

**АО «Медицинский университет Астана»**

**УДК:616.34-008.314.4-07-053.2:616.98**

**МПК: G01 N33/53; A61 K39/108; A61 P37/04**

**Тулегенова Гульбагдан Кыдырбаевна**

**Клинико – диагностическая характеристика антибиотик -  
ассоциированной диареи обусловленной Clostridium difficile у детей**

**6M110100 Медицина (детские инфекционные болезни)**

**Диссертация на присуждение академической  
степени магистра**

**Научный руководитель:**

д.м.н. Баетшева Д.А.

**Официальный оппонент:**

д.м.н., проф. Кошеров Б.Н.

**Астана, 2016**

## СОДЕРЖАНИЕ

ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ	3
СПИСОК ТАБЛИЦ И РИСУНКОВ	4
ВВЕДЕНИЕ	6
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	11
1.1 Диареи у детей на современном этапе	11
1.2 Антибиотик ассоциированные диареи - <i>C.difficile</i>	15
1.3 Диагностика <i>C.difficile</i> -инфекции у детей.	27
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	31
2.1. Клиническая характеристика пациентов	31
2.2 Методы исследования	32
Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	37
3.1 Этиологическая и возрастная структура диарей у детей, пролеченных в отделении инвазивных диарей в ГККП ГДИБ за 2010-2014 гг.	37
3.2 Факторы риска, способствующие реализации <i>C.difficile</i> у детей	44
3.3 Клинико – лабораторная характеристика ААД у детей обусловленная <i>C.difficile</i>	48
3.3.1 Клиническая характеристика ААД, обусловленная <i>C.difficile</i>	48
3.3.2 Лабораторная характеристика ААД, вызванных с <i>C.difficile</i> .	54
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	59
ВЫВОДЫ	63
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	64
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ	65

## ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ

ААД – антибиотикоассоциированная диарея  
ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения  
ГДИБ – городская детская инфекционная больница  
ЖКТ — желудочно-кишечный тракт  
ИФА – иммуноферментный анализ  
ОКИ – острые кишечные инфекции  
ПЦР – полимеразная цепная реакция  
ПМК – псевдомембранозный колит  
СОЭ – скорость оседания эритроцитов  
CD – Clostridium difficile  
CDAD - Clostridium difficile – associated diseases  
УПФ – условно-патогенная флора  
CDI - C.difficile-инфекция  
IgG — иммуноглобулин G  
ВБД - внутрибольничные диареи  
ИВБДВ - интегрированное введение болезней детского возраста  
УПМ — условно-патогенная флора  
ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота  
рН – показатель кислотно-щелочного баланса  
ЦНС – центральная нервная система  
ВПС – врожденные пороки сердца

## СПИСОК ТАБЛИЦ И РИСУНКОВ

Таблица 1	Распространенность антибиотик – ассоциированной диареи у детей	16
Таблица 2	Возрастная структура пациентов исследуемых на <i>C.difficile</i>	35
Таблица 3	Возрастная структура пациентов с инвазивной диареей за 2010-2014гг	37
Таблица 4	Количество повторно госпитализированных с инвазивной диареей за 2010-2014гг.	39
Таблица 5	Анализ нозологических форм с инвазивной диареей за 2010-2014гг.	40
Таблица 6	Анализ основных нозологических форм инвазивных диарей по типам возбудителей сальмонеллез за 2010-2014гг.	40
Таблица 7	Анализ основных нозологических форм инвазивных диарей по типам возбудителей шигеллез за 2010-2014гг.	41
Таблица 8	Анализ основных нозологических форм инвазивных диарей по типам возбудителей эшерихиоз за 2010-2014гг.	41
Таблица 9	Анализ основных нозологических форм инвазивных диарей, вызванные УПФ за 2010-2014гг.	42
Таблица 10	Преморбидный фон и сопутствующая патология у детей со среднетяжелой и тяжелой формой ОКИ за 2010-2014гг.	43
Таблица 11	Сравнительная характеристика клинических симптомов диарей	49
Таблица 12	Удельный вес ААД, обусловленной <i>C.difficile</i>	49
Таблица 13	Возрастная структура пациентов исследованных на <i>C.difficile</i>	49
Таблица 14	Сравнительная характеристика болевого синдрома	52
Таблица 15	Сравнительная характеристика стула у исследуемых пациентов	53
Таблица 16	Частота, продолжительность и кратность рвоты исследуемых пациентов	54
Рисунок 1	Характеристика ПЦР – аппарата GenomEra CDX™	33
Рисунок 2	Прибор GenomEra CDX для определения специфической микробной ДНК <i>C.difficile</i>	34
Рисунок 3	Техника определения <i>C.difficile</i>	34
Рисунок 4	Распределение больных по тяжести состояния при поступлении	37
Рисунок 5	Сроки госпитализации в стационар с момента заболевания	38
Рисунок 6	Частота возникновения <i>C.difficile</i> - инфекции при приеме антибиотика в амбулаторных условиях.	45
Рисунок 7	Частота возникновения <i>C.difficile</i> - инфекции при приеме	46

	антибиотика в условиях стационара	
Рисунок 8	Корреляционный анализ антибактериальной терапии и <i>S.difficile</i> .	47
Рисунок 9	Показатели повторных поступлений в стационар основной и контрольной группы.	47
Рисунок 10	Распределение больных с ААД по полу	50
Рисунок 11	Возрастная структура пациентов исследованных на <i>S.difficile</i> .	50
Рисунок 12	Отягощенный преморбидный фон детей с ААД	51
Рисунок 13	Показатели периферической крови основной и контрольной группы	55

## **ВВЕДЕНИЕ**

### **Актуальность проблемы**

В соответствии с рекомендациями ВОЗ термин «острые кишечные инфекции» ОКИ объединяет более 30 заболеваний бактериальной, вирусной или протозойной этиологии, основным симптомом которых является острая диарея.

Значимость диареи резко возрастает в группе у детей раннего возраста в связи с формированием в клинике тяжелых форм болезни, сопровождающихся выраженными токсикозами, дегидратацией [1,2,3,27].

Исходы заболевания зависят в большей мере от своевременности обращения, постановки диагноза и тактики оказания помощи. Но даже при условии благоприятного течения, острые кишечные инфекции приводят к нарушению функции целого ряда органов и систем, способствуют формированию у детей со сниженным индексом здоровья подверженности к различным инфекционным и соматическим болезням. Все это обуславливает актуальность данной проблемы и значимость повышения грамотности уровня информированности населения по профилактике диареи [4,6].

Диареи сохраняют свою актуальность в связи с широкой распространенностью и высокой заболеваемостью, особенно у детей раннего возраста. В педиатрической практике заболеваемость диарей устойчиво занимает 2-е место после респираторных вирусных инфекций и сопровождается развитием серьезных осложнений с летальными исходами [1,2,3,4]. По данным ВОЗ, ежегодно регистрируется около миллиарда диарейных заболеваний, умирает до 4 млн. человек, при этом 60-70% заболевших составляют дети до 14 лет [5,6].

В Казахстане частота диареи, по данным ряда авторов, в структуре острых кишечных инфекций колеблется от 7 до 35%, а среди детей в возрасте от 1 до 3 лет превышает 60% [7,8].

Несмотря на значительные достижения в изучении клиники и патогенеза диареи, вызванных патогенными возбудителями (шигеллез, сальмонеллез, иерсиниоз, эшерихиоз), 50-80% случаев диареи до настоящего времени остаются этиологически не расшифрованными, что приводит к ошибкам в диагностике и лечения [9].

В настоящее время изучение условно-патогенных микроорганизмов и заболеваний, вызванных ими, приобретает все более широкую популярность [10]. Это в первую очередь связано с возрастанием этиологической значимости условно-патогенной грамотрицательной флоры, что, естественно привлекает внимание исследователей в плане изучения клинико-лабораторных особенностей течения диарей в зависимости от этиологии, а также с целью совершенствования диагностики этих заболеваний [1,8].

Значительная распространенность у детей поражений желудочно-кишечного тракта, обусловленных УПФ, полиморфизм клиники, трудности диагностики и лечения требуют дальнейшего изучения этой проблемы [15,18].

Необходимо заметить, что особенно в раннем детском возрасте для затяжных диарей свойственен сочетанный характер патологии. И часто под маской синдрома «дисбактериоз кишечника» остаются нераспознанным другие вышеперчисленные состояния, что выражается в неэффективности проводимого лечения или отсутствии стабильного эффекта после его окончания [11,14].

Несмотря на широкое применение в медицинской практике высокоэффективных антибактериальных препаратов, лечение больных с инфекционной патологией, вызванной УПФ и в особенности их ассоциациями, остается весьма трудной задачей [12,13,15,19].

Широкое применение антибиотиков в медицинской практике способствовало вытеснению чувствительных и распространению устойчивых к действию антибактериальных препаратов микроорганизмов. Среди прочих микробов-оппортунистов, ответственных за расстройство кишечника, *C.difficile* занимает особое место благодаря, по крайней мере двум обстоятельствам. Во-первых, обладая агрессивным цитотоксином, *C.difficile* вызывает специфический псевдомембранозный колит, летальность при котором достигает 30%. Во-вторых, благодаря спорообразованию *C.difficile* обладает особой резистентностью к факторам внешней среды и к обычным дезинфицирующим средствам, что создает дополнительные проблемы, особенно в условиях стационара [16,17].

В настоящее время самым значимым энтеропатогеном, вызывающим внутрибольничные диареи, считается *C.difficile*, на долю которого приходится до 25% всех случаев антибиотик ассоциированная диарея и практически все случаи псевдомембранозного колита. *C.difficile* является грамположительной спорообразующей анаэробной палочкой, получившей свое видовое название (англ. difficult — трудный) из-за ранее имевших место трудностей в культивировании [13].

Больные с низким уровнем иммуноглобулинов класса G (IgG) к токсину А склонны к более тяжелому течению заболевания, в то время как лица с высоким уровнем этого иммуноглобулина обычно выздоравливают спонтанно. *C.difficile*, как правило, связана с предшествующим приемом антибиотиков, но может быть следствием действия других факторов, нарушающих кишечную микрофлору [20,21]. *C.difficile* диагностируется на основании клинических симптомов (таких как диарея) и лабораторного подтверждения наличия токсин-продуцирующего штамма *C.difficile* в кале. В настоящее время для диагностики *C.difficile* используют иммуноферментный анализ для обнаружения токсинов А и В (экспресс-тесты), иммунологический анализ (общий антиген) и метод амплификации нуклеиновых кислот с целью обнаружения генов, кодирующих выработку *C.difficile* токсинов А и В. Нет необходимости в определении чувствительности *C.difficile* к антибиотикам с клинической целью, но данное исследование может выполняться в рамках эпидемиологического надзора [22].

Диагностика *C.difficile* представляет определенные трудности ввиду невозможности провести адекватное тестирование во многих лабораториях. Исследование на выявление токсин-продуцирующего штамма *C.difficile* в кале должно проводиться всем пациентам с подозрением на ААД. В практической деятельности диагностические тесты для выявления *C.difficile* должны использоваться у всех больных, которые обращаются к врачу общей практики с диареей и с анамнестическими указаниями на недавнее применение антибиотиков (в течение предшествующих 2 месяцев, либо если диарея появилась через 3 дня после госпитализации). В группу риска относят пациентов с хронической сопутствующей патологией, а также больных с отрицательными результатами тестов по поводу других видов кишечной инфекции [23].

В нашей стране уровень осведомленности врачей и других медицинских работников о данной инфекции недостаточный. Низкая продолжительность медицинского персонала по отношению к *C.difficile* может привести к неполной диагностике или неправильно поставленному диагнозу. Как следствие: 1) лечение откладывается или не назначено, увеличивается риск тяжелых заболеваний и осложнений; 2) меры инфекционного контроля задерживаются, что может привести к вспышке инфекции; 3) заболеваемость недооценена; 4) увеличивается число назначений ненужных и дорогостоящих диагностических тестов [24].

Следует признать, что до настоящего времени диагностика диареи остаются по – прежнему несовершенной – при применении «традиционных» лабораторных методов исследования. Этиологический диагноз удается установить лишь у 1/3 больных [25]. В последние годы отмечается тенденция к изменению этиологии патогенов, вызывающих диарею [32,27]. Это побудило нас провести исследования по выявлению *C.difficile*, как этиологического патогена и факторов, обуславливающих реализацию данной инфекции, обобщить собственные наблюдения клиничко – лабораторных проявлений *C.difficile* у детей.

### **Цель исследования**

Изучить клинические особенности ААД обусловленной *C.difficile*, определить факторы риска и обосновать лабораторную диагностику методом экспресс ПЦР-диагностики «GenomEra».

### **Задачи исследования**

1. Исследовать возрастную структуру и этиологию диарей у пациентов, пролеченных в отделении инвазивных диарей в ГДИБ г. Астана за 2010-2014 гг.
2. Определить удельный вес *C.difficile* у детей с инвазивной диареей с помощью экспресс ПЦР - анализатора «GenomEra» и выявить факторы риска развития заболевания.

3. Дать клиническую характеристику антибиотик – ассоциированных диарей, обусловленных *C.difficile* у детей.

### **Научная новизна результатов исследования**

Установлена роль *C.difficile* инфекции, выявленная методом экспресс ПЦР-диагностики «GenomEra» при инвазивных диареях у детей раннего возраста, удельный вес которой составляет 14,28%.

Определены основные факторы риска развития *C.difficile* у детей раннего возраста: повторное использование цефалоспоринов при неэффективности стартовой терапии (цефтриаксон, цефоперазон, меропенем – 17,24 % ( $p<0,05$ ); цефуроксим, цефтриаксон+амикацин – 13,79% ( $p<0,05$ ) в условиях стационара, в антибактериальном анамнезе: амоксиклав – 34,48% и сумамед – 17,24% ( $p<0,05$ ), а также определена прямая положительная средняя корреляционная взаимосвязь между использованием вышеназванных антибиотиков и выявлением *C.difficile*. Впервые дано описание клинической картины *C.difficile* - инфекции у детей раннего возраста и определены варианты ее течения: заболевание характеризуется подострым началом – 60%, преобладанием средне тяжелых форм – 85%, наличием энтероколита – 45%, гемоколита – 50%.

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

1. *C.difficile* - инфекция является одной из причин развития антибиотик – ассоциированных диарей у детей раннего возраста, факторами риска, которой является комбинированная антибактериальная терапия и цефалоспорины III поколения.
2. *C.difficile* - инфекция у детей раннего возраста протекает подостро, в среднетяжелой и тяжелой форме с преимущественным поражением толстой кишки в виде энтероколита и гемоколита.
3. Информативным методом диагностики *C.difficile* - инфекции является экспресс ПЦР-диагностика «GenomEra», который может использоваться для этиологической диагностики в ранние сроки заболевания.

### **Теоретическая и практическая значимость**

Результаты проведенных исследований позволят расширить алгоритм дифференциальной диагностики диарей, показаний к обследованию и профилактике *C.difficile* у детей, как в стационаре, так и в амбулаторно поликлинических условиях.

