препарата и возможности формирования антибиотикорезистентности других микроорганизмов. В настоящее время для лечения CDI проходит клинические испытания антибиотик из группы оксазолидинона – кадазолид.

Уровень убедительности рекомендаций С (уровень достоверности доказательств – III) [22, 57, 58, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71].

3.2 Хирургическое лечение

Тяжелое течение заболевания, сопровождающееся возникновением осложнений CDI, таких как токсическая дилатация, перфорация и т.д. требует экстренного оперативного вмешательства. Вопрос об его объёме решается индивидуально, исходя из интраоперационно выявленных изменений. В ряде случаев оперативное вмешательство

ограничивается формированием илеостомы, с последующим введением в отключенные отделы кишечника внутрипросветных антибиотиков, а при выраженной токсической дилатации с диастатическим повреждением или перфорацией стенки кишки возникает необходимость выполнения экстренной операции – колэктомии.

Уровень убедительности рекомендаций В (уровень достоверности доказательств – II) [9, 22, 49, 56, 65, 66].

3.3 Иное лечение

Применение пробиотиков может значительно снизить заболеваемость антибиотик-ассоциированной диареей и может являться перспективным средством для лечения и профилактики CDI. *Saccharomyces boulardi*, *Lactobacillus rhamnosus* GG и пробиотические смеси обладают профилактическим действием и могут помочь предотвратить развитие антибиотико-ассоциированной диареи, *Saccharomyces boulardi* проявляют свою эффективность в лечении CDI. Перспективным направлением в профилактике и лечении CDI, является использование аутоштаммов *Lactobacillus spp.* с лабораторной оценкой их антагонистической активности против *Clostridium spp.*, включая *C. difficile*. Методика является трудоёмкой, но эффективной и безопасной.

Уровень убедительности рекомендаций С (уровень достоверности доказательств – IV) [70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77].

Продолжаются исследования по поиску и выделению бактериофага против *C. difficile*, что станет перспективным методом лечения CDI [74, 75].

В крайних случаях при неэффективности других методов лечения используют трансплантацию фекальной микробиоты. Остается дискуссионным вопрос о возможности защиты от риска трансплантации от реципиента патогенной микробиоты, включая вирусы, бактерии, грибы, лейкоцитов, кишечного эпителия и т.д. **Уровень убедительности рекомендаций С, (уровень достоверности доказательств – IV) [79, 80].**

4. Реабилитация

Пациенты, у которых в анамнезе была CDI, должны знать, что они имеют высокий риск рецидива заболевания. Применения антибактериальных препаратов у данной категории лиц должно происходить по строгим показаниям с учётом данных оценки чувствительности *C. difficile* к антимикробным препаратам. После проведения эффективной этиотропной терапии требуется качественная и количественная оценка состава кишечной микробиоты. В случае обнаружения низкого содержания бифидо- и лактобактерий, низкой антагонистической активности лактофлоры, либо её отсутствия,

требуется назначение пробиотических и синбиотических препаратов.

У пациентов, перенесших экстренные вмешательства по поводу осложнений CDI, возможно проведение реконструктивно-восстановительных операций лишь после полного купирования воспалительного процесса и метаболических нарушений. **Уровень убедительности рекомендаций С (уровень достоверности доказательств – IV) [22, 69, 71, 72, 73].**

5. Профилактика

Профилактические мероприятия чрезвычайно важны в борьбе с CDI. Способность *Clostridium difficile* к образованию спор и биоплёнок являются основными факторами, влияющими на распространение микроорганизма. Мероприятия, направленные на предупреждение реализации этих путей, могут быть весьма эффективны в борьбе с клостридиальной инфекцией.

Выделяют первичную и вторичную профилактику клостридиальной инфекции. Первичная профилактика – система мер, направленных на предупреждение возникновения и воздействия факторов риска развития заболевания на организм. К ней причисляют вакцинацию, рациональный режим труда и отдыха, качественное питание, физическую активность, охрану окружающей среды и т. д. К мерам вторичной профилактики относят комплекс мероприятий, направленных на устранение факторов риска, которые в условиях стресса, ослабления иммунитета, чрезмерных нагрузок на любые другие функциональные системы организма могут привести к возникновению, обострению и рецидиву заболевания. Наиболее эффективным методом вторичной профилактики считается диспансеризация, как комплексный метод раннего выявления заболевания, динамического наблюдения, направленного лечения, рационального последовательного оздоровления. Учитывая фекально-оральный механизм передачи *C. difficile*, необходимо тщательно следить за гигиеной рук медицинского персонала. Мытье рук с мылом и применение медицинских перчаток является эффективным мероприятием для уничтожения спор *C. difficile* по сравнению с использованием спиртовых антисептиков.

Уровень убедительности рекомендаций С, (уровень достоверности доказательств – III) [Ошибка! Источник ссылки не найден., Ошибка! Источник ссылки не найден.].

Доказана эффективность бактерицидного и спороцидного действия аэрозоля 7,5% перекиси водорода на *C. difficile*, полученного с помощью специальной автоматизированной системы для дезинфекции воздуха и поверхностей. После

воздействия аэрозоля перекиси водорода в течение 3 часов в помещении регистрируется гибель всех спор *C. difficile*. Доказана эффективность импульсной ксеноновой ультрафиолетовой установки для дезинфекции поверхностей от спор *C. difficile*. Перспективным методом специфической профилактики CDI может стать создание вакцины.

Уровень убедительности рекомендаций D (уровень достоверности доказательств – III) [81, 82, 83, 84].