Использование экспресс-анализатора «GenomEra» у пациентов антибиотик ассоциированными диареями, будут способствовать раннему выявлению *C.difficile*, что позволит провести своевременную эффективную этиотропную терапию и инфекционный контроль.

### **Внедрение результатов научных исследований**

Результаты диссертационной работы внедрены в практику работы инфекционных отделений в ГДИБ г. Астана, а также основные положения диссертации используются в педагогическом процессе на кафедре детских инфекционных болезней АО «Медицинский университет Астана».

### **Апробация работы**

Основные результаты и положения исследования доложены на международной научно-практической конференции молодых ученых и студентов 9-10 апреля 2015г. г. Астана. Имеется 4 тезиса: Международная научно-практическая конференция «Актуальные проблемы инфектологии, эпидемиологии и медицинской паразитологии: современные технологии системы эпиднадзора, диагностики, лечения и профилактики» (г. Алматы, 2015г.). Всероссийская научно-практическая конференция. Новые методы экспресс - диагностики микроорганизмов в медицине, фармации, ветеринарии и экологии (Санкт-Петербург, 2015г.). Международной научно-практической конференции молодых ученых и студентов (г. Астана, 2016г.). Авторское свидетельство «Пути решения проблемы антибиотикорезистентности в инфекционном стационаре» (научное произведение). АКТ внедрения новой технологии №2. «ПЦР - анализатор GenomEra CDX». 2 статьи: журнал «Валеология: Здоровье – Болезнь-Выздоровление».

### **Объем и структура диссертации**

Диссертационная работа состоит из введения, 3 глав, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка использованной литературы, включающего 109 литературных источников, из которых 47 на русском языке и 62 на иностранных языках. Диссертация изложена на 71 страницах машинописного текста, иллюстрирована 16 таблицами и 13 рисунками.

## **1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ**

### **1.1. Диареи у детей на современном этапе**

По данным ВОЗ, диареи занимают 4-е место среди причин детской смертности и относятся к заболеваниям, которые имеют важное социально-экономическое значение [WHO, 2006]. На современном этапе достигнуты значительные успехи в разработке вопросов профилактики, диагностики в вопросах лечения как этиологического, так и патогентического направления, но тем не менее уровень заболеваемости не снижается и более половины регистрируемых острых диарей приходится на детский возраст [17].

Установлено, что чаще всего диарея встречается у детей раннего возраста, чем меньший возраст ребенка, тем чаще у него возникает диарея (10 и больше раз в год) [1,3]. Особенно высока летальность у детей 1-го года жизни. В мире ежегодно регистрируется приблизительно 500 млн. случаев острой диареи, от которой умирает до 4 млн. детей младшего возраста (каждые 6 секунд – один ребенок) [2,4].

Возбудителями диареи является большая группа бактерий, вирусов, простейших и гельминтов, которые обладают тропностью к эпителию кишечника и могут вызывать ее дисфункцию. Клиническими патогенами в медицинской практике являются дизентерийные палочки (шигеллы), сальмонеллы, патогенные кишечные палочки (эшерихии), стафилококки, клебсиеллы, протей, кампилобактерия, иерсиния, синегнойная палочка, холерный вибрион и др. Среди вирусов на современном этапе наибольшее значение при поражении кишечника имеют следующие возбудители: ротавирусы, энтеровирусы Коксаки и ЭСНО, коронавирусы, аденовирусы, реовирусы и др. Вместе с тем нужно помнить и о том, что наличие диарейного синдрома может быть вызвана такими простейшими как амебы, лямблий, криптоспоридий. Список микроорганизмов, обладающих патологическим действием на кишечник не ограничивается вышеназванными возбудителями, многие из них недостаточно изучены, постоянно открываются все новые возбудители диареи [4,6].

Возбудители диареи устойчивы во внешней среде, могут длительное время сохраняться на руках, посуде, игрушках, и предметах обихода, в почве и воде, инфицированных фекалиями больного. Некоторые из них способны размножаться в продуктах питания при комнатной или даже низкой температуре. Большинство патогенных возбудителей погибают при кипячении, а также при обработке дезинфицирующими веществами.

Диареей болеют как взрослые, так и дети, среди детей, особенно раннего возраста заболеваемость диарей высока, у них она регистрируется в течение всего года и наибольший подъем отмечается в летне-осенний период. Если у взрослых летальность при диарее относительно невысока, то у детей как было отмечено выше она достаточно высокая.

Как источник инфекции опасность представляет больной человек, а также носители возбудителей заболевания. Причем наибольшую опасность для окружающих представляют пациенты с легкими, стертыми и

бессимптомными формами заболевания. Как правило, в организованных детских коллективах опасность в виде эпидемических вспышек представляют здоровые носители патогенов, работающие в пищеблоке.

Пути передачи – фекально-оральный, механизм которой реализуется через следующие факторы: пищевой, водный и контактно-бытовой, реже – воздушно-пылевой путь передачи. При некоторых инфекциях имеют значение насекомые (мухи). Распространению инфекции способствуют не соблюдение санитарно – гигиенических норм, такие как несоблюдение правил личной гигиены, употребление зараженных продуктов питания, хранившихся или готовившихся с нарушением правил.

Восприимчивость детей к диареем высокая. Реализация заболевания зависит от таких показателей как доза попавшего в организм возбудителя, его вирулентности. Большое значение имеет состояние барьерной и ферментативной функции ЖКТ и активности иммунной системы. Наибольшую опасность кишечные инфекции представляют для детей раннего возраста, особенно недоношенные, а также находящиеся на искусственном вскармливании. Необходимо отметить, что иммунитет после перенесенной диареи типоспецифический, нестойкий, продолжительность его длится от 3 –4 месяцев до 1 года, поэтому сохраняется риск возможность повторных заболеваний.

Известно, что при кишечных инфекциях инкубационный период длится от нескольких часов до 7 дней. Затем следует период разгара заболевания и завершается периодом реконвалесценции. Длительность перечисленных периодов может быть самой различной протяженности во времени и будет зависеть от следующих моментов: этиологии, клинической формы болезни и тяжести заболевания.

Наиболее важным моментом для предотвращения вспышки заболевания кишечной инфекции и его распространения является эффективность проводимых противоэпидемических и лечебных мероприятий.

Не решенные вопросы. Высокий процент диагностических ошибок, и как следствие – нерациональные подходы к терапии диареи (в первую очередь необоснованно широкое использование антибактериальных препаратов) и как результат рост заболеваемости среди детей, обусловленные УПФ и ААД.

Нерациональное использование средств этиотропной терапии, отсутствие цинка и низкоосмотического регидрона, рекомендованного программой интегрированное введение болезней детского возраста (ИББДВ).

Не разработаны подходы к терапии диарей смешанной этиологии и вызванные УПФ и ААД.

В настоящее время изучение условно-патогенных микроорганизмов и заболеваний, вызванных ими, приобретает все более широкую популярность [10]. Это в первую очередь связано с возрастанием этиологической значимости условно-патогенной грамотрицательной флоры, что, естественно, привлекает внимание исследователей в плане изучения клинко-лабораторных особенностей течения диарей в зависимости от этиологии, а также с целью

усовершенствования диагностики этих заболеваний [11]. Вместе с тем этиологическая расшифровка острых желудочно-кишечных заболеваний у детей в последние годы значительно снизилась, и в настоящее время до 50 — 60% заболеваний остаются без выявленного этиологического фактора, что затрудняет целенаправленное проведение противоэпидемических и лечебных мероприятий.

В последние годы появились многочисленные сообщения о роли УПФ в развитии диареи. Однако значение этой группы бактерий при диарей оценивается неоднозначно. Большинство исследователей относят их к возбудителям диарей при массивном выделении из фекалий и в отсутствие патогенных микробов и вирусов. В то же время многие авторы связывают выделение УПФ с развитием дисбактериоза кишечника, особенно в тех случаях, когда имеет место изменения в составе нормальной микрофлоры. Диагностика диарей, вызванная УПФ, и интерпретации роли их ассоциаций у больных при спорадических заболеваниях представляет сложную задачу. Среди условно - патогенных энтеробактерий при диарее наиболее часто определялись *Proteus*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Hafnia*, *Citrobacter*. Однако выделение представителей УПФ не является основанием для решения вопроса об их этиологической роли при диарей. У детей первого года жизни высеивание этих микроорганизмов может быть результатом эндогенного инфицирования (активации эндогенной флоры) на фоне изменения рН среды при воспалительном процессе, вызванными условно-патогенными микроорганизмами [91].

Большое значение в развитии диареи имеет условно патогенная флора, в частности бактерии семейства *Enterobacteriaceae*, о роли данной бактерии в развитии кишечных инфекций посвящена значительная часть отечественной и зарубежной литературы.

Несмотря на то, что на данном этапе разработаны и усовершенствованы методы лабораторной диагностики, в постановке диагноза имеются большие проблемы и трудности в постановке данных исследований так как эти методики трудоемки и требуются лаборатории, с высокотехнологичным оборудованием. Весьма проблематичны вопросы серологической диагностики диарей, вызванных условно патогенными микроорганизмами.

Вышепредставленные факты свидетельствуют о проблемах клиницистов в области лабораторной диагностики диарей связанные либо с несовершенством технологий, либо методиками исследования. Все это в конечном результате может привести к ошибочной постановке диагноза, либо к гипер-, либо к гипо – диагностике кишечных инфекций, вызванных условно патогенной флорой [9].

В данный момент множество условно патогенных микроорганизмов в отечественной и зарубежной литературе утверждены как самостоятельные нозологические формы. К таким нозоформам можно отнести следующих возбудителей: иерсинии, протей, клебсиелла и синегнойная инфекция.

Но вместе с тем имеются условно патогенные микроорганизмы роль которых достоверно не установлена в реализации диарейного синдрома. К таким микроорганизмам относятся *Citrobacter*, *S. arizonae*, *Providencia*, *Hafnia*, *Serratia*, *Erwinia*. В отечественной литературе имеются научно исследовательские труды, которые свидетельствуют о том, что перечисленные микроорганизмы могут вызвать у детей, раннего возраста вызывать энтериты, гастроэнтериты инфекционного генеза [82].

Если в 90 годы, по мнению ведущих ученых РК: Р.С. Идрисовой и соавт, перенесенные острые кишечные инфекции, сопровождались нарушением микробиоценоза кишечника и создавались благоприятные условия для более глубокого поражения кишечника сальмонеллами и все это приводило к затяжному течению диареи, то сейчас наиболее проблемными становятся диареи вызванные с не рациональным использованием антибиотиков в клинической практике [12].

По данным академика Н.И.Нисевич (2007г), среди пациентов умерших от кишечных инфекций преимущественно являются дети первого года жизни они составили - 92% от общего количества умерших [13].

По мнению академика РАМН Н.Д.Ющук (2000) причиной летальных исходов в 20% случаев является бактериальная дизентерия, а 44,4% случаев летального исхода при ОКИ является гиповолемический шок [14].

Нужно помнить, что помимо условно-патогенной флоры возбудителями семейства *Enterobacteriaceae*, в реализации диарейного синдрома у детей могут быть представители облигатной группы кишечных бактерий – это стрептококки группы Д – энтерококки.

Клинические проявления энтерококковой кишечной инфекции у детей характеризуются стертой клиникой инфекционной интоксикации при наличии инфекционного поражения различных отделов желудочно кишечного тракта (энтерит, гастроэнтерит, колит). Характерным является слабый эффект от проводимой лекарственной терапии, но на данный момент в научной литературе представлено очень мало информации о энтерококках [86,89,88].

На современном этапе установлено, что ведущими причинами диареи, которая носит персистирующий характер в реабилитационном периоде являются развитие следующих синдромов: синдром лактазной и дисахаридазной недостаточности, пищевая гастроинтестинальная аллергия, декомпенсированное нарушение микробиоценоза кишечника и реактивных изменений поджелудочной железы [87].

В Республике Казахстан по данным «Научно-практического центра санитарно-эпидемиологической экспертизы и мониторинга КЗПП МНЭ Агентства Республики Казахстан по защите прав потребителей» установлено, что в 2015 году зарегистрировано всего 14477 случаев диарей включая бактериальную дизентерию, другие кишечные уточненные инфекции, бактериальные и вирусные инфекции, что в 1,1 раз меньше, чем в 2014 году (14567) аналогично и в 2013 году (14722 случаев). Среди детей в возрасте от 0 до 14 лет данные показатели в 2015 году составили 10038 случаев в 2014 году

10260 случаев, 10833 случаев, что свидетельствует о тенденции снижения заболеваемости как у взрослых, так и у детей [19].

Несмотря на значительные достижения в изучении клиники и патогенеза диарей, вызванных патогенными возбудителями (дизентерия, сальмонеллез, иерсиниоз, эшерихиоз), 50–80% случаев диареи до настоящего времени остаются этиологически не расшифрованными, что приводит к ошибкам в диагностике и лечении [91,86,87].

В текущий момент среди возбудителей диарей отмечается существенное уменьшение количества патогенов грамотрицательной флоры в общей сумме расшифрованных острых кишечных инфекций. Но актуальность диарей продолжает сохраняться и на передовые позиции выступают вирусные инфекции тропные к эпителию энтероцитов и диарей, вызванных условно-патогенной флорой [25,32,27,83].

## **1.2 Антибиотик ассоциированные диареи – C.difficile**

Не рациональное использование антибиотиков, которое наряду с гибелью патогена нарушает микробиоценоз кишечника, способствуя росту условно патогенной флоры явилось причиной антибиотик ассоциированных диарей [7,8,85,100].

По определению Всемирной Организации Здравоохранения (2004), ААД – это 3 и более эпизодов неоформленного стула в течение двух или более последовательных дней, возникших на фоне применения антибактериальных средств и в течение 8 недель после их отмены, если не выявлена другая причина [101,102,103,104].

По изученным нами литературным данным частота развития ААД в различных регионах представлены разными показателями.

Если по научным трудам 90-х годов удельный вес ААД среди госпитализированных пациентов составлял от 3 до 29%, то эта цифра по современным источникам превышает более 50 [26]. По данным Wistrom J et al. (2001), данная патология имеет место у 4,9% пациентов, получивших антибиотикотерапию [67]. По результатам других исследователей ААД встречается приблизительно у 5-10% пациентов, получивших ампициллин, 10-20% - комбинацию амоксициллина с клавулановой кислотой, 15-20% - цефиксим и 25% - другие антибиотики [68].

Возникновение антибиотик - ассоциированной диареи можно объяснить следующими причинами, первое это не инфекционные агенты, которые связаны с аллергизирующими, токсическими и фармакологическими свойствами антибиотиков. Например при использовании макролида в виде эритромицина возникает стимуляция данным препаратом моторики желудочно кишечного тракта вызванная ее мотилиноподобным действием.

При использовании ингибитр защищенных цефалоспоринов в виде клавулановой кислоты, например амоксиклава деерогенное действие препарата объясняется влиянием клавулановой кислоты на моторику кишечника. Также синдромом диареи могут сопровождаться применение

цефалоспоринов 3 поколения в виде цефоперазона и цефтриаксона, которые выделяются с желчью. Известны антибиотики, которые обладают прямым токсическим действием на энтероциты кишечника, например; тетрациклин, хлорамфеникол

Частота ААД у детей по данным немногочисленных исследований находится в пределах 6-29% (таблица 1).

Таблица 1 - Распространенность антибиотик – ассоциированной диареи у детей [78].

Возрастная группа	Контингент больных	Тип исследования	Частота ААД %	Страна	Авторы
12-47 месяцев	Амбулаторные пациенты	эпидемиол исследование	22:76 (28,9)	США	Mutchell et al., 1996
1 месяц-15 лет	Амбулаторные пациенты	эпидемиол исследование	71:650 (11)	США	Turke et al., 2003
6 месяцев-10 лет	Амбулаторные пациенты	РКИ	25:95 (26)	США	Vanderhoof et al., 1999
2 недели – 12 лет	Амбулаторные пациенты	РКИ	9:58 (16)	Финляндия	Arvola et al., 1999
5 месяцев – 15 лет	Амбулаторные и стационарные пациенты	РКИ	22:127 (17,3)	Польша	Kotowska et al., 2005
3 месяца – 14 лет	Амбулаторные и стационарные пациенты	РКИ	20:120 (17)	Польша	Ruszczynski et al., 2008
3 месяца – 14 лет	Амбулаторные пациенты	эпидемиол исследование	14:225 (6,2)	Таиланд	Damrongmanee, Karapol, 2007

Среди инфекционных агентов, вызывающих ААД наиболее грозным и опасным агентом является *C.difficile*. Известно, что данный микроорганизм обладает свойством вырабатывать агрессивный цитотоксин, а ее свойство к спорообразованию позволяет ей выживать в самых неблагоприятных для нее условиях. В результате выработки агрессивного цитотоксина *C.difficile* способствует развитию у пациента специфического псевдомембранозного колита при не правильной постановке диагноза, либо при поздно начатом лечении, летальность составляет – 30% [36]. По данным зарубежных исследователей данная инфекция в 15-25% случаев вызывает ААД, а в 100% случаев является причиной псевдомембранозного колита [100,106,104].

В силу того что лабораторная диагностика *C.difficile* представляет определенные трудности, то в клинике данная инфекция не всегда диагностируется. Однако, нужно помнить о том что не своевременно диагностированная инфекция способствует распространению спор по клинике и может привести к вспышке данной инфекции в условиях стационара.

По современной классификации вид *C.difficile* относится к роду клостридии (*Clostridium*), семейству *Clotridiaceae*, порядку *Clostridiales*, классу *Clostridia*, типу *Firmicutes*, царству *Eubacteria* [8].

В природе и в окружающей среде *C. difficile* широко распространены они встречаются как в почве, так и в воде в большом количестве микроорганизмы находятся в фекалиях диких, домашних, и сельскохозяйственных животных [101].

Известно, что передача инфекции происходит двумя путями.

Первый путь передачи - это передача из внешних источников, это когда как было сказано передача идет из окружающей среды, то есть экзогенный путь передачи. Второй путь передачи – это активация собственной аутофлоры, в результате не рационального использования антибиотиков. Наибольшую опасность для человеческого сообщества представляют люди с манифестными формами заболевания, то есть здоровые носители, которые выделяют возбудителя в окружающую среду. Данные лица представляют особую опасность в случае их работы связанной с производством и реализацией пищевых продуктов и воды, то есть, если они принадлежат к декретированному контингенту.

Развитие ААД чаще связано с экзогенным инфицированием пациентов в период пребывания в стационаре, а не с активацией эндогенной инфекции у бессимптомных носителей. В начале второго десятилетия 21 века вспышки ААД приобрели более массовый характер, стали сопровождаться существенным ростом летальности и обхватывать не одно отделение стационара, а несколько лечебных учреждений. Так, например, в нескольких госпиталях в Онтарио (Канада) с мая 2004 г. зарегистрирован рост числа случаев ААД – 61 эпизод в течение 3 месяцев, в том числе 31 летальный исход. По данным CDC (США) в 2010 году 94% выявленных случаев ААД были связаны с оказанием медицинской помощи, при этом 75% из них дебютировали вне стационара - у недавно выписанных пациентов или лечившихся амбулаторно, а также пациентов домов престарелых. Анализ влияния конкретных антибактериальных препаратов на ААД показал, что диарея, вызванная *C.difficile*, чаще, чем идиопатическая ААД, вызвана применением цефалоспоринов второго или третьего поколения и карбапенемов.

Научные исследования свидетельствуют о том, что развитие диареи на фоне применения или появление ее в течение 8 недель после их отмены говорят в пользу ААД и процент таких пациентов по различным данным составляет 5–35% [67,68], в то же время некоторые авторы указывают в своих клиниках до 62% [69]. Достаточно высоким этот показатель является у пациентов детского возраста от 11 до 40 % [70]. Особенно высок показатель у детей находящихся на длительном стационарном лечении, а также у пациентов повторно получающих антибактериальную терапию, у лиц пожилого и старческого возраста [67,68,72]. Особенного внимания заслуживают пациенты с иммунодефицитными состояниями, пациенты

находящиеся в отделениях интенсивной терапии и реанимации. Нужно помнить о том, что любой антибиотик может явиться причиной ААД, исследователями установлено, что использование клиндамицина реализует ААД в 20–30% случаев, амоксициллина/клавуланата - 10–25% случаев, цефалоспоринов - 2–3-го поколения - 9–25,8% случаев, эритромицина - 11–16% случаев, кларитромицина и ампициллина - 5–10% случаев [67,74,75].

Ведущими российскими учеными установлено, что диарея вызванная *S.difficile*, составляет 10–25% всех случаев ААД [68,76].

Чаще всего ААД протекает в легкой форме. При этом этиологическая роль ААД в возникновении диареи в стационаре, сопровождающейся «необъяснимым» умеренным лейкоцитозом», почти в 58% случаев остается нераспознанной [9]. Для легких и среднетяжелых случаев ААД, протекающей с явлениями энтерита или энтероколита, типично появление лейкоцитоза, как правило, не превышающего  $15 \times 10^9/\text{л}$ .

Тяжелые формы ААД могут протекать как с выраженным лейкоцитозом, достигающим  $35 \times 10^9/\text{л}$  и выше, так и с лейкопенией -  $<4 \times 10^9/\text{л}$ . Для них характерны более значимые сдвиги биохимических показателей в виде гипоальбуминемии, увеличения уровня лактата [77]. Одной из важнейших причин изменения клинического течения заболевания, некоторых эпидемиологических особенностей и подходов к профилактике и терапии стало широкое распространение нового штамма возбудителя. В настоящее время доминирует гипервирулентная фторхинолонорезистентная *S. difficile* PCR ribotype 027 North American pulsed-field type 1 (NAP1) (REA type B1, toxinotype III) [38,42,51]. Помимо гипервирулентности, обусловленной делецией в гене регуляторе, для этой разновидности возбудителя также характерно гиперспоруляция [38,51].

Основными факторами вирулентности *S.difficile* длительное время считались 2 крупнейших бактериальных экзотоксинов – токсин А (TcdA, 308 кДа) и токсин В (TcdB, 270 кДа), относящиеся к большой группе клостридиальных токсинов, гликолизирующих небольшие GTPases в цитолизе клеток-мишеней [42,43]. TcdA и TcdB кодируются 19,6 к В локусом патогенности (PaLoc), который также содержит гены, кодирующие отрицательные и положительные регуляторы экспрессии токсинов и холин, содействующий высвобождению токсинов. TcdA обладает свойствами энтеротоксина и в меньшей степени цитотоксина, в то время как TcdB лишен энтеротоксигенной активности, но в 10 раз более мощный цитотоксин по сравнению с TcdA [6,9,12,42,43]. Несмотря на существование различных токсинотипов *S.difficile*, клинически манифестные формы заболевания вызывают штаммы, продуцирующие TcdB.

Бинарный токсин обнаруживается лишь у части штаммов и относится к актин - модифицирующим аденин - динуклеотидным белковым рибозилтрансферазам, повреждающим структуру актина цитоскелета клеток эпителия кишечника [6,9,12], а также вызывающим образование микротрубочек на поверхности эпителиальных клеток, что увеличивает

адгезию возбудителя. Установлено, что риск летального исхода в течение 30 суток выше при инфицировании штаммами, продуцирующими бинарный токсин (RP 1.8, 95% CI 1.2-2.7) [85,103].

Появление штамма *C.difficile* B1 /NAP1/027, может привести к изменению эпидемиологии *C.difficile* – инфекции у детей. B1 /NAP1/027 был выделен у взрослых и детей с тяжелыми заболеваниями ЖКТ. Причем пациенты из исследуемой группы не находились в стационаре и в большинстве случаев не применяли противомикробных препаратов.

Нужно помнить о том, что микробиологическая диагностика *C.difficile* оправдана лишь в том случае если у пациента имеется клиническая симптоматика, при отсутствии диарейного синдрома нет необходимости проводить лабораторные исследования.

Международные эксперты считают, что «Золотым стандартом» определения *C.difficile* был и остается микробиологический метод выделения чистой культуры.

Данный метод способен выявить токсинообразование, чувствительность к антибиотикам и риботип штамма как важнейшую эпидемиологическую метку. Таким образом, в большинстве случаев до сих пор основными методами диагностики *C.difficile* остается культуральное исследование. Длительное время анализа (положительные результаты – в течение 24 часов, отрицательные результаты – в течение 48–72 часов) и трудоемкость не позволят большинству микробиологических лабораторий взять этот метод на вооружение в рутинной клинической практике. Более того, сама по себе длительность исследования тормозит достижение одной из основных целей диагностики – принятие своевременного решения по изолированию пациента и проведению соответствующую антибактериальную терапию и своевременной дезинфекции в стационаре.

Ранее в 30-е годы 20 века считалось, что *C.difficile* является естественным обитателем кишечника у новорожденных, сорок лет спустя в 70 годы было установлены его патогенные свойства. В настоящее время с 1989 года *C.difficile* считается серьезной внутрибольничной инфекцией

Впервые крупные внутрибольничные вспышки данной инфекции, были зарегистрированы и опубликованы, начиная с 2000 года, в таких странах как США и Канада [40].

Несмотря на то, что антибактериальная терапия используется повсеместно, национальных данных по распространенности её практически отсутствуют. Научные данные зарубежных исследователей свидетельствуют о том, что ААД наиболее часто встречающееся осложнение антибактериальной терапии.

Известно, что на данное время выявлено около 400 штаммов *C.difficile*, однако заболевание вызывают только те штаммы, которые продуцируют токсины [94]. Токсины после проникновения в энтероциты кишечника обладают способностью повреждать актин цитоскелета, это в свою очередь приводит к гибели клеток кишечника. Установлено, что токсин А обладает

способностью нарушать связь между клетками слизистой толстого кишечника с базальной мембраной и повреждает ворсинчатый эпителий. Токсин В обладает способностью вызывать апоптоз, причем его цитотоксический эффект выражен более чем в 1000 раз сильнее, чем у токсина А. Установлено, что оба токсина обладают способностью стимулировать макрофаги и моноциты [96].

Таким образом, установлено, что *C.difficile* – это острое инфекционное заболевание. Путь передачи – энтеральный, вызывается антибиотикоиндуцированными штаммами *C.difficile*. Клинические проявления заболевания характеризуются выраженным синдромом интоксикации на фоне диарейного синдрома с последующим развитием псевдомембранозного колита.

Морфологически микроорганизмы характеризуются следующими показателями, во – первых это грамположительные палочки, во –вторых – строгие анаэробы, в третьих, и это одно из специфических свойств микроорганизма это то, что овальные субтерминально расположенные споры, синтезируют 2 экзотоксина: энтеротоксин А и цитотоксин В.

Установлено, что токсин А и В имеют цитотоксическую активность, они оба кислото – и термолабильны, имеют свойство инактивироваться трипсином и химотрипсином. Учеными установлено, что токсин В имеет следующие биологические свойства, он оказывает на организм цитотоксическое действие. Биологические свойства токсина А заключается в том, что он оказывает ярко выраженное энтеротоксигенное свойство. Данные свойства характеризуют микроорганизм как патогена, который может быть причиной различных колитов и энтероколитов у детей, возникающие на фоне не рационального использования антибиотиков, у новорожденных и у детей раннего возраста он может быть причиной летальных исходов [94].

В изученной нами зарубежной литературе достаточно большое количество исследований, посвященных антибиотик - ассоциированным колитам или колитам, ассоциированным с *C.difficile* [28,29,30,31,32,33].

Таким образом, резюмируя данные литературного обзора, мы можем утверждать, что *C.difficile* - микроорганизм, токсинообразующие штаммы которого являются основным возбудителем госпитальных колитов, в том числе и наиболее грозного из них - псевдомембранозного колита [1,2,4,9].

Название *C.difficile* произошло из-за трудностей культивирования микроорганизма. Патоген был открыт в 1935 году, то есть значительно позже других клостридий. Если ранее он считался одним из безвредных организмов, то с течением времени он признан главным возбудителем псевдомембранозного колита, связанного с использованием антибактериальных средств.

Необходимо отметить, что заболевание реализуется только при или после использования антибактериальных средств, преимущественно широкого спектра действия. Важным свойством микроорганизма является то, что он может находиться в споровой форме при использовании антибиотиков

и это позволяет ему выжить и выработать резистентность к используемым антибиотикам. При завершении антибактериальной терапии на фоне нарушенной микроэкологии кишечника *C.difficile* начинает усиленно размножаться, и выделять большое количество экзотоксинов. Необходимо помнить, что заболевание может возникать не только как антибиотикоиндуцированная эндогенная инфекция, но и как результат экзогенного инфицирования на фоне или сразу же после отмены антибиотика. В ряде случаев заболевания могут возникать спустя 1-2 месяца после окончания антибиотикотерапии и принимать затяжное или хроническое течение. Кишечный клостридиоз дефециле клинически чаще протекает по типу псевдомембранозного колита, реже некротического энтероколита или диарейного синдрома.

Клинические проявления псевдомембранозного колита появляются примерно на 7-10 день от начала использования антибиотиков. Клиника начинается, как правило, остро, с выраженной температурной реакцией, появлением срыгиваний или повторной рвоты, болей в животе и диарейного синдрома. У детей снижается аппетит, отмечаются явления энтерита в виде вздутия живота, а также у детей начинает снижаться вес. Через некоторое время присоединяется стул энтеритного характера нередко с примесью крови и слизи, иногда может иметь место наличие в стуле гноя.

Для того чтобы поставить диагноз ААД, обусловленный *C.difficile* важным является тщательно собранный антибактериальный анамнез и комплексное лабораторное обследование. Типичным признаком является длительность диарейного синдрома (вплоть до 8-10 недель) и резистентность к терапии, что зависит от характера и глубины патоморфологических изменений в слизистой кишечника [97,98,99].