Критерии оценки качества медицинской помощи

№ п/п	Критерии качества	Уровень достоверности доказательств	Уровень убедительности рекомендаций
1	При наличии жалоб на жидкий стул более 3 раз в сутки либо увеличение количества кишечного отделяемого по илеостоме более 1000 мл/сутки или по колостоме более 500 мл/сутки, гипертермии до 39 ⁰ С, метеоризме, тошноте, рвоте, болях в животе спастического характера; присутствии факторов риска в анамнезе и изменении лабораторных показателей, в течение 24 часов необходимо осуществить взятие и направление просветных фекалий на лабораторное исследование для выявления токсигенной <i>C.difficile</i> и верификации возбудителя.	Ib	A
2	Установление диагноза CDI возможно на основании анамнеза, клинической картины заболевания и результатов лабораторной диагностики.	Ib	A
3	Для лабораторной диагностики CDI возможно исследовать образцы просветных фекалий, мазки, взятые из кишки, содержимое просвета или биоптат слизистой оболочки толстой кишки, полученные при эндоскопическом исследовании или во время операции.	Ib	A
4	Материал для исследования должен быть собран в одноразовый стерильный контейнер. Если доставка в бактериологическую лабораторию для проведения бактериологического и молекулярно-биологического исследования в течение двух часов затруднена, образцы кала могут быть заморожены при -70 ⁰ С. Для определения токсинов	II	B

	серологическими методами замораживание просветных фекалий недопустимо.		
5	Транспортировка материала для исследования на CDI в лабораторию осуществляется в специальных герметичных контейнерах – переносках. Транспортировка в лабораторию при комнатной температуре допускается в течение не более 2 часов. При невозможности быстрой транспортировки образцы должны быть помещены в транспортные среды для анаэробов.	II	B
6	Экспресс-диагностика в лаборатории включает определение ГДГ, токсинов А и В в просветных фекалиях иммунологическими или молекулярно-биологическими методами.	Ib	A
7	В бактериологической лаборатории для лабораторной диагностики CDI необходимо использовать трехэтапный алгоритм.	Ib	A
8	В бактериологической лаборатории для детекции ГДГ, токсинов А и В, бинарного токсина <i>C. difficile</i> используется ИФА и /или ИХА и /или ПЦР	Ib	A
9	В бактериологической лаборатории проводят выделение токсигенной культуры с определением её цитотоксичности и чувствительности к антибактериальным препаратам, используемым для лечения CDI	Ib	A
10	При наличии диареи и отрицательных тестов на ГДГ и токсины А и В необходимо исключить наличие бинарного токсина, который детектируется методом ПЦР.	Ib	A
11	Пациентам с лёгкой и среднетяжёлой формой заболевания необходимо назначение в течение 24 часов с момента появления клинической картины заболевания метронидазола в дозе 500 мг внутрь три раза в день. При отсутствии клинического эффекта через 5-7 дней необходимо назначение ванкомицина внутрь в дозе 125 мг 4 раза в день в течение 10 дней. Пациентам с тяжёлой формой CDI изначально необходимо назначение ванкомицина в дозе 125 мг внутрь 4 раза в	II	B

	день в течение 10 дней.		
12	При развитии токсической дилатации ободочной кишки или перфорации стенки кишки необходимо срочное оперативное лечение.	II	B

Список литературы

1. Ивашкин В. Т., Шелыгин Ю.А., Халиф И.Л., и др. Рекомендации Российской гастроэнтерологической ассоциации и Ассоциации колопроктологов России по диагностике и лечению взрослых больных язвенным колитом // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2015. – Т. 25. – №. 1. – С. 48-65.
2. Ивашкин В. Т., Шелыгин Ю. А., Абдулганиева Д. И. и соавт. Проект клинических рекомендаций по диагностике и лечению взрослых пациентов с болезнью Крона. Колопроктология. – 2013. - №: S3 (45) – С. 4-21.
3. Корнеева О. Н., Ивашкин В. Т. Антибиотикоассоциированный колит: патоморфология, клиника, лечение //Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2007. – Т. 17. – №. 3. – С. 65-71.
4. Лобзин Ю. В., Захаренко С. М., Иванов Г. А. Современные представления об инфекции *Clostridium difficile* //Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2002. – Т. 4. – №. 3. – С. 200-232.
5. Ивашкин В. Т. Рациональная фармакотерапия заболеваний органов пищеварения: руководство для практикующих врачей / В. Т. Ивашкин, Ивашкина Н.Ю., Баранская Е.К. и др. – Москва: Литтерра, 2007. – 884 с.
6. Шептулин А. А. Рефрактерные и рецидивирующие формы колита, ассоциированного с *Clostridium difficile* //Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии. – 2011. – Т. 2. – С. 50-53.
7. Wright Donna F.R. Largest ever European clinician consensus report on *Clostridium difficile* infection provides recommendations for improved management of CDI pressemitteilung astellas //EMA. – 2014.
8. Surawicz C.M., Brandt L.J., Binion D.G., Ananthakrishnan A.N., Curry S.R., Gilligan C.H., McFarland L. V, Mellow M., Zucker Braun B.S. Guidelines for diagnosis, treatment, and prevention of *Clostridium difficile* infections.: Journal Article, Review . Am. J. Gastroenterol. – 2013. – № 4(108). – С. 478–98; quiz 499
9. Сафин А.Л., Ачкасов С.И., Сухина М.А. Сушков О.И. Факторы риска развития диареи, ассоциированной с *Clostridium difficile*, у колопроктологических больных (обзор литературы). Колопроктология. – 2017. – № 1(59). – С. 59–67.