Исследования ученых [41,42] дальнего зарубежья показали, что тяжело протекающая *C.difficile*-инфекция вызвана определенным риботипом клостридии (РТ 027), который обладает повышенной вирулентностью. Изученные штаммы обладали свойством не только количественно усиленного токсинообразования, но и продуцировали кроме обычных А и В-токсинов дополнительного бинарного токсина, патогенетическая роль которого однако еще не выяснена. Было обнаружено также изменение их чувствительности к антибиотикам, в частности новые штаммы обладали резистентностью к эритромицину и моксифлоксацину.

Исторически сложилось так, что *C.difficile* –инфекции встречались гораздо реже у детей чем у взрослых. До 70% грудных детей могут быть бессимптомными носителями *C.difficile* в том числе токсигенных штаммов, при этом частота бессимптомной колонизации уменьшается с возрастом и на 2 год жизни составляет уже до 6%. Уровень колонизации у детей старше 2х лет аналогичен таковому у взрослых (3%). Считается, что риск заболевания возрастает с увеличением возраста, что подтверждено в несколько других исследованиях.

Исследования, выполненные в США в 2004-2005 годах, показали, что частота ААД достигает максимальных значений в течение 60 суток после пребывания в стационаре. Так, по данным Dubberke E.R. (2009), в стационарах регистрировали 1,6 случая ААД на 1000 пациентов-дней, что было достоверно ниже, чем при 30-дневном наблюдении после выписки из медицинского учреждения (2,4 случая на 1000 пациентов-дней,  $p < 0,01$ ) и еще реже чем при 60-дневном наблюдении после выписки из стационара (2,6 случая на 1000 пациентов-дней,  $p < 0,01$ ) [105].

Среди инфекционных диарей в последнее время по данным ВОЗ все большее значение придается так называемым антибиотико-ассоциированным диареям, составляющим 6-29% от общего числа диарей [85].

Общество Здравоохранения и эпидемиологии США не делает различий между взрослыми и детьми при рассмотрении *C.difficile*-инфекции, за исключением новорожденных, содержащихся в кувезе. При этом исключаются из алгоритма диагностики дети первого года жизни, так у них невозможно дифференцировать транзитное носительство от истинной *C.difficile*-инфекции. Систематическая оценка эпидемиологии *C.difficile*-инфекции среди детей раннего возраста, как в России, так и за рубежом не проводилась.

Установлено, что *C.difficile* может быть выделена из образцов стула от 10% до 70% здоровых младенцев, которые могут иметь высокие показатели бессимптомного носительства *C.difficile* в течение первых месяцев жизни. Примерно 2-3% взрослых являются носителями *C.difficile*, но лишь 1% дают положительный результат на токсины.

Новорожденные могут колонизироваться *C.difficile* в начале первой недели жизни. Исследования по изучению факторов риска колонизации *C.difficile* через грудное молоко не показали достоверной корреляции. Выявлена связь частоты колонизации новорожденных в условиях стационара с уровнем населенности *C.difficile* в отделении интенсивной терапии.

В большинстве исследований не было установлено четкой эпидемиологической связи между носительством *C.difficile* и заболеваемостью *C.difficile*-инфекцией у детей первого года жизни.

По мнению ряда авторов, содержащейся в грудном молоке секреторной IgA способен связывать токсин А, а также ингибировать его взаимодействие со специфическими рецепторами кишечного эпителия.

Больные с низким уровнем иммуноглобулинов класса G (IgG) к токсину А склонны к более тяжелому течению заболевания, в то время как лица с высоким уровнем этого иммуноглобулина обычно выздоравливают спонтанно [64].

Результаты исследований, проведенных на новорожденных крольчатах, позволяют предположить, что отсутствие развития патологии ЖКТ у бессимптомных носителей может быть связано с отсутствием рецепторов для токсинов на незрелых энтероцитах, что имеет значение для понимания факта носительства токсин-образующих *C.difficile* у новорожденных детей. Однако последние данные показывают, что достаточное большое количество

рецепторов к токсинам *C.difficile* присутствуют на энтероцитах новорожденных свиней, что соответственно может вызвать заболевание. До сих пор не высказано каких-либо предположений, какие именно изменения происходят в рецепторах в зависимости от возраста.

Имеются данные, что *C.difficile* может служить причиной синдрома внезапной смерти новорожденных, возникающего в результате абсорбции токсинов в кишечнике, приводящей к развитию инфекционно-токсического шока.

Отдельные исследования позволяют предположить, тяжелые *C.difficile*-инфекции могут встречаться у детей раннего возраста. Например, *C.difficile* – псевдомембранозный колит был диагностирован при вскрытии у детей с болезнью Гиршпрунга. *C.difficile* - псевдомембранозный колит также был описан у новорожденного ребенка с некротическим энтероколитом.

Дети до года с бессимптомным носительством *C.difficile* тем не менее могут представлять резервуар для передачи заболевания другим, что было подтверждено выделением идентичных штаммов у членов одной семьи.

В 2003 году подобный эпидемический штамм был впервые выделен в Европе (Англии, Бельгии, Голландии, Франции). В 2007 году первый случай *C.difficile* - инфекции с эпидемическим штаммом 027 был зарегистрирован в Германии [43]. Учитывая повышенную опасность нового эпидемического штамма *C.difficile*, с октября 2007 года в Германии был введен порядок обязательной регистрации тяжело протекающей *C.difficile* - инфекции по соответствующим критериям диагностики [44].

Благодаря введению обязательной регистрации тяжело протекающей *C.difficile* - ассоциированной диареи (CDAD) удалось изучить реальную эпидемическую ситуацию *C.difficile* - инфекции в Германии [45]. За два года (01.01.2008–31.12.2009) Институтом Роберта Коха было признано 817 случаев *C.difficile* - инфекции, из которых 733 (89,7%) случая соответствовало только клиническим критериям тяжело протекающей CDAD; 114 (14%) случаев (тяжелых и нетяжелых) были вызваны риботипом 027 *C.difficile*. Средний возраст заболевших составил 76,4 года, при этом около 90% пациентов были старше 65 лет. В 441 (54%) случае *C.difficile* - инфекция была названа основной причиной смерти пациента.

В Украине частота ААД у детей составляет 15,5%, но увеличивается в 3 раза при носительстве токсигенных штаммов *C.difficile* [71]. При развитии ААД увеличивается длительность госпитализации пациентов, повышается риск развития осложнений и других нозокомиальных инфекций [72], при этом стоимость лечения может возрастать в 4 раза [73].

Данные литературы, касающиеся частоты выявления *C.difficile* весьма переменчивы. В конце прошлого столетия исследователи указывали на то, что частота ААД у госпитализированных пациентов находится в пределах от 3 до 29% в зависимости от основного заболевания, используемого антибактериального препарата и предрасполагающих факторов. Согласно Wirstom J et al. (2001), ААД развивается у 4,9% пациентов, получивших

антибиотикотерапию (3). По другим данным, ААД встречается приблизительно у 5-10% пациентов, получивших ампициллин, 10-25% - комбинацию амоксициллина с клавулановой кислотой, 15-20%-цефиксим и 25% - другие антибиотики [77].

*C.difficile* обнаружена в кишечнике у 80% здоровых детей до 1 года и только у 1–5% здоровых взрослых [37]. У госпитализированных взрослых частота кишечного носительства *C.difficile* достигает 20–40% [38]. Споры *C.difficile* высокоустойчивы не только к высыханию, но и к большинству спиртосодержащих дезинфекционных средств, выдерживают высокую температуру (до 115С), способны распространяться по воздуху с пылью. Вегетативные формы клостридий погибают под действием кислорода на открытых поверхностях в течение 15 минут, в то время как споры выживают до 5 месяцев. [39].

В 2005 годы по всему миру были зафиксированы необычно сильные вспышки этой инфекции. Самая сильная из них произошла среди пациентов одной из больниц в Квебеке, унеся жизни более 200 человек. (The Washington Post Inopressa.ru) [36].

Сама бактерия *C.difficile* давно встречается в больницах - чаще всего у пациентов, принимающих антибиотики. Антибиотики убивают микробов, защищающих от этой бактерии организм, и это позволяет ей размножаться. Такую инфекцию, однако, было легко в свою очередь вылечить другими антибиотиками. Как полагают эксперты, именно вследствие чрезмерного применения антибактериальных веществ и мог появиться более токсичный штамм.

В исследовании, проведенном в США, токсин В выявлен у 4,2% из 618 детей с диареей, что соответствовало частоте в контрольной группе. Однако в исследовании Туллуса с соавт. [40] диареи чаще отмечались у детей-носителей *C.difficile* в возрасте старше шести месяцев. Аналогичные результаты были отмечены в большинстве контролируемых исследований отделений интенсивной терапии: токсигенные штаммы *C.difficile* были выделены из кала 55% пациентов. При этом, патология ЖКТ, в том числе некротизирующий энтероколит, наблюдалась с одинаковой частотой в обеих группах токсин-положительных и токсин-отрицательных детей [36, 107].

С конца 70-х годов XX века *C.difficile* описана как причина антибиотик ассоциированной диареи после приема клиндамицина [47]. Позже в качестве антибиотиков, наиболее часто приводящих к развитию *C.difficile* - инфекции, были названы цефалоспорины 2-го и 3-го поколения, а также ампициллин. Новые наблюдения свидетельствуют о том, что *C.difficile* - инфекция может возникать после приема почти любого антибиотика. Считается, что у одного из ста пациентов, леченных антибиотиками, следует ожидать развития *C.difficile* - инфекции. Кроме того, ингибиторы протонной помпы и/или антагонисты H<sub>2</sub>-рецепторов в 2–3 раза увеличивают риск *C.difficile* - инфекции. У пациентов, принимающих нестероидные противовоспалительные препараты, *C.difficile* - инфекция возникает на 30% чаще [48].

Согласно данным немецкого федерального статистического агентства ([www.destatis.de](http://www.destatis.de)), частота выписных диагнозов «энтероколит, вызванный *C.difficile*» в 2006 году составила в Германии 97,5 случая на 100000 стационарных пациентов. В 2001 году этот показатель был почти в 10 раз ниже (10,6 на 100000 пациентов) [49]. Нарастающую тенденцию заболеваемости можно было бы отнести на счет улучшения лабораторной диагностики *C.difficile* - инфекции, в частности, благодаря широкому распространению иммуноферментного определения токсина *C.difficile* в пробах кала. Однако в последние годы наметилось также объективное изменение эпидемиологической ситуации с этой инфекцией.

По последним данным, обнаружен более вирулентный штамм *C.difficile* NAP I (North American pulsed-field gel electrophoresis assay), токсин которого в 16 раз активнее токсина А и в 23 раза — токсина В [50].

Исследования J. Pepin, N. Saheb, M.A. Coulombe et al. предполагают, что использование фторхинолонов в схемах лечения создает высокий риск развития нового штамма NAP I [51].

По данным автора Пацера М.В., Запорожского государственного медицинского университета, любой антибиотик способен вызвать диарею, ассоциированную с *C.difficile*. Так, интенсивная и в большинстве случаев комбинированная терапия полусинтетическими пенициллинами, аминогликозидами и цефалоспоридами 3-го поколения в условиях ОРИТ приводит к тому, что у 23% детей в течение 3 недель наблюдения возникают симптомы антибиотико-ассоциированной диареи (8% — тяжелые, 67% — среднетяжелые и 15% легкие диареи) [52].

По данным других исследователей, тяжелые колиты возникают у детей, которые находятся на химиотерапии, страдают болезнью Гиршпрунга, муковисцидозом или воспалительными заболеваниями кишечника. *C.difficile* может вызывать изменения в тонком кишечнике, образование отдаленных абсцессов и бактериемии [53,54].

Диагноз основывается на определении *C.difficile* или их токсинов в стуле пациентов с диареей или колитом, связанным с приемом антибиотиков. Токсины могут быть определены несколькими методами. Экспресс-диагностика занимает 24–48 часов. Во многих клинических лабораториях используют метод иммуноферментного анализа (ELISA) для определения токсина А или токсинов А+В. Большинство фирм-производителей, использующих метод ELISA, считают диагностическим порогом 1 нг/мл токсинов в стуле [55,56]. Превышение уровня токсина в стуле свидетельствует об опасности возникновения *C.difficile* - ассоциированной диареи. Нахождение обоих токсинов подтверждает положительный результат, поэтому рекомендуем определять токсины А+В одновременно. Культуральный метод по выявлению бацилл *C.difficile* в стуле не способен дифференцировать штаммы, продуцирующие токсины, от непродуцирующих. Интерпретация положительных результатов (выявление бацилл *C.difficile* или их токсинов) у детей должна дополняться клиническими симптомами диареи и

связью ее с приемом антибиотика при отсутствии других значимых этиологических факторов. При колоноскопии и сигмоскопии обнаруживают инфильтративные изменения стенки кишечника и мембраны, что свидетельствует о токсическом колите. Лейкоциты в фекалиях находят приблизительно у половины обследованных, скрытая или явная кровь также частое явление [57,53,54].

Первичный иммунный ответ на инфекцию развивается у 95% больных, но у 5–0% пациентов лечение бывает неудачным, и обычно на протяжении 1–2 недель терапии диарея возобновляется [56,57]. Такие пациенты нуждаются в повторном обследовании на токсины *C.difficile* в кале и повторное лечение. По мнению Пацера М.В, сохранение токсинов в стуле свидетельствует о хроническом течении болезни, а появление их после периода клинко-лабораторного благополучия — о рецидиве или суперинфекции [58,59].

Опыт клиники свидетельствует, что длительное назначение пробиотических препаратов на основе штаммов *Lactobacillus rhamnosus* R0011 с первых часов антибактериальной терапии и одновременно с антибиотиком снижает риск развития *C.difficile*-ассоциированной диареи как в условиях ОРИТ, так и в обычном стационаре в 6 раз [57,60].

В статье автора Шоп И.В. рассмотрены, что в настоящее время самым значимым энтеропатогеном, вызывающим ВБД, считается *C. difficile*, на долю которого приходится до 25% всех случаев ААД и практически все случаи псевдомембранозного колита.[61].

В проспективном годичном исследовании детей в Швеции, обследованных на широкий круг энтеропатогенов, *C.difficile* (цитотоксин В или токсигенные штаммы самого возбудителя) были найдены у 13% из 851 пациента, поступивших в стационар с диареей. Менее 1% детей в контрольной группе без диареи также имели положительную реакцию на *C.difficile*, при этом 59% из них принимали антибиотики в течение последнего месяца [108]. В амбулаторных условиях *C.difficile* выделяют у 7% больных с диареей и у 14,8% здоровых детей, причем обращает на себя внимание тот факт, что данный микроорганизм достоверно чаще обнаруживают у пациентов раннего возраста по сравнению с более старшими детьми, а среди тех, кто получал антибиотики, носителей *C.difficile* оказалось 22%.

Однако не всегда удается точно определить патоген, вызвавший диарею, в том числе и антибиотико-ассоциированную. Так, например, при обследовании 372 детей в возрасте с рождения до 3-х лет токсин В *C.difficile* был обнаружен у 6,7% больных, которым назначались антибактериальные препараты, и у 5% пациентов, не получавших антибиотики. Средний возраст детей, у которых реакция на токсин В *C.difficile* оказалась положительной, составил 18 месяцев. При этом 9 положительных пробах фекалий на токсин В из 25-ти одновременно были выделены другие возбудители: у 2 детей – ротавирус, у 4-астровирус, у 2-аденовирус и у 1 ребенка – *E.coli* O157:H7 [70].

В отчете Центра по Контролю и профилактике заболеваний Швеции было обращено внимание на увеличение заболеваемости, тяжести, и

бессимптомного носительства *C.difficile* в популяциях, в том числе среди детей и лиц, не принимающих антибиотиков [109]. Исследовались пациенты в возрасте от 6 месяцев. Почти половина больных была в возрасте до 18 лет. Из всех обследованных только 65% применяли антибактериальные препараты в течение последних 3-х месяцев, из них у 3% отмечалось тяжелое течение заболевания, потребовавшее госпитализации [70].

### **1.3 Диагностика *C.difficile*-инфекции у детей**

Совершенствование методов диагностики имеет важное значение для изучения *C.difficile* - инфекции у детей. Стандартная диагностика *C.difficile*-инфекции у детей регламентирована ВОЗ и Обществом эпидемиологии США в 1995 году, согласно которым рекомендуется обязательное тестирование фекалий младенцев в возрасте до 1 года на токсины А и В *C.difficile*. Обновленный сборник рекомендаций опубликован в 2008 году, в котором подчеркивается высокий уровень бессимптомного носительства токсигенных штаммов *C.difficile*. Также в этом документе указывается на необходимость обязательного тестирования на токсины А и В *C.difficile* детей первого года жизни с диареей [22,25,39].

В настоящее время диагностические тесты для выявления *C.difficile* в кале включает анализ кала на токсин А и В, посев культуры и гистологические биоптатов, латекс, ИФА [1,4,6,12,47-49,80].

Рекомендуется тестирование на *C.difficile* следует проводить у детей в возрасте 1-2 лет с диареей и после применения антибиотиков, особенно после исключения более распространенных возбудителей. У детей, не получавших антибиотики, культуральное обследование кала на *C.difficile* должно включаться в дополнение к другим исследованиям, так в случаях не связанных с применением антибиотиков, *C.difficile*-инфекции составляет 5-9% в этиологической структуре.

Дети, старше двух лет с гемоколитом и энтероколитом подлежат обследованию, поскольку *C.difficile*-инфекция выявляется и у детей, не получавших антибиотики [17,21,97].

Материалом для лабораторного исследования являются образцы свежего кала. Минимальное количество материала составляет 5 мл (5г), рекомендуемое – 10-20 мл образцы должны транспортироваться в герметичных пластиковых или стеклянных контейнерах. Хранить образцы кала можно до 2 суток при температуре не выше 5°C. Для обнаружения токсина в культуре клеток образцы могут хранить до 3 суток. Для более длительного хранения образцы должны быть заморожены при температуре – 70°C. Однако замораживание до температуры ниже 20°C значительно снижает цитотоксическую активность [2,69]. Для проведения реакции латекс – агглютинации образцы кала замораживаться не должны. Культуральное исследование целесообразно проводить в течение 2 ч с момента получения материала. При необходимости образцы могут быть помещены в специальные транспортные среды для анаэробов или в рефрижератор, но следует

учитывать, что это резко снижает количество жизнеспособных вегетативных форм возбудителя, хотя споры *C.difficile* могут сохранять жизнеспособность в течение нескольких суток [2].

Первым методом диагностики *C.difficile*-инфекции был цитопатогенный тест. Заболевание у человека вызывают только токсигенные штаммы возбудителя, поэтому наиболее достоверным методом подтверждения диагноза *C.difficile*-инфекции служит обнаружение токсинов. Большинство штаммов *C.difficile* продуцируют либо оба токсина (А и В), либо являются нетоксигенными [2,6,10,11]. Значительно повышает специфичность данного метода одновременное проведение реакции нейтрализации токсина специфическим антитоксином [2,6,8,11,12].

В наборы тест-системы для проведения цитопатогенного теста и реакции нейтрализации цитотоксина *C.difficile* входят микропланшеты с культурой клеток определенной линии (фибробласты человека), специфический антитоксин, буфер и другие реактивы, необходимые для реакции нейтрализации [2].

Цитопатогенный тест и реакция нейтрализации цитотоксина проводятся после получения бесклеточного супернатанта фекалий, которые смешивают с буфером, добавляют к культуре клеток и инкубируют. Одновременно инкубируют культуру клеток с добавлением антитоксина, представляющего собой специфические токсиннейтрализующие антитела. Результат оценивают через 4,24 и 48 часов. Наиболее часто положительный результат наблюдается уже через 24 ч. Результат исследования считается положительным, если изменения формы клеток регистрируется в лунках без специфических токсиннейтрализующих антител и отсутствует в лунках, содержащих специфический антитоксин.

Данный метод обладает очень высокой специфичностью, поскольку антитоксин нейтрализует цитотоксический эффект, опосредованный любым из двух токсинов, продуцируемых *C.difficile*. Чувствительность данного метода составляет от 67 до 100% [17,64,68] и может варьировать в зависимости от способа центрифугирования клинического материала, клеточной линии, субъективности оценки микробиологом цитопатического эффекта, инактивации токсина В в процессе хранения и подготовки образцов [2].

Недостатки метода считаются высокая стоимость, необходимость специального оборудования для поддержания культуры тканей, длительность исследования (до 2 сут) и отсутствие стандартизации. По чувствительности он уступает культуральному исследованию [2]. По данным различных исследований, цитопатогенный тест и реакция нейтрализации токсина в культуре клеток дают отрицательные результаты у 15-38% пациентов с подтвержденными антибиотик – ассоциированными диареей и колитом.

Учитывая вышеизложенные недостатки, Общество эпидемиологических ассоциаций рекомендует использовать этот метод в сочетании с бактериологическим исследованием в связи с большей диагностической чувствительностью культурального метода [31-34].

Культуральный метод в сочетании с тестированием выделенных штаммов на токсигенность является надежным методом диагностики *C.difficile*-инфекции. Несмотря на длительность исследования, около 2-3 суток, этот метод обладает более высокой чувствительностью и равнозначной специфичностью по сравнению с цитопатогенным тестом [31-34].

Бактериологический (культуральный) метод исследования остается неизменным как для клинической диагностики инфекции *C.difficile*, так для эпидемиологических исследований. Во многих лабораториях он является самым надежным и наиболее широко используемым методом диагностики *C.difficile*-инфекции, обладающим высокой чувствительностью [80].

Для культурально исследования образцы кала непосредственно инокулируются на среду ССФА, содержащую цефокситин, циклосерин и фруктозу. Затем инкубируются в анаэробных условиях при температуре 35-37°C в течение 18-24ч. *C.difficile* образует бело - желтые колонии диаметром 2-4мм, плоские, округлой или неправильной формы, с неровными или ризоидным краем, матовые, не образующие зоны гемолиза. Рост *C.difficile* сопровождается появлением характерного запаха, подобного запаху р-крезола или лошадиного помета. Для выделения возбудителя могут использоваться и другие питательные среды, например агара с циклосерином и маннитолом, кровяного агара с циклосерином и маннитолом, однако данные среды не имеют существенных преимуществ перед средой ССФА [2].

*C.difficile* может быть идентифицирована на основании характерной морфологии колоний, результатов окраски по Граму и специфического запаха. Окончательная идентификация возбудителя основана на выявлении уникальных продуктов метаболизма методом газожидкостной хроматографии и определении специфических биохимических свойств, характерных для данного возбудителя.

Культуральный метод не может использоваться в качестве самостоятельного метода диагностики болезней, обусловленных *C.difficile*. Штаммы *C.difficile* должны дополнительно тестироваться на токсинообразование *in vitro*. Для этого отбирают несколько типичных колоний, которые культивируют в сердечно – мозговом бульоне при температуре 35-37°C в анаэробных условиях 24 часа. Далее фильтраты бульонной культуры тестируют на наличие токсинов *C.difficile*.

Однако большинство лабораторий в России и в Казахстане не имеют оборудования для дополнительно тестирования для дополнительно тестирования *C.difficile* на токсинообразование. Это приводит к гипердиагностике *C.difficile* – инфекции, так как в ряде стационаров числа нетоксигенных штаммов *C.difficile*, выделяемых от больных от больных, достигает 20-24% [1,2,4,6,11,12].

В качестве альтернативы культуральному методу был предложен метод латекс-агглютинации, основанный на связывании специфического *C.difficile* токсина А со специфическими антителами, фиксированными на частицах латекса. Однако, после начала его широкого применения было отмечено, что

положительную реакцию дают токсигенные, так и нетоксигенные штаммы *C.difficile* за счет распознавания глутаматдегидрогеназы – фермента, продуцируемого и некоторыми другими видами микроорганизмов. По данным сравнительных исследований, у пациентов с манифестными формами *C.difficile* - инфекции чувствительность метода латекс-агглютинации колеблется от 56 до 68%, а специфичность от 94 до 96% [43,44,47]. Перечисленные выше недостатки позволяют использовать этот метод только в скрининговых исследованиях.

В последнее время широкое распространение получило определение токсинов *C.difficile* в образцах стула с помощью ИФА. Преимуществами метода ИФА являются: простота использования, быстрота получения результатов (2-3ч), высокая специфичность, невысокая стоимость. Относительно новый и перспективный метод диагностики болезней, вызванных *C.difficile* - полимеразная цепная реакция [11,12]. Рядом авторов описано успешное применение ПЦР для выявления токсигенных штаммов *C.difficile* [11,12].

## **2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

### **2.1 Клиническая характеристика пациентов**

Исследования проводились на базе ГККП ГДИБ г. Астана (главный врач Ажигулов Ж.К.) в отделении инвазивных диарей.

Исследования проводились в два этапа. Первый этап включал в себя ретроспективный поперечный анализ историй болезней детей в возрасте от 0 до 14 лет, за 2010-2014 годы. Для качественной и количественной оценки антибактериальной терапии была внедрена антибактериальная карта пациента. На основании анализа антибактериальной карты проводился фармакологический мониторинг используемых антибиотиков.

В результате проведенной работы установлено, что в течение 2010 - 2014гг. в отделение инвазивных диарей ГДИБ г. Астана с диагнозом: «Инвазивная диарея» было госпитализировано и пролечено – 11290 детей.

Мониторинг данной патологии за исследуемый период свидетельствует о стабильно высоком уровне заболеваемости среди детей раннего возраста. Максимальный подъем заболеваемости во всех возрастных группах отмечается в 2010 году. Основная масса заболевших поступает на вторые и третьи сутки заболевания, и составляют от 58,2 до 62,8% в отличие от других показателей обращения за стационарной помощью.

Необходимо отметить, что около 2% детей после выписки из стационара поступают повторно. Количество повторно поступающих по сроку возвращения в стационар широко варьируют, наибольшее количество пациентов, поступает ежегодно повторно после выписки из стационара на третьи сутки.

Второй этап работы включал в себя проспективное, когортное исследование в течение 2014- 2015г. Для изучения факторов, способствующих реализации ААД и его клинических особенностей. Под наблюдением находилось 203 детей в возрасте от 0 месяцев до 14 лет с инвазивной формой диареи. Для подтверждения диареи вызванной *S.difficile* нами использовалась современная технология метод экспресс ПЦР-диагностика «GenomEra» для определения ДНК (биоматериал кал) на автоматическом встроенном ПЦР анализаторе с специально разработанными тест - чипами с нанесенными реагентами системы GenomEra от Abacus Diagnostica.

Антибиотик – ассоциированная диарея определялась как 3 и более эпизода неоформленного стула в течение 2-х или более последовательных дней, возникших на фоне применения антибактериальных средств или в течение восьми недель после их отмены, если не выявлена другая причина (ВОЗ, 2002г.). Наблюдение за больными велось в отделении инвазивной диареи (зав. отделением Ярмамбетов К.Б.).

При поступлении больного в стационар фиксировались следующие данные: фамилия, имя, отчество, возраст, дата госпитализации, дата выписки, номер истории болезни, название отделения, диагноз при поступлении, клинический диагноз, анамнез жизни, анамнез настоящего заболевания, антибактериальная терапия как на до госпитальном этапе, так и в период

пребывания в стационаре (антибиотик, сроки применения, путь введения, дозы).

При характеристике диареи оценивались: характер диареи на догоспитальном этапе (секреторная, осмотическая, инвазивная, гемоколит), кишечное кровотечение, кратность стула, сроки появления (Рекомендовано Экспертным советом РГП на ПХВ «Республиканский центр развития здравоохранения» Министерства здравоохранения и социального развития Республики Казахстан от «12» декабря 2014 года протокол № 9 клинический протокол диагностики и лечения диарея у детей. Затяжная диарея).

Ежедневно у больных определялись следующие показатели: температура тела, симптомы интоксикации, кожные покровы (чистые, сыпь), гемодинамические нарушения, катаральные явления, кашель (сухой, влажный), одышка/ЧДД, аускультативные изменения в легких, ЧСС, шум в сердце, абдоминальный синдром, локализация, явления метеоризма, болезненность при пальпации живота, локализация, стул (кратность, консистенция, примеси), наличие или отсутствие кишечного кровотечения, диурез, неврологическая симптоматика, другие клинические проявления, результаты УЗИ органов брюшной полости, почек, УЗИ кишечника.

При характеристике топики поражения ЖКТ при ААД было выделено 2 основные формы: энтероколит и гемоколит. У 9 детей (45%) ААД протекала с явлениями энтероколита, у 10 (50%) – гемоколит.

Тяжесть ААД оценивалась по выраженности и длительности инфекционного токсикоза, эксикоза, рвоты, диарейного синдрома и т.п.

Подострое начало заболевания отмечалось у 60% пациентов, которое протекало преимущественно в среднетяжелой форме (85%). Практически у всех пациентов отмечалось наличие слабости и снижения аппетита на фоне субфебрильной (55%) и фебрильной (свыше 30%) температуры.

## **2.2 Методы исследования**

Этиологическая расшифровка диареи у всех больных проводилась на основании учета эпидемиологических данных, анамнеза заболевания и комплекса бактериологических, серологических данных.

Лабораторные исследования включали в себя общий анализ крови, общий анализ мочи, биохимический анализ крови, копрология.

Для выявления токсинов А и В *S. diffcile* проводился метод экспресс ПЦР-диагностика «GenomEra» для определения ДНК (биоматериал кал) на автоматическом встроенном ПЦР анализаторе с специально разработанными тест - чипами с нанесенными реагентами системы GenomEra от Abacus Diagnostica.

Экспресс ПЦР-анализатор GenomEra CDX™ представляет собой оборудование, предназначенное для молекулярного анализа микроорганизмов. Анализатор состоит из встроенного термоблока для проведения реакций и флуорометра с разрешением во времени. Оборудование используется для анализа готовых к эксплуатации тестовых чипов GenomEra CDX™ для

аналита, разработанные для определения специфической микробной ДНК в различных матрицах образца, таких как микробные культуры или их образцы на медицинских тампонах. Время определения одного микроорганизма составляет 50 минут. В начале анализа, тестовые чипы подвергаются герметизации для минимизации риска перекрестного заражения. Затем, бактериальные клетки, содержащиеся в образце, разрушаются под действием температуры для высвобождения их генетического материала для реакции.