- 10.
11. Norman J. M. Handley S.A., Baldrige M.T., et al. Disease-specific Alterations in the enteric virome in inflammatory bowel disease. NIH Public Access. – 2016. – № 3(160). – P. 447-460.
12. Jennifer K. Spinlera, Rossa C.L., Savidgea T.C. Probiotics as adjunctive therapy for preventing *Clostridium difficile* infection – What are we waiting for? *Anaerobe*. – 2016. – №41. – C. 51–57.
13. Aguado J. M., Anttila V. J., Galperine T., Goldenberg S. D. et al. Highlighting clinical needs in *Clostridium difficile* infection: the views of European healthcare professionals at the front line. *J. Hosp. Infect.* – 2015. – № 2(50). – P. 117-125.
14. Kazanowski M. Smolarek S., Kinnarney F. et al. *Clostridium difficile*: epidemiology, diagnostic and therapeutic possibilities – a systematic review/ – *Techniques in coloproctology* 2014. – 18. – P. 223-232.
15. 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. *J. Hosp. Infect.* - 2016. - № 3(93). - P. 286-289.
16. Judith A.; Brien et al. The emerging infectious challenge of *Clostridium difficile*-associated disease in Massachusetts hospitals: clinical and economic consequences. // *Infect. Control & Hosp. Epidemiol.* – 2007. – T. 28. – № 11. – C. 1219-1227.
17. Hassan S. A. Rahman R.A., Huda N., Wan Bebakar W.M., Lee Y.Y. Hospital-acquired *Clostridium difficile* infection among patients with type 2 diabetes mellitus in acute medical wards. *The journal of the Royal College of Physicians of Edinburgh*. – 2013. – № 2(43). – P. 103-107.
18. Gerding D. N., Johnson S., Peterson L. R. et al. *Clostridium difficile* – associated diarrhea and colitis. // *Infection control and hospital epidemiology*. – 1995. – T. 16. – №. 8. – C. 459-477.
19. Kuty P. Risk factors for and estimated incidence of community-associated *Clostridium difficile* infection, North Carolina, USA // *CME*. 2010. – T. 16. – №. 2. – C. 198
20. Aguado J. M., Anttila V. J., Galperine T., Goldenberg S. D. et al. Highlighting clinical needs in *Clostridium difficile* infection: the views of European healthcare professionals at the front line. *J. Hosp. Infect.* – 2015. – № 2(50). – P. 117-125.
21. Wright Donna F.R. Largest ever European clinician consensus report on *Clostridium difficile* infection provides recommendations for improved management of CDI pressemitteilung astellas EMEA. 2014.
22. Martin-Verstraete I., Peltier J., Dupuy B. The regulatory networks that control *Clostridium*

- difficile toxin synthesis //Toxins. – 2016. – Т. 8. – №. 5. – С. 153.
23. Tschudin-Sutter S. Braissant O., Erb S. et al. Growth Patterns of *Clostridium difficile* – Correlations with Strains, Binary Toxin and Disease Severity: A Prospective Cohort Study. PLoS One. – 2016. – № 9(11). – P. e0161711
 24. 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
 25. Ananthakrishnan A. N., Issa M., Binion D. G. *Clostridium difficile* and inflammatory bowel disease //Gastroenterology Clinics. – 2009. – Т. 38. – №. 4. – С. 711-728
 26. Norman J. M. Handley S.A., Baldrige M.T., et al. Disease-specific Alterations in the enteric virome in inflammatory bowel disease. NIH Public Access. – 2016. – № 3(160). – P. 447-460
 27. Moon H.-W., Kim H.N., Hur M., Shim H.S., et al. Comparison of diagnostic algorithms for detecting toxigenic *Clostridium difficile* in routine practice at a tertiary referral hospital in Korea. PLoS One. – 2016. – № 8(11). e0161139.doi:10.1371/ journal. pone.01611 39.
 28. A practical guidance document for the laboratory detection of toxigenic *Clostridium difficile*. -Washington, DC: American Society for Microbiology, 2010. -Режим доступа: <http://www.asm.org/images/pdf/Clinical/clostridiumdifficile9-21.pdf>.)
 29. Benedek O., Podbielski A., Warnke P. Laboratory experience with the Liaison analyzer in the diagnosis of *Clostridium difficile*-associated diarrhea //European Journal of Microbiology and Immunology. – 2016. – Т. 6. – №. 3. – С. 215-218.
 30. Russello G. Russo A., Sisto F., et al. Laboratory diagnosis of *Clostridium difficile* associated diarrhoea and molecular characterization of clinical isolates. New Microbiol. – 2012. – № 35. – P. 307-316
 31. Arimoto J. Horita N., Kato S., Fuyukiet A. al. Diagnostic test accuracy of glutamate dehydrogenase for *Clostridium difficile*: Systematic review and meta-analysis. Sci. Rep. – 2016. – № 6. – P. 29754
 32. Barbut F., Kajzer C., Plana S.N. et al. Comparison of three enzyme immunoassays, a cytotoxicity assay and toxigenic culture for the diagnosis of *Clostridium difficile* – associated diarrhea. J. Clin Microbiol. – 1993. – № 31. – P. 963-971.
 33. Na X., Martin A.J., Sethi S., Kyne L. et al. A multi-center prospective derivation and validation of a clinical prediction tool for severe *Clostridium difficile* infection. PLoS One. – 2015. – № 4(10). – С. e0123405
 34. Turgeon D. K. Thomas J., Novicki, John Quick et al. Six Rapid Tests for direct detection of

- Clostridium difficile* and its toxins in fecal samples compared with the fibroblast cytotoxicity assay. J. Clin. Microbiol. – 2003. – № 2 (41). – P. 667-670.
35. Fenner L. Widmer AF, Goy G, Rudin S, Frei R. Rapid and reliable diagnostic algorithm for detection of *Clostridium difficile* J. Clin. Microbiol. Am. Soc. Microbiol. – 2008. – № 1(46). – P. 328-330.
36. Peterson L. R., Kelly P. J., Nordbrock H. A. Role of culture and toxin detection in laboratory testing for diagnosis of *Clostridium difficile*-associated diarrhea //European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. – 1996. – T. 15. – №. 4. – C. 330-336.
37. Yoldas O., Altındış, M., Cufalı, D., et al. A diagnostic algorithm for the detection of *Clostridium difficile*-associated diarrhea. Balkan Med. J. – 2016. – № 1(33). – P. 80-86
38. Peterson L. R., Olson M. M., Shanholtzer C. J., et al. Results of a prospective, 18-month clinical evaluation of culture, Cytotoxin testing and culturette brand (CDT) latex testing in the diagnosis of *Clostridium difficile* – associated diarrhea. Diagn Microbial Infect Dis. – 1988. № 10. – C. 85-91
39. LaSala P. R. Svensson A.M., Mohammad A.A., Perrotta P.L. Comparison of analytical and clinical performance of three methods for detection of *Clostridium difficile*. Arch. Pathol. Lab. Med. – 2012. – № 5(136). – P. 527-531
40. Le R., Wallet G. F. Laboratory diagnosis of *Clostridium difficile* infection // Ann. Biol. Clin. Synthèse Ann Biol Clin. – 2013. – № 4(71). – C. 395-400.
41. Cohen S. H. Gerding D.N., Johnson S., Kelly C.P., Loo V.G., McDonald L.C., Pepin J., Wilcox M.H. Clinical practice guidelines for *Clostridium difficile* infection in adults: 2010 update by the society for healthcare epidemiology of America (SHEA) and the infectious diseases society of America (IDSA) //Infection Control & Hospital Epidemiology. – 2010. – T. 31. – №. 5. – C. 431-455.
42. Burnham C.-A. D., Carroll K. C. Diagnosis of *Clostridium difficile* infection: an ongoing conundrum for clinicians and for clinical laboratories. // Clin. Microbiol. Rev. American Society for Microbiology, 2013. Vol. 26, № 3. P. 604-630.
43. 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. – T. 124. – №. 11. – C. 1016-1020.
44. Peterson L. R., Holter J. J., Shanholtzer C. J., Garrett C. R., Gerding D. N. Detection of *Clostridium difficile* toxins A (enterotoxin) and B (cytotoxin) in clinical specimens: evaluation of a latex agglutination test //American journal of clinical pathology. – 1986. – T. 86. – №. 2. –

C. 208-211.

45. Staneck J. L., Weckbach L. S., Allen S. D., Siders J. A., Gilligan P. H. et al. Multicenter evaluation of four method for *Clostridium difficile* detection: ImmunoCard C. difficile, cytotoxin assay, culture, and latex agglutination. *J. Clin Microbiol.* – 1996. – № 34. – P. 2718-21.
46. Sambol S. P., Merrigan M. M., Lysterly D., Gerding D. N., Johnson S. Toxin gene analysis of a variant strain of *Clostridium difficile* that causes human clinical disease. *Infect Immun.* – 2000. – № 68. – C. 5480-5487
47. Kapusinszky B., Minor P., Delwart E. Nearly constant shedding of diverse enteric viruses by two healthy infants. *J. Clin. Microbiol.* – 2012. – № 11(50). – P. 3427-3434.
48. Martin J., Monaghan T., Wilcox M. H. *Clostridium difficile* infection: advances in epidemiology, diagnosis and understanding of transmission. *Nat. Rev. Gastro. Hep.* – 2016. Vol. In press.
49. Tsutsumi L., Owusu Y., Hurdle J., Sun D. Progress in the Discovery of Treatments for C. difficile Infection: A Clinical and Medicinal Chemistry Review. *Curr. Top. Med. Chem.* – 2013. – № 1(14). – P. 152–175
50. Kato N., Ou C-Y., Kato H., et al. Identification of toxigenic *Clostridium difficile* by the polymerase chain reaction. *J. Clin. Microbiol.* – 1991. – № 29. – C. 33-47
51. Novais R. C., Thorstenson Y. R. The evolution of Pyrosequencing® for microbiology: from genes to genomes // *Journal of microbiological methods.* – 2011. – T. 86. – №. 1. – C. 1-7.
52. Knight D. R. Elliott B., Chang B.J., Perkins T.T., Riley T.V. Diversity and evolution in the genome of *Clostridium difficile*. *Clin. Microbiol. Rev.* - 2015. - № 3 (28). - P. 721-741.
53. Collins D. A., Elliott B., Riley T. V. Molecular methods for detecting and typing of *Clostridium difficile* // *Pathology-Journal of the RCPA.* – 2015. – T. 47. – №. 3. – C. 211-218.
54. Binnicker M. J. Multiplex molecular panels for diagnosis of gastrointestinal infection: performance, result interpretation, and cost-effectiveness // *Journal of clinical microbiology.* – 2015. – T. 53. – №. 12. – C. 3723-3728
55. Buss S. N., Leber A., Chapin K. et al. Multicenter evaluation of the BioFire FilmArray gastrointestinal panel for etiologic diagnosis of infectious gastroenteritis // *Journal of clinical microbiology.* – 2015. – T. 53. – №. 3. – C. 915-925.
56. Qin J., Li Y., Cai Z., et al. A metagenome-wide association study of gut microbiota in type 2 diabetes. *Nature.* – 2012. – № 7418(490). – P. 55-60.
57. Karre T. Sloan L., Patel R. et al. Comparison of two commercial molecular assays to a laboratory-developed molecular assay for diagnosis of *Clostridium difficile* infection. *J. Clin. Microbiol.* – 2011. – № 2(49). – P. 725-727.