Рисунок 1- Характеристика ПЦР – аппарата GENOMERA CDX™

В начале анализа, тестовые чипы подвергаются герметизации для минимизации риска перекрестного заражения. Затем, бактериальные клетки, содержащиеся в образце, разрушаются под действием температуры для высвобождения их генетического материала для реакции.

Далее, специфические последовательности усиливаются, и, в итоге, определяются в конце анализа. Весь ход анализа полностью автоматизирован начиная с герметизации тестовых чипов и заканчивая выводением отчета о результатах.

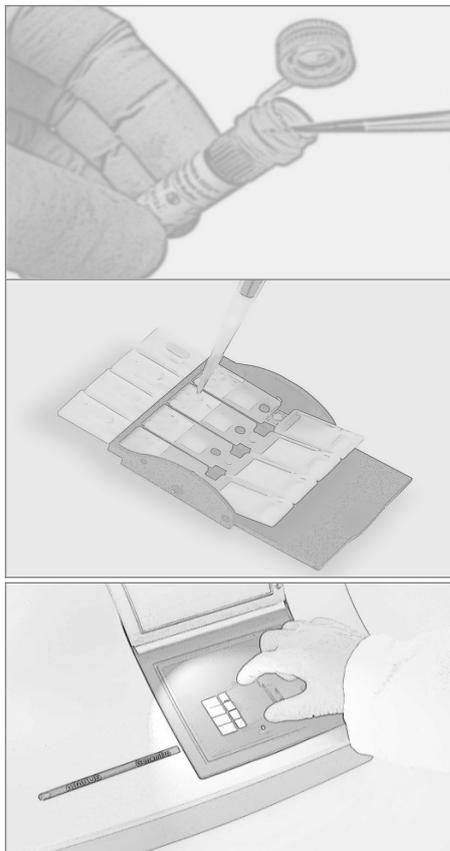




Рисунок 2- Прибор GenomEra CDX для определения специфической микробной ДНК *S.difficile*.

Преимущества экспресс ПЦР - анализатора GenomEra CDX от ABACUS Diagnostica:

- Процесс проб подготовки не требует выделения ДНК;
- Короткие сроки идентификации возбудителя;
- Биобезопасен для исследователя, не требует специальных условий для установки анализатора;
- Выводит качественный и количественный анализ результатов.



Тщательно перемешивается образец стула, затем при помощи специальной ложечки loorful собирается 1мл образца стула и образец помещается в пробирку GenomERA Z-tube с буфером. Смешиваем в Вортексе в течение 5 минут.

Подготавливаем все образцы перед следующим этапом. Убеждаемся, что прибор находится в режиме ожидания.

При помощи пипетки закапывали 35 μл образца в тестовый чип (техника обратного пипетирования) и запускали анализ 4 чипов при необходимости, для заполнения пустых ячеек использовали вспомогательные

Рисунок 3 - Техника определения *S.difficile*

**Критерии включения пациентов для исследования:**

1. Наличие диареи (инвазивной, гемоколит)
2. Дети многократно получавшие антибиотики амбулаторно и в стационаре (более трёх раз в год)
3. Длительно находящиеся дети в стационаре (более семи дней)
4. Неэффективность антибактериальной терапии

**Критерии исключения пациентов из исследования:**

1. Наличие диареи (секреторной, без гемоколита)
2. Дети, не получавшие или однократно получавшие антибиотики амбулаторно или в стационаре.
3. Дети, находящиеся в стационаре (менее семи дней)
4. Дети старше 14 лет.

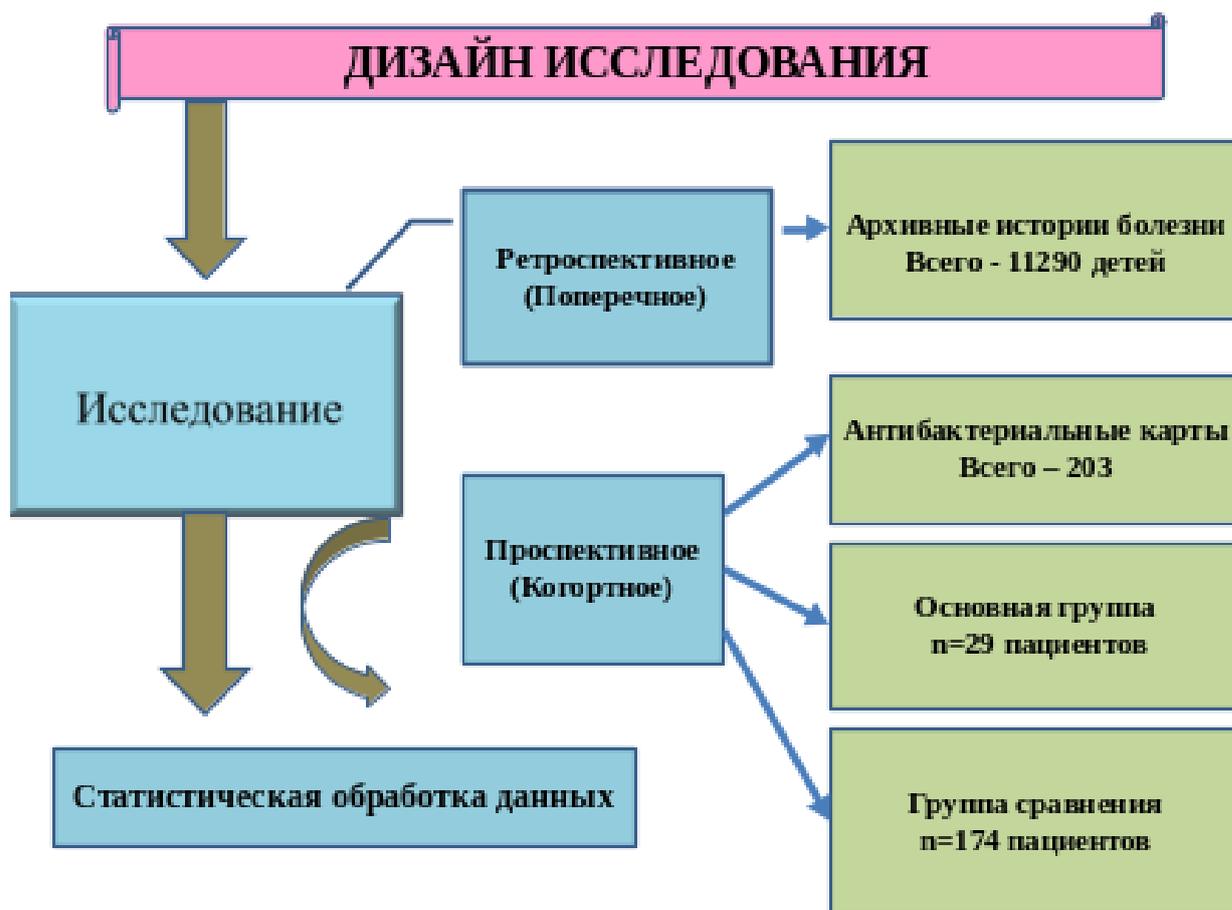
Возрастной структуре обследованных больных с ААД основную массу составили дети в возрасте от 0 до 3 лет – 20 (68,96%). В возрастной группе дети с диагнозом ААД составили: от 4 до 7 лет - 3 (10,34%), от 8 до 10 лет - 4 (13,79%), от 10 до 14 лет - 2 (6,89%). В возрастных группах существенных различий в численности, заболевших не выявлено (таблица 2).

Таблица 2 - Возрастная структура пациентов исследуемых на *S.difficile*

Возраст	Основная группа n=29	Группа сравнения n=174
от 0 мес. до 1 года	12 (41,37%)	49 (28,16%)
от 1года до 3 лет	8 (27,59%)	48 (27,64%)
от 4 лет до 7 лет	3 (10,34%)	31 (18,01%)
от 8 лет до 10 лет	4 (13,79%)	22 (12,61%)
от 10 лет до 14 лет	2 (6,89%)	24 (13,51%)

С учетом того, что среди обследуемых детей преобладали дети в возрасте от 0 до 3 лет, для корректного проведения сравнительной характеристики исследуемых показателей нами были сформированы 2 сопоставимые группы: основная и группа сравнения. В основную группу вошли дети от 0 до 3 лет соответствующие критериям включения и выделившие *S.difficile*, количество которых составило 20 детей. В группу сравнения составили дети в возрасте от 0 до 3 лет в количестве 97 пациентов соответствующие критериям включения.

## 2.3 Дизайн исследования



## 2.4 Статистический анализ полученных данных

Статистическую обработку полученных результатов проводили статистическим методом с использованием программы Microsoft Excel, Statistika 6. В работе использовались следующие параметрические методы: описательная статистика - среднее значение, стандартное отклонение, использовали t-критерий Стьюдента.

### 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

#### 3.1 Этиологическая и возрастная структура диарей у детей, пролеченных в отделении инвазивных диарей в ГККП ГДИБ за 2010-2014гг.

2010-2014гг. в отделение инвазивных диарей ГДИБ г. Астана с диагнозом: «Инвазивная диарея» было госпитализировано и пролечено – 11290 детей (таблица 3).

Таблица 3 - Возрастная структура пациентов с инвазивной диареей за 2010-2014гг.

Возраст	2010г.		2011г.		2012г.		2013г.		2014г.	
	абс	%								
от 0 мес до 1 года	821	41,0	898	40,6	801	36,2	867	37,9	956	37,1
от 1 года до 3 лет	759	38	1137	51,4	1200	54,1	1177	51	1400	54,3
от 3 лет до 6 лет	375	19	135	6,1	151	6,8	180	7,9	173	6,7
от 7 лет до 14 лет	43	2	42	1,9	63	2,9	65	2,0	48	1,9
Всего:	1998	100	2213	100	2213	100	2289	100	2577	100

Как представлено в таблице 3 заболеваемость диареей среди детей в возрасте от 0 до 3 лет от общего количества госпитализированных детей в возрасте от 0 до 14 лет составило в 2010 году – 79%; 2011 году – 92%; 2012 году – 90%; 2013 году – 89%; 2014 году – 91%. Таким образом, мониторинг показателей инвазивных форм диарей за 2010-2014гг. свидетельствует о стабильно высоком уровне заболеваемости среди детей раннего возраста (0-3года) – среднестатистический показатель заболеваемости за наблюдаемый период составил – 88,2%. Максимальный подъем заболеваемости во всех возрастных группах отмечается в 2010 году.

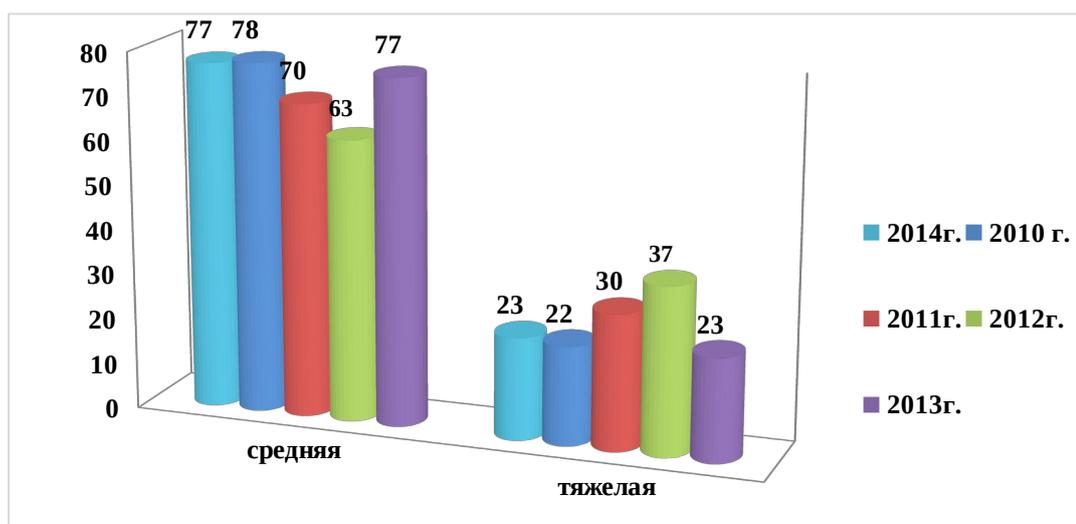


Рисунок 4 - Распределение больных по тяжести состояния при поступлении

Как представлено на рисунке 4 состояние пациентов поступивших в стационар были средней степени тяжести либо тяжелое.

При анализе клинической картины заболевания нами выявлены некоторые особенности в зависимости от возраста. У детей первого года жизни (47%) заболевание начиналось с появления рвоты и диареи практически одновременно, у детей второго года жизни заболевание часто начиналось с появления многократной рвоты (92%) и присоединения жидкого стула (68%), в то время как у детей 3-6 лет рвота в начале заболевания отмечалась реже (у 63%), а в клинике преобладали симптомы интоксикации и жидкий стул. Повышение температуры в начале заболевания одинаково часто отмечалось во всех возрастных группах. Постепенное начало заболевания в 58,3% отмечено у детей в возрасте до 6 месяцев, с незначительного ухудшения самочувствия (47%), частых срыгивании (67%), отказа от еды (28%), в дальнейшем появления вялости (82%). Диарейный синдром присоединялся значительно позже, в период разгара заболевания.

Основная масса заболевших (рисунок 5) поступает на вторые и третьи сутки заболевания, и составляют от 58,2 до 62,8 % в отличие от других показателей обращения за стационарной помощью.