58. Martín R., Bermúdez-Humarán L. G., Langella P. The role of metagenomics in understanding the human microbiome in health and disease. *Virulence*. – 2014. – № 3(5). – C. 413-423.
59. Tsutsumi L., Owusu Y., Hurdle J., Sun D. Progress in the Discovery of Treatments for *C. difficile* Infection: A Clinical and Medicinal Chemistry Review. *Curr. Top. Med. Chem.* – 2013. – № 1(14). – P. 152–175.
60. 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. – T. 58. – №. 2. – C. 892-900.
61. Mattila E., Anttila V.-J., Broas M. et al. A randomized, double-blind study comparing *Clostridium difficile* immune whey and metronidazole for recurrent *Clostridium difficile*-associated diarrhoea: efficacy and safety data of a prematurely interrupted trial //Scandinavian journal of infectious diseases. – 2008. – T. 40. – №. 9. – C. 702-708.
62. Mullane K. Fidaxomicin in *Clostridium difficile* infection: Latest evidence and clinical guidance. *Ther. Adv. Chronic Dis.* – 2014. – № 2(5). – P. 69–84.
63. 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). – C. 812–822
64. Kali A., Charles M.V.P., Srirangaraj S. Cadazolid: A new hope in the treatment of *Clostridium difficile* infection. *Australas. Med. J.* – 2015. – № 8(8). – P. 253–262
65. Vaishnavi C. Fidaxomicin - the new drug for *Clostridium difficile* infection. *Indian J Med Res.* – 2015. – № 5. – C. 398–407.
66. Sullivan K.M., Spooner L.M. Fidaxomicin: A macrocyclic antibiotic for the management of *Clostridium difficile* infection. *Ann. Pharmacother.* – 2010. – № 2(44). – C. 352–359.
67. Eiland E. H., Sawyer A. J., Massie N. L. Fidaxomicin use and clinical outcomes for *Clostridium difficile*-associated diarrhea //Infectious diseases in clinical practice (Baltimore, Md.). – 2015. – T. 23. – №. 1. – C. 32.
68. Johnson A.P., Wilcox M.H. Fidaxomicin: A new option for the treatment of *Clostridium difficile* infection. *J. Antimicrob. Chemother.* – 2012. – № 12(67). – C. 2788–2792.
69. O'Connor J.R., Galang M.A., Sambol S.P., Hecht D.W., Vedantam G., Gerding D.N., Johnson S. Rifampin and rifaximin resistance in clinical isolates of *Clostridium difficile*. *Antimicrob. Agents Chemother.* – 2008. – № 8(52). – C. 2813–2817.
70. 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. – T. 57. – №. 6. – P. 2690-2693
71. Kali A., Charles M.V.P., Srirangaraj S. Cadazolid: A new hope in the treatment of *Clostridium difficile* infection. Australas. Med. J. – 2015. – № 8(8). – P. 253–262.
72. 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. – T. 4. – №. 4. – P. E706
73. 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
74. Lau C.S., Chamberlain R.S. Probiotics are effective at preventing *Clostridium difficile*-associated diarrhea: a systematic review and meta-analysis. Int. J. Gen. Med. Dove Press, – 2016. – № 9. – P. 27–37.
75. Kostic A. D., Xavier R. J., Gevers D. The microbiome in inflammatory bowel disease: current status and the future ahead //Gastroenterology. – 2014. – T. 146. – №. 6. – C. 1489-1499.
76. Ley R. E., Peterson D. A., Gordon J. I. Ecological and evolutionary forces shaping microbial diversity in the human intestine //Cell. – 2006. – T. 124. – №. 4. – C. 837-848.
77. Buss S. N. et al. Multicenter evaluation of the BioFire FilmArray gastrointestinal panel for etiologic diagnosis of infectious gastroenteritis //Journal of clinical microbiology. – 2015. – T. 53. – №. 3. – C. 915-925.
78. Hargreaves K. R., Clokie M. R. J. *Clostridium difficile* phages: still difficult? //Frontiers in microbiology. – 2014. – T. 5. – P. 184
79. 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. – T. 108. – №. 4. – P. 500.
80. Honda K1, Littman DR. The microbiome in infectious disease and inflammation // Annu Rev Immunol. 2012 – 30 – P. 759-95.
81. 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.
82. Yoon S. S., Kim E. K., Lee W. J. Functional genomic and metagenomic approaches to understanding gut microbiota-animal mutualism. Curr. Opin. Microbiol. – 2015. – 24. – P. 38-46
83. 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 //American journal of infection control. – 2013. – T. 41. – №. 8. – P. 746-748.

84. Crobach M. J. T. Dekkers O. M., Wilcox M. H., Kuijper E. J. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID): data review and recommendations for diagnosing Clostridium difficile-infection (CDI) //Clinical Microbiology and Infection. – 2009. – Т. 15. – №. 12. – С. 1053-1066.

Приложение А1. Состав рабочей группы

Разработаны коллективом авторов:

- | | |
|---------------|---|
| Шелыгин Ю. А. | Заслуженный врач России, дважды Лауреат Премии Правительства РФ в области науки и техники, Главный внештатный специалист-колопроктолог Минздрава России, доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, директор ФГБУ «Государственный научный центр колопроктологии им. А. Н. Рыжих» Минздрава России |
| Алёшкин В. А. | Заслуженный деятель науки России, доктор биологических наук, профессор, директор ФБУН «Московский научно-исследовательский эпидемиологии и микробиологии им. Г. Н. Габричевского» Роспотребнадзора |
| Сухина М. А. | Кандидат биологических наук, руководитель отдела микробиологических и иммунологических исследований ФГБУ «Государственный научный центр колопроктологии им. А. Н. Рыжих» Минздрава России |
| Миронов А. Ю. | Доктор медицинских наук, профессор, руководитель отдела микробиологии ФБУН «Московский научно-исследовательский эпидемиологии и микробиологии им. Г. Н. Габричевского» Роспотребнадзора |
| Брико Н. И. | Академик РАН, д.м.н., проф., зав. кафедрой эпидемиологии и доказательной медицины ФГАОУ ВО Сеченовский Университет Минздрава России, главный внештатный специалист эпидемиолог Минздрава России |
| Козлов Р.С. | Член-корреспондент РАН, д.м.н., профессор, главный внештатный специалист Минздрава России по клинической микробиологии и антимикробной резистентности, директор НИИ антимикробной химиотерапии ФГБОУ ВО «Смоленский государственный медицинский университет» Минздрава России, президент Межрегиональной |

ассоциации по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии (МАКМАХ), руководитель Сотрудничающего центра ВОЗ по укреплению потенциала в сфере надзора и исследований антимикробной резистентности, ректор Смоленской государственной медицинской академии (СГМА).

- Зверев В.В. Академик РАН, доктор биологических наук, профессор, директор института «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова РАН»
- Ачкасов С. И. Доктор медицинских наук, профессор, руководитель отдела онкологии и хирургии ободочной кишки ФГБУ «Государственный научный центр колопроктологии им. А. Н. Рыжих» Минздрава России
- Ковалишина О.В. Доктор медицинских наук, зав. кафедрой эпидемиологии и заместитель директора по науке НИИ профилактической медицины НижГМА.
- Селькова Е. П. Доктор медицинских наук, зам. директора ФБУН «Московский научно-исследовательский эпидемиологии и микробиологии им. Г. Н. Габричевского» Роспотребнадзора
- Сафин А. Л. Аспирант ФГБУ «Государственный научный центр колопроктологии им. А. Н. Рыжих» Минздрава России
- Гренкова Т. А. Кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник ФБУН «Московский научно-исследовательский эпидемиологии и микробиологии им. Г. Н. Габричевского» Роспотребнадзора
- Халиф И.Л. Доктор медицинских наук, профессор, руководитель гастроэнтерологического отделения ФГБУ «Государственный научный центр колопроктологии им. А. Н. Рыжих» Минздрава России
- Фролов С.А. Доктор медицинских наук, заместитель директора по научной работе ФГБУ "ГНЦК им. А.Н. Рыжих" Минздрава России