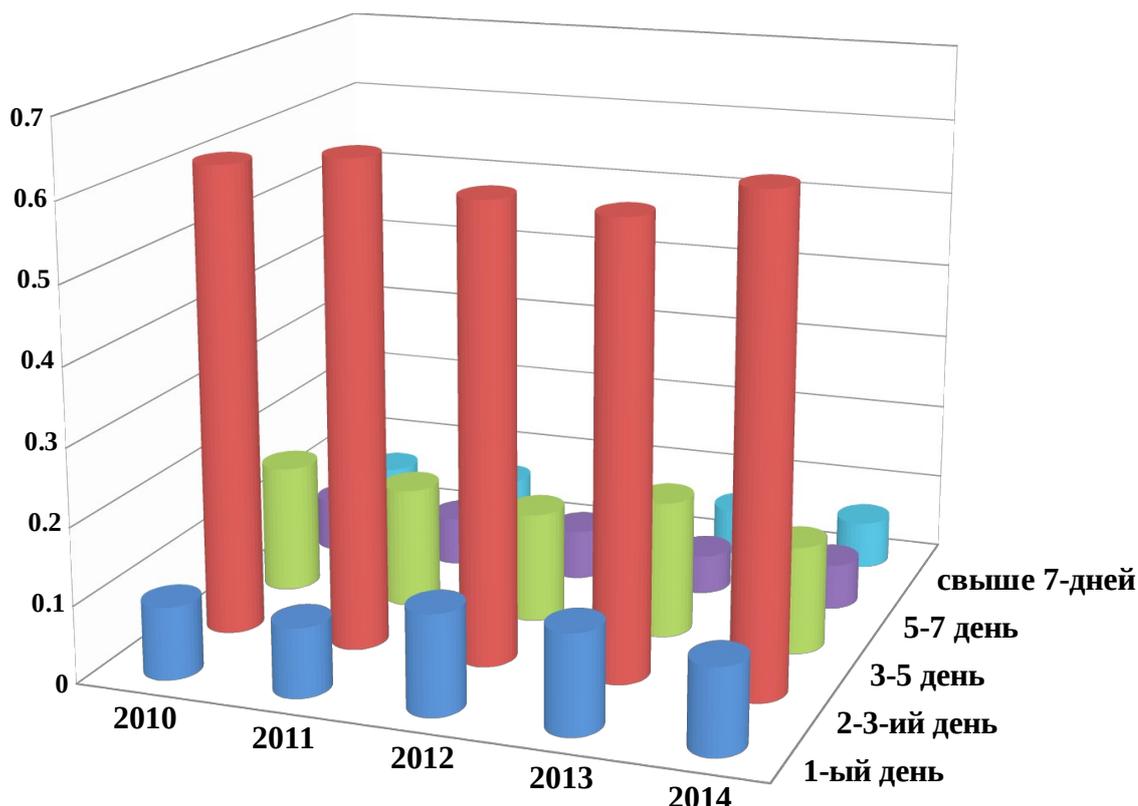


Рисунок 5 - Сроки госпитализации в стационар с момента заболевания

Таблица 4 - Количество повторно госпитализированных с инвазивной диареей за 2010-2014гг.

	2010год	2011год	2012год	2013год	2014год
В 1-ые сутки	2-0,13%	8-0,36%	10-0,45%	7-0,3%	7-0,27%
На 2-е сутки	6-0,4%	4-0,18%	8-0,36%	11-0,48%	10-0,38%
На 3-и сутки	14-0,9%	10-0,45%	7-0,34%	13-0,56%	13-0,5%
На 4-е сутки	5-0,3%	9-0,4%	3-0,13%	12-0,52%	7-0,27%
На 5-е сутки	6-0,45%	6-0,27%	8-0,36%	5-0,21%	4-0,15%
На 6-е сутки	3-0,2%	3-0,13%	4-0,18%	4-0,17%	4-0,15%
На 7-е сутки	4-0,4%	3-0,13%	3-0,13%	4-0,17%	1-0,03%
Св. 7 суток	2-0,13%	1-0,04%	2-0,09%	5-0,21%	2-0,07%
Всего:	42 (2,91)	44 (1,96%)	45 (2,03%)	61 (2,66%)	48 (1,86%)

Необходимо отметить, что около 2% детей после выписки из стационара поступают повторно. Количество повторно поступающих по сроку возвращения в стационар широко варьируют. Как представлено в таблице 4, наибольшее количество пациентов, поступает ежегодно повторно после выписки из стационара на третьи сутки. Причем отмечается тенденция к устойчивому повторному поступлению пациентов из года в год именно первые трое суток, начиная с 2012 года первые сутки 0,45%, вторые – 0,36%, третьи – 0,34%. В 2013 году первые сутки 0,3%, вторые – 0,48%, третьи – 0,56%. В 2014 году первые сутки 0,27%, вторые – 0,38%, третьи – 0,5%.

Как указано в таблице 5 среди основных нозологических форм инвазивных диарей по типам возбудителей отмечалась следующее. В 2014 году заболеваемость сальмонеллезом снизилась – на 0,8% и составила 3,7% от всех пролеченных случаев, в 2013 году – 4,41% от всех пролеченных больных, в 2012 году – 108 больных (5,0%), в 2011 году – 105 больных (5,3%), 2010 году – 112 больных (6,48%). В целом мониторинг заболеваемости сальмонеллезом указывает на тенденцию к снижению.

В 2014 году отмечается снижение заболеваемости дизентерией в 3 раза в сравнении в 2010 годом (в 2014 году – 0,7%, в 2013 году -3,3%, в 2012 году – 2,2%, в 2011 году 3,1%, 2010 году – 2,4%). Необходимо отметить, что спорадические случаи дизентерии наблюдались в поздние осенние и зимние месяцы.

Отмечается снижение заболеваемости эшерихиозом в 2014 году 1,6 раза в сравнении с 2010 годом.

В нозологической структуре на первом месте среди инвазивных форм ОКИ, находятся возбудители УПФ и составляют 41,67% - 45,61%. Необходимо отметить, что увеличилось количество больных с бактериальными пищевыми отравлениями.

Таблица 5 - Анализ нозологических форм с инвазивной диарей за 2010-2014гг.

Нозологическая форма	Количество пролеченных больных										Средне-стат. показатель
	2010г.		2011г.		2012г.		2013г.		2014г.		
	абс	%	абс	%	абс	%	абс	%	абс	%	
Сальмонеллез	112	6,48	105	5,30	108	5,0	99	4,41	90	3,70	4,9
Шигеллез	42	2,43	62	3,13	48	2,22	74	3,30	19	0,78	2,3
Эшерихиоз	11	0,63	7	0,35	17	0,78	92	4,10	8	0,32	1,2
ОКИ, вызванный УПФ	730	42,29	842	42,56	948	43,94	934	41,67	1107	45,61	43,2
ОКИ не уточненной этиологии	826	47,85	953	48,17	1032	47,84	1023	45,64	1197	49,32	47,7
Функциональное нарушение питания	4	0,23	9	0,45	4	0,18	19	0,84	6	0,24	0,4
Всего:	1726	100	1978	100	2157	100	2241	100	2427	100	100

В 2014 году заболеваемость сальмонеллезом незначительно снизилась – на 0,8% и составила 3,49% от всех пролеченных больных в отделении, в 2013 году – 4,3% от всех пролеченных больных, в 2012 году – 4,7%, в 2011 году – 4,7%, в 2010 году – 5,7%) (таблица 6).

Таблица 6 - Анализ основных нозологических форм инвазивных диарей по типам возбудителей сальмонеллез за 2010-2014гг.

Сальмонеллез	2010г.		2011г.		2012г.		2013г.		2014г.	
	Кол	%	Кол	%	Кол	%	Кол	%	Кол	%
Salm enteritidis	61	50,8	85	80,9	93	85,3	72	72	64	71,1
Salm «А»	19	20,7	2	0,09	1	1,9	1	1	5	5,5
Salm «В»	32	28,5	14	18,8	7	6,4	15	16	14	15,5
Salm «С»	-	-	4	0,18	7	6,4	11	11	7	7,9
Всего	112	100	105	100	108	100	99	100	90	100

В количественном и процентном отношении заболеваемость дизентерией в 2014 году значительно снизилась – на 55 больных (на 2,5%), и

составил в 2014 году -19 больных (0,7%); (в 2013 году - на 26 больных (на 1,1%), в 2012 году-2,1%, в 2011 году-2,8%, в 2010 году-2,1%) (таблица 7).

Таблица 7 - Анализ основных нозологических форм инвазивных диарей по типам возбудителей шигеллез за 2010-2014гг.

Шигеллез	2010г.		2011г.		2012г.		2013г.		2014г.	
	абс	%	абс	%	абс	%	абс	%	абс	%
Флекснера	54	62,5	532	100	45	92,8	48	64,8	17	89,4
Зонне	-	37,5	-	-	3	8,2	26	35,2	2	10,6
Всего	54	100	532	100	48	100	74	100	19	100

Необходимо отметить, что спорадически случаи дизентерии наблюдались в поздние осенние и зимние месяцы.

Таблица 8 - Анализ основных нозологических форм инвазивных диарей по типам возбудителей эшерихиоз за 2010-2014гг.

Эшерихиоз		2010г.		2011г.		2012г.		2013г.		2014г.	
		абс	%	абс	%	абс	%	абс	%	абс	%
Энтероинвазивная	0-143			0	0	5	29,4	10	10,8	1	12,5
	0-124			3	27,2 7	3	42,8	10	10,8	1	12,5
	0-125			3	27,2 7	3	42,8	10	10,8	1	12,5
	0-151			6	54,5	1	5,9	21	22,8	3	37,5
Энтеропатогенная	0-55			-	-	1	5,9	4	4,3	-	%
	0-18			-	-	7	41,1	3	3,2	1	12,5
	0-44			-	-					1	12,5
	0-26			-	-	3	17,6	11	11,9	-	
	0-111			-	-	9		2	2,17	-	
Энтеропатогенная	0-20			-	-	17		15	16,3		
	0-25			-	-	-		6	6,5		

В 2014 году резко снижение количество больных с эшерихиозом и составляет всего 8 больных – снизилось в сравнении на 3,7% или на 84 случая

в абсолютных цифрах (в 2013 году пролечено с эшерихиозом 92 больных (4,1%), в 2012 году - 0,7%, в 2011 году - 0,3, тогда как в 2010 году - 0,5%). Превалировал в основном энтероинвазивная кишечная палочка (таблица 8).

Таблица 9 - Анализ основных нозологических форм инвазивных диарей, вызванные УПФ за 2010-2014гг.

	2010г.		2011г.		2012г.		2013г.		2014г.	
	абс	%								
Enterobacter	291	39,86	241	28,62	201	21,20	179	19,16	258	23,30
Citrobacter	72	9,86	176	20,90	249	26,26	241	25,80	237	21,40
Klebsiella	158	21,64	168	19,95	96	10,12	148	15,84	142	12,82
Proteus	108	14,79	127	15,08	214	22,57	154	16,48	213	19,24
Staphylococcus	23	3,15	22	2,61	14	1,47	13	1,39	22	1,98
Pseudomonas aeruginosa	7	0,95	6	0,71	10	1,05	6	0,64	7	0,63
Morganella	9	1,23	12	1,42	6	0,63	1	0,10	9	0,81
Providencia	9	1,23	12	1,42	11	1,16	6	0,64	16	1,44
Serratia	2	0,27	2	0,23	1	0,10	2	0,21	3	0,27
Edwardsiella	-	-	16	1,90	30	3,16	14,5	1,55	21	1,89
Esherihia	10	1,36	7	0,83	22	2,32	45	4,81	16	1,44
Campylobacter	-	-	1	0,11	1	0,10	1	0,10	1	0,09
Pantoella			-	-	28	2,95	41	4,38	84	7,58
Всего:	730	100	842	100	948	100	934	100	1107	100

Острые кишечные инфекции, вызванные условно-патогенной флорой, составляют основную группу нозологии, пролеченных в кишечном отделении (таблица 9).

Из возбудителей группы условно – патогенной флоры на первом месте по высеваемости в 2014 году – ОКИ, вызванные Enterobacter - 23,30%, в сравнении с 2013 году - повысилось на 7,7%. На втором месте ОКИ, вызванные Citrobacter – 21,40%, практически на уровне 2013г показателей (в 2013 году-25,80%, в 2012 году-26,26%, в 2011 году - 20,90%, в 2010 году-9,86%).

Значительно увеличилось количество случаев Proteus в 2014 году - на 5,8%, Pantoella – на 3,9%, Pseudomonas aeruginosa - на 0,08%, Edwardsiella - на 0,64%, Providencia - на 0,88%.

Ежегодно выявляется случаи Campylobacter – в 2014 году два случая.

Таблица 10 - Преморбидный фон и сопутствующая патология у детей со среднетяжелой и тяжелой формой ОКИ за 2010-2014гг.

		2010г.		2011г.		2012г.		2013г.		2014г.	
		абс	%	абс	%	абс	%	абс	%	абс	%
Анемия	Всего	88 2	44,1	397	18	758	34,2	871	38,4	758	29,4
	I ст	70 5	79,9	337	84,8	669	85,6	793	91	646	85,2
	II ст	15 1	17,1	51	13	93	12,2	72	8,2	104	13,7
	III ст	26	3,0	9	2,2	13	2,2	6	0,8	8	1,1
Гипотрофия	Всего	96	4,8	131	5,9	141	6,3	92	4,06	77	2,9
	I ст	81	84,3	98	74,8	116	82,8	72	78,2	56	72,7
	II ст	11	11,4	22	22,1	24	17	20	21,8	20	26
	III ст	4	4,3	4	3,1	1	0,1	0	0	1	1,3
Паратрофия	Всего	17 0	8,7	188	8,5	121	5,3	91	4,01	42	1,63
	I ст	13 2	77,6	128	68	101	84,8	86	94,5	33	78,5
	II ст	30	17,6	53	28,2	10	9,8	5	5,5	9	21,5
	III ст	8	4,8	5	3,8	10	9,8	0	0	0	0
Тимомегалия	Всего	17 4	8,5	116	5	89	4	94	4,15	80	3,1
	I ст	12 3	70,6	86	77,2	69	77,5	71	75,5	62	77,5
	II ст	41	23,5	29	26,3	19	21,3	23	24,5	18	22,5
	III ст	10	7	1	3,5	2	1,2	0	0	0	0
ЗФР		23 6	275	296	13,3	382	17,2	722	12	236	9,15
Аллергический дерматит		89	64	59	2,6	6	6	95	4,2	89	3,4
ДЖВП		22	16	20	0,9	27	1,2	12	0,5	22	0,8
Бронхиальная астма		1	-	1	0,04	2	0,09	3	0,13	1	0,03
Судорожный синдром		96	57	56	2,5	92	4,1	74	3,3	96	3,7
Гидроцефальный синдром		18	17	30	1,3	26		20	0,9	18	0,7
Гипертензионный синдром			12	12	0,5	8	0,36	6	0,26		0
ВПС		29	24	18	0,8	21	0,9	17	0,75	29	1,12
ЭКД		2	3	14	0,6	9	0,4	3	0,13	2	0,08
Афтозный стоматит		22	6	12	0,5	10	0,45	17	0,75	22	0,8
Рахит		2	-	2	0,09	3	0,13	0	0	2	0,08
ДЦП		4	8	7	0,3	9	0,4	8	0,35	4	0,15

Реконвалесцент по ОКИ	3	7	2	0,2	12	0,5	16	0,7	3	0,11
ППЦНС	56	38	77	3,4	78	3,5	89	3,9	56	2,17
Герпетическая инфекция	9	6	5	0,2	5	0,2	10	0,44	9	0,34
Гидроколикоз почек	4	-	1	0,04	1	0,04	2	0,09	4	0,15
Токсическая нефропатия	4	8	4	0,18	4	0,18	6	0,26	4	0,15
Пиелонефрит	3	2	1	0,04	1	0,04	3	0,13	3	0,11
О.гломерулонефрит	0	-	-	-	-	-	1	0,04	0	0
Болезнь Дауна	1	-	2	0,09	1	0,04	1	0,04	1	0,03
Дисбактериоз кишечника	10		-	-	-	-	44	1,9	10	0,3

При анализе сопутствующей патологии можно отметить, что более чем у одной трети больных отмечается анемия различной степени, но 2014г. показатель в сравнении с 2013г данными снизился на 9%, в 2013 году составлял 38,4%, в 2014 году-29,4%, из них основной процент из общего количества анемий – больные с анемией I степени -85,2% (в 2013 году-91%).