Экспертный совет: Брико Н. И. - академик РАН, д.м.н., проф., зав. кафедрой эпидемиологии и доказательной медицины ФГАОУ ВО Сеченовский Университет Минздрава России, главный внештатный специалист эпидемиолог Минздрава России, председатель НП «НАСКИ» (Москва); Брусина Е. Б. - д.м.н., проф., зав. кафедрой ФГБОУ ВО КемГМА Минздрава России, главный внештатный специалист эпидемиолог Минздрава России в Сибирском Федеральном округе и в Кемеровской области (Кемерово); Зуева Л. П. - д.м.н., проф., зав. кафедрой ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И. И.

Мечникова Минздрава России, главный внештатный специалист эпидемиолог Минздрава России в Северо-Западном Федеральном округе (Санкт-Петербург); Стасенко В. Л. - д.м.н., проф., зав. кафедрой эпидемиологии ФГБОУ ВО ОГМУ Минздрава России, главный внештатный специалист эпидемиолог Минздрава в Омской области (Омск); Фельдблюм И. В. - д.м.н., проф., зав. кафедрой эпидемиологии с курсом гигиены и эпидемиологии ФПК и ППС ФГБОУ ВО ПГМУ им. академика Е. А. Вагнера Минздрава России (Пермь).

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Согласованы на заседании Профильной комиссии Минздрава России по эпидемиологии (протокол № 11 от 27.09.2017).

Утверждены на Общем собрании членов НП «НАСКИ» в рамках Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Риск-ориентированные технологии в обеспечении эпидемиологической безопасности медицинской деятельности», 27-29 сентября 2017 года, г. Пермь (Протокол № 15 от 27.09.2017 Общего собрания членов НП «НАСКИ»)

Приложение А2. Методология разработки клинических рекомендаций.

Методы, использованные для сбора/селекции доказательств Поиск в электронных базах данных, материалы собственных исследований, электронная база данных результатов микробиологических показателей, положенных в основу отбора критериев и их референсных значений.

Описание методов, использованных для сбора/селекции доказательств.

Данные рекомендации составлены на основании данных литературы, материалах собственных исследований, электронной базы данных результатов микробиологических показателей, положенных в основу отбора критериев и их референсных значений. Доказательной базой для рекомендаций являются публикации открытого доступа из ресурса Всемирной организации здравоохранения, публикации, вошедшие в Кохрановскую библиотеку, базы данных MedLine, EuroFlu, ECDC, PubMed, ScieneDirect, EMBASE, Elibrary. Глубина поиска составляет более 10 лет. Для исключения влияния на процесс оценки субъективного фактора каждое исследование оценивалось независимо, по меньшей мере, двумя несвязанными членами рабочей группы. Какие-либо различия в оценках обсуждались группой в полном составе. Результат изучения влиял на уровень доказательств, присваиваемый публикации, что в свою очередь влияет на силу вытекающих из неё рекомендаций.

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

Методы, использованные для оценки качества и силы доказательств:

- консенсус экспертов;
- оценка значимости в соответствии с рейтинговой схемой (таблица 3).

Таблица 3

Рейтинговая схема для оценки силы рекомендаций

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

Методы, использованные для анализа доказательств:

- обзоры опубликованных мета-анализов;
- систематические обзоры с таблицами доказательств.

Описание методов, использованных для анализа доказательств

Методологическое изучение базировалось на нескольких ключевых вопросах, сфокусированных на тех особенностях дизайна исследования, которые оказывают существенное влияние на валидность результатов и выводов. Для исключения влияния на процесс оценки субъективного фактора каждое исследование оценивалось независимо, по

меньшей мере, двумя несвязанными членами рабочей группы. Какие-либо различия в оценках обсуждались группой в полном составе. Для достижения консенсуса привлекался независимый эксперт.

Настоящие рекомендации в предварительной версии рецензированы независимыми экспертами, которые отметили доступность в понимании представленного материала и доказательств (таблица 4).

Таблица 4

Уровни убедительности рекомендаций (УУР)

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

Таблицы доказательств: таблицы доказательств заполнялись членами рабочей группы.

Методы, использованные для формулирования рекомендаций:

консенсус экспертов.

Индикаторы доброкачественной практики (Good Practice Points - GPP):

Рекомендуемая доброкачественная практика базируется на практическом опыте членов рабочей группы по разработке рекомендаций.

Экономический анализ: экономический анализ стоимости не проводился и публикации по экономике не анализировались.

Метод валидации рекомендаций:

- внешняя экспертная оценка;
- внутренняя экспертная оценка.

Описание метода валидации рекомендаций:

Настоящие рекомендации в предварительной версии рецензированы независимыми

экспертами, которых просили прокомментировать прежде всего то, насколько интерпретация доказательств доступна для понимания и порядок действий выполним в практике.

Получены комментарии со стороны врачей многопрофильных и специализированных медицинских организаций, оказывающих медицинскую помощь населению, в отношении доходчивости изложения рекомендаций и их оценки важности рекомендаций, как рабочего инструмента повседневной практики. Комментарии, полученные от экспертов, тщательно систематизировались и обсуждались членами рабочей группы. Каждый пункт анализировался, вносимые в рекомендации изменения регистрировались.

Рабочая группа:

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

Основные рекомендации:

Сила рекомендаций (A-D) приводится в табл. 3 и частично при изложении текста клинических рекомендаций.

Таблица 5

Сила рекомендаций

Тип рекомендаций	Сила
Тест-системы, используемые для определения фермента ГДГ <i>C. difficile</i>	C
Тест-системы, используемые для определения токсинов <i>C. difficile</i>	C
Питательные среды для культивирования <i>C. difficile</i>	B
Основные требования, предъявляемые при определении чувствительности <i>C. difficile</i> к антибактериальным препаратам	C
Интерпретация результатов	C, GPP
Оценка методики	C

Целевая аудитория данных клинических рекомендаций:

1. врачи общей практики;
2. врачи-терапевты;

3. врачи-гастроэнтерологи;
4. врачи-инфекционисты;
5. врачи-хирурги;
6. врачи-педиатры;
7. врачи-бактериологи;
8. врачи клинической лабораторной диагностики;
9. врачи-эпидемиологи;
10. преподаватели высших и средних медицинских учебных заведений;
11. аспиранты;
12. ординаторы;
13. студенты высших и средних медицинских учебных заведений;
14. врачи различных специальностей с целью осуществления диагностики и профилактики заболеваний, сопровождающихся микробиологическими нарушениями, в том числе для мониторинга дисбиозов желудочно-кишечного тракта в медицинской организации как компонента эпидемиологического надзора за инфекциями, связанными с оказанием медицинской помощи.

Порядок обновления клинических рекомендаций

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

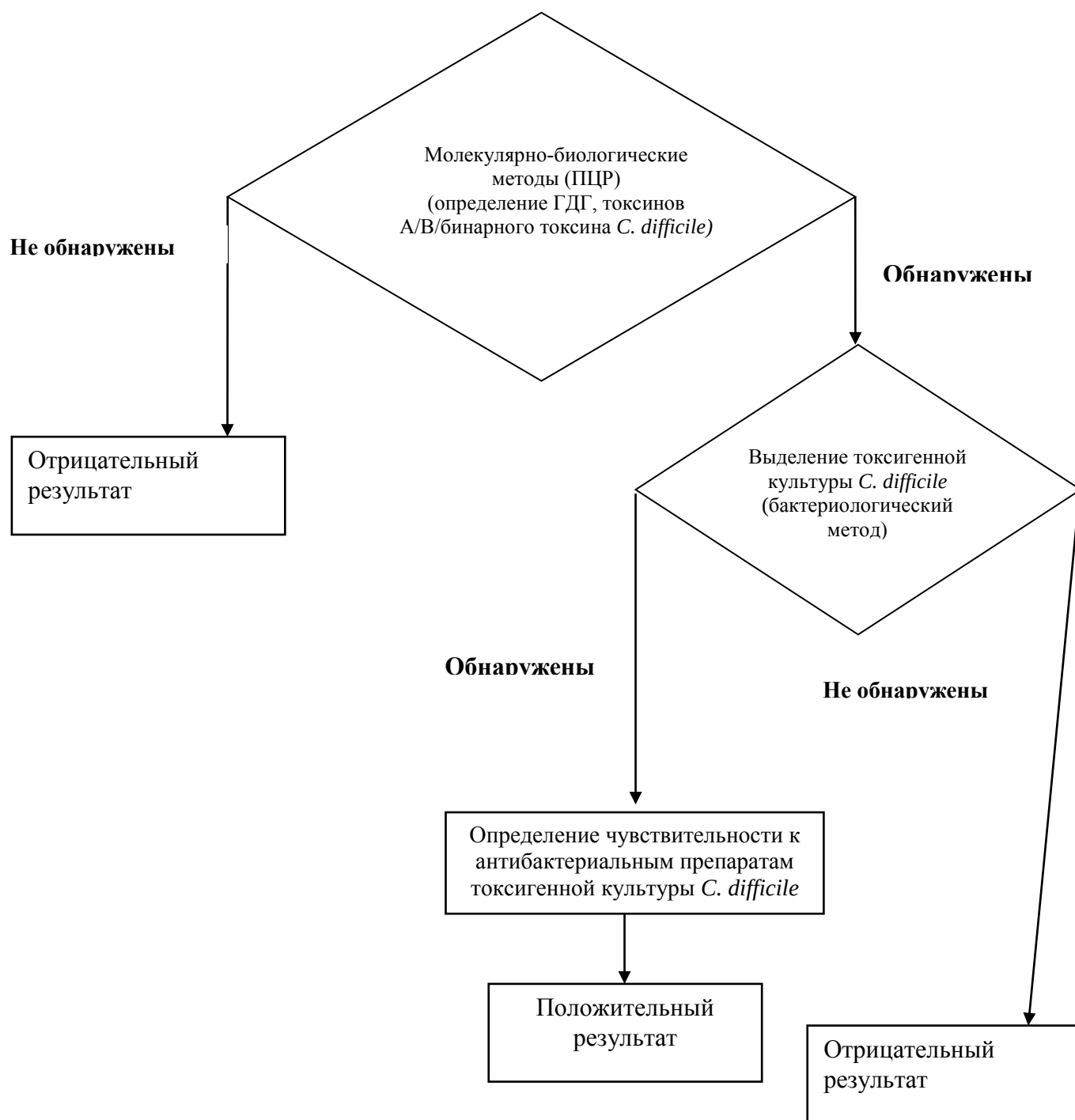
Приложение А3. Связанные документы

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

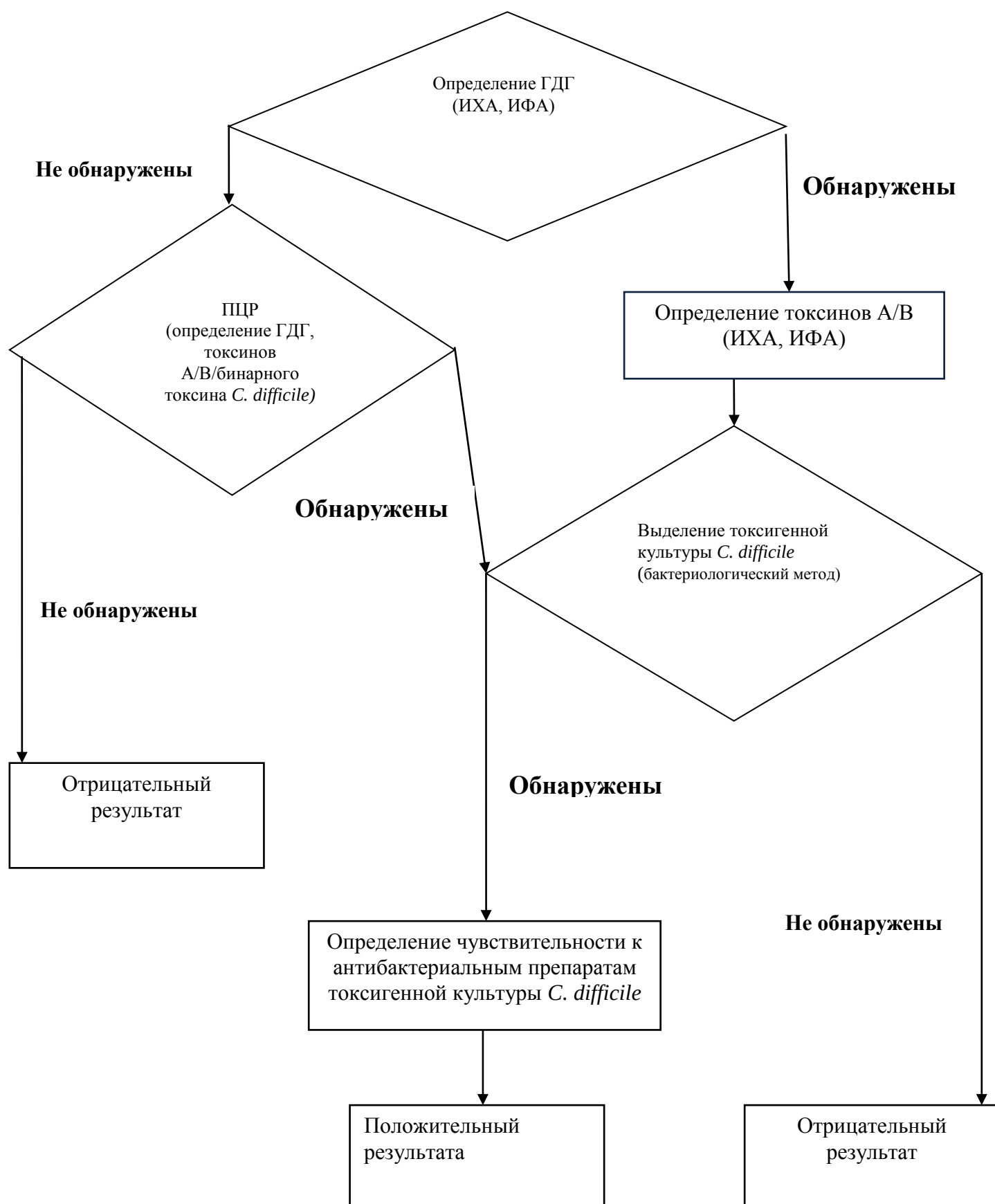
- Федеральный закон от 21 ноября 2011 года № 323-ФЗ «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации» с изменениями и дополнениями.
- Федеральный закон от 31.03.1999 № 52-ФЗ «О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения».
- СанПиН 2.1.3.2630-10. «Санитарно-эпидемиологические требования к организациям, осуществляющим медицинскую деятельность».
- СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней».
- СП 1.2.036-95 «Санитарно-эпидемиологические правила «Порядок учёта, хранения, передачи и транспортирования микроорганизмов I-IV групп патогенности».
- СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами».
- Национальный Стандарт Российской Федерации. Лаборатории медицинские. Требования безопасности. ГОСТ Р 52905-2007 (ИСО 15190:2003).
- Национальный Стандарт Российской Федерации. Лаборатории медицинские. Частные требования к качеству и компетентности. ГОСТ Р (ИСО 15189-2009).
- МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I-IV групп патогенности».

Приложение Б. Алгоритмы ведения пациента

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



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



Приложение В. Информация для пациента.

Данная информация необходима для получения Вами первичных сведений о *Clostridium difficile* – ассоциированной диарее, методах диагностики, первых признаках инфекции.

Практически во всех случаях тяжёлых форм антибиотик-ассоциированной диареи, причиной являются микроорганизмы *C. difficile*, продуцирующие токсины А и В, которые вызывают диарею и воспаление стенки кишечника. Около 5% всех штаммов имеют ещё один токсин, увеличивающий тяжесть заболевания, – бинарный. По данным ВОЗ в последнее время регистрируется увеличение заболеваемости *C. difficile*-ассоциированной диареей. Последние вспышки связаны с появлением нового высоковирулентного штамма NAP1/027, с высоким уровнем продукции токсинов, вызывающего тяжёлое течение заболевания и устойчивого к обычно используемым антибиотикам. Нарушения, связанные с приёмом антибиотиков, могут изменяться от диареи, не требующей лечения, до угрожающих жизни состояний, связанных с псевдомембранозным колитом. Эта инфекция часто требует лечения антибиотиками, перечень которых ограничен. При возникновении осложнений может потребоваться оперативное лечение, вплоть до удаления толстой кишки, а смертность возрастает до 80%. К примеру, в 2007 г. в США клостридиальная инфекция оказалась главной причиной смертельных исходов у пациентов с заболеваниями желудочно-кишечного тракта. *C. difficile* обнаруживаются в кишечнике, как минимум, каждого пятого человека, не вызывая симптомов. Около 50% пациентов, имеющих заболевания кишечника, имеют токсигенную *C. difficile*. Бактерии нормальной микрофлоры кишечника конкурируют с ней и подавляют её рост. Но при приёме антибиотиков широкого спектра действия состав микрофлоры меняется, и *C. difficile* получает возможность размножиться и воздействовать на стенку кишечника. При наличии следующих факторов риска вероятность возникновения и тяжёлого течения этой инфекции многократно возрастает:

- пребывание в стационаре;
- оперативные вмешательства;
- хронические заболевания;
- возраст более 65 лет;
- наличие клостридиальной инфекции в анамнезе;
- продолжение применения антибиотиков (не для лечения клостридиальной инфекции);
- длительный приём ингибиторов протонной помпы (омепразол);

- лечение препаратами, подавляющими иммунитет;
- химиотерапия.

При подозрении на *C. difficile* – ассоциированную диарею немедленно обратитесь к врачу.