Ниже уровня 2013г показателей количество детей с гипотрофией – на 1,16% (в 2013 году - 4,06%, в 2012г.- 6,3%, в 2011 году- 5,9%), ниже уровня 2013г. показателей количество детей с паратрофией – на 2,38% (в 2013г. - 4,01%, в 2012г. - 5,3%, в 2011году - 8,5%, в 2010 году - 8,7%).

За 2014г. на 0,4% количество детей с судорожным синдромом в абсолютном и процентном отношениях, соответственно в 2014г. и 2013г.-3,7% и 3,3%.

2014г. уменьшилось количество больных детей с аллергическим дерматитом - на 0,8%, выросло число детей с ВПС – на 0,37%.

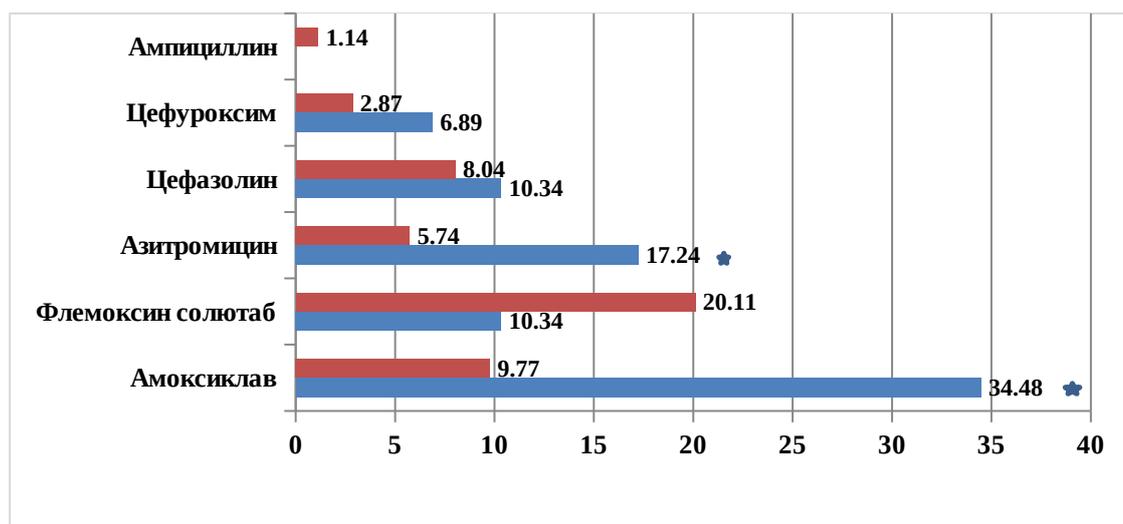
2014г. незначительно возросло количество больных с ротовирусной инфекцией в процентном отношении на 0,11%. В частности больных с ОРВИ пролечено на 5% больше чем за аналогичный период 2013 года (таблица 10).

### **3.2 Факторы риска, способствующие реализации *S.difficile* у детей**

Для определения факторов риска, способствующих реализации при ААД *S.difficile* инфекции у детей раннего возраста нами проведен анализ антибактериальных карт, которые заполняются при поступлении пациента в стационар, и включает в себя антибактериальный анамнез в течение последних 3 месяцев и перечень антибиотиков, использованных в процессе текущей терапии. Опыт использования антибактериальных карт в ГДИБ г. Астана с 2010года свидетельствует о высокой эффективности использования данной технологии в стационарах, где часто используются антибиотики. Так, например внедрение антибактериальных карт в 2009 году способствовало существенному снижению количества используемых антибиотиков, что способствовало снижению летальности в стационаре в 2011 году в 13 раз.

Но, несмотря на достигнутые результаты в отделении инвазивных диарей из года в год регистрируется число случаев диарей, не поддающихся антибактериальной терапии, что побудило нас провести исследования по выявлению факторов, обуславливающих реализацию данной инфекции.

При анализе частоты возникновения *C.difficile* при приеме антибиотика в амбулаторных условиях (рисунок 6) достоверно значимо ( $p < 0,05$ ) выявлено, что прием таких препаратов как макролиды (азитромицин - 17,24%; амоксиклав – 34,48%) сопровождается развитием ААД и *C.difficile* -инфекции.

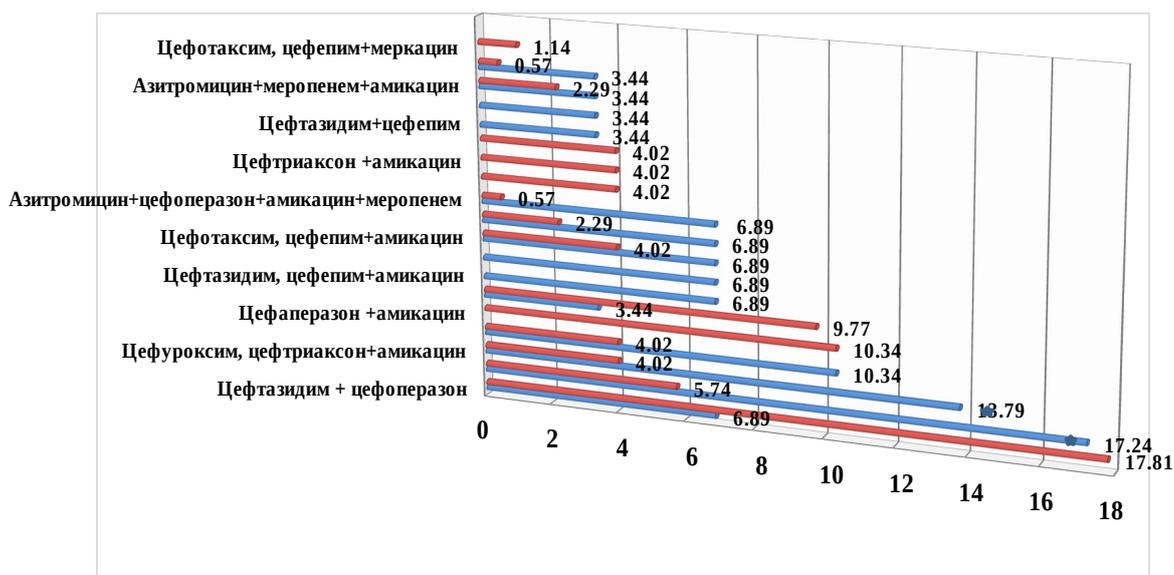


Примечание: \* - различие статистически достоверно ( $p < 0,05$ ) в сравнении с группой сравнения

Рисунок 6 - Частота возникновения *C.difficile* -инфекции при приеме антибиотика в амбулаторных условиях.

Анализ использования антибиотиков в условиях стационара выявил антибиотики, который представляют высокий риск для реализации *C.difficile*. На фоне приема антибиотиков группы цефалоспоринов III поколения в следующем сочетании: цефтриаксон, цефаперозон, меропенем количество пациентов, реализовавших ААД с выделением *C.difficile* составил 17,24%; цефуроксим, цефтриаксон + амикацин – составил - 13,79%; цефтриаксон + цефаперазон – составил – 10,34%; такие комбинации как сумамед, цефаперазон + амикацин, меропенем; цефураксим + амикацин, цефепим; цефтриаксон + амикацин, цефепим; цефотаксим, цефепим + амикацин; цефтазидим, цефепим + амикацин – составили 6,89%. Наименьшие показатели были при использовании двух антибиотиков, где идет сочетание цефалоспоринов 3 поколения и аминогликозидов, показатели которых составили – 3,44%. Обращает на себя внимание, что наиболее высокий риск реализации ААД с выделением *C.difficile* отмечается у пациентов, в лечении которых использовался цефтриаксон, количество которых составило – 41,37%. Необходимо подчеркнуть, что наши исследования согласуются с данными

российских ученых (Мазанкова Л.А. 2012г) у которых на фоне приема антибиотиков группы цефалоспоринов III поколения в условиях стационара возрастает риск развития *C. difficile* -инфекции до 72,88%. Согласно Wirstom J et al. (2001), ААД развивается у 4,9% пациентов, получивших антибиотикотерапию (3). По другим данным, ААД встречается приблизительно у 5-10% пациентов, получивших ампициллин, 10-25% - комбинацию амоксициллина с клавулановой кислотой, 15-20%-цефиксим и 25% - другие антибиотики [77].



Примечание: \* - различие статистически достоверно ( $p < 0,05$ ) в сравнении с группой сравнения.

Рисунок 7 - Частота возникновения *C. difficile* -инфекции при приеме антибиотика в условиях стационара.

При количественном и качественном анализе антибиотиков, использованных у пациентов, нами установлена следующая закономерность. Среди критериев основным фактором риска развития *C. difficile* - инфекции является проведение комбинированной терапии антибиотиками. Как представлено в рисунке 7 частота применения этого варианта терапии в группе *C. difficile* - положительных в 2 раза превышает частоту в группе *C. difficile* - отрицательных, (34,96%) против 99,91% соответственно. Данный факт объясняется тем, что использование комбинированной терапии антибиотиками может усиливать их отрицательное действие на флору кишечника и их микробиологические взаимодействия в ЖКТ. Вместе с тем необходимо помнить о расширении спектра токсических эффектов антибиотиков и, как следствие, создает дополнительные условия для роста и колонизации *C. difficile*, образования токсинов и развития заболевания.

Таким образом, к факторам риска относится применение цефалоспоринов III поколения, чаще всего цефтриаксон – 41,37% в

реализации ААД, обусловленной *C.difficile* в условиях стационара и аминопенициллинов (амоксиклав – 34,48%) в амбулаторных условиях. Вопреки распространенному мнению о том, что дети до года не восприимчивы к токсинам А и В *C.difficile* и могут являться только бактерионосителями, нами на основании анамнеза (развитие ААД на фоне антибактериальной терапии) и клинических проявлений болезни был установлен диагноз «*C.difficile* -инфекция» и проведена эффективная противоклостридиозная терапия.

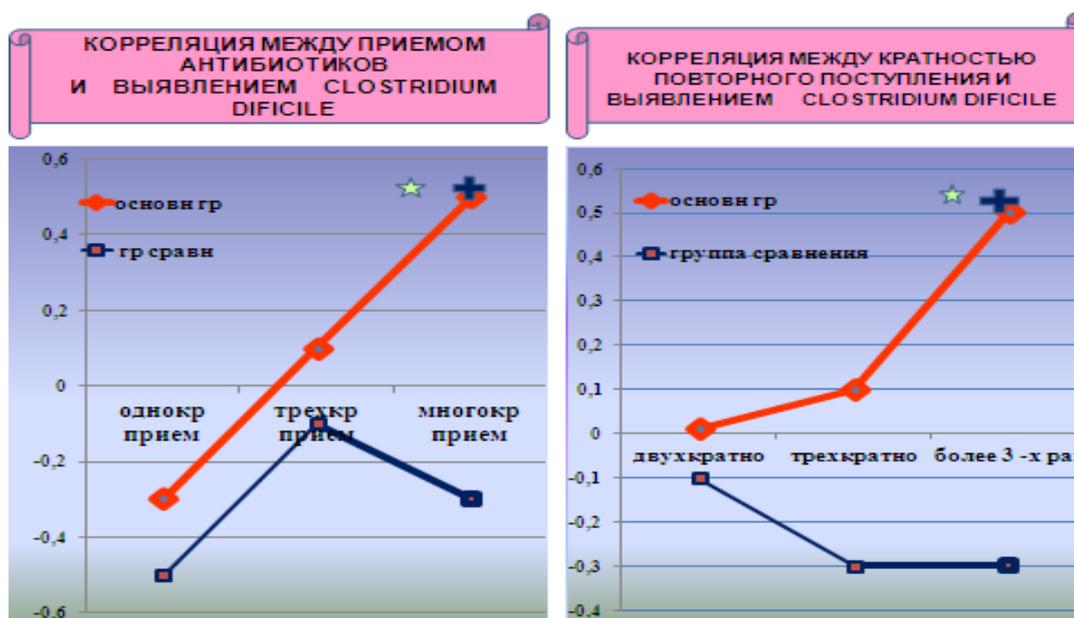
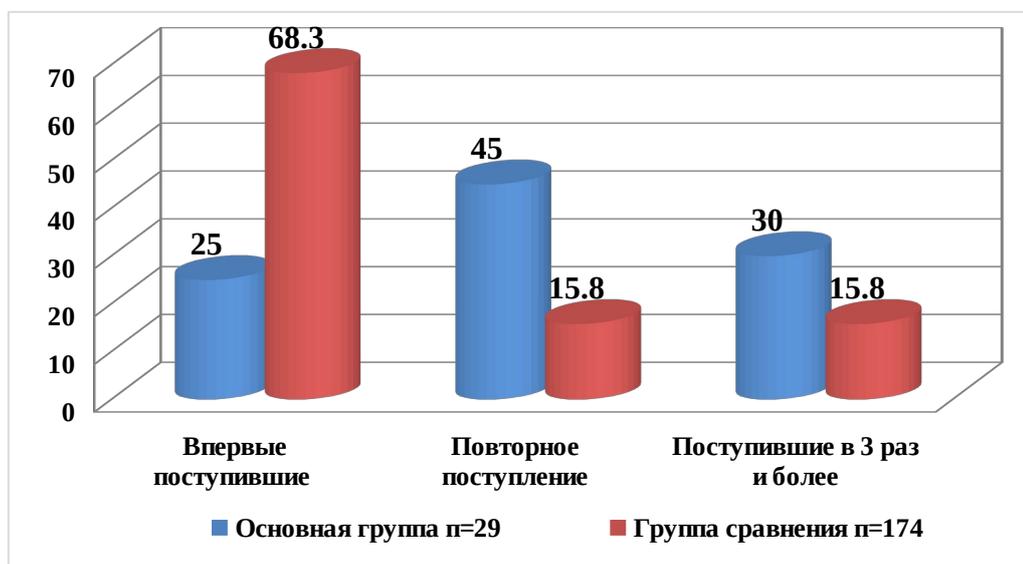


Рисунок 8 - Корреляционный анализ антибактериальной терапии и *C.difficile*.

При проведении корреляционного анализа установлена высокая прямая связь  $r=0,5$  между количеством использованных антибиотиков и выделением *C.difficile*.



Примечание: \* - различие статистически достоверно ( $p < 0,05$ ) в сравнении с контрольной группой

Рисунок 9 - Показатели повторных поступлений в стационар основной и группы сравнения.

При обследовании детей по поводу повторных поступлений в стационар с диареями, установлено, что частота ААД, обусловленных *C.difficile*, у повторно поступивших на фоне длительной антибактериальной терапии достоверно ( $p < 0,05$ ) в 3 раза выше, чем у больных впервые поступивших (рисунок 9).

На основании проведенных исследований установлено, что антибиотик ассоциированная диарея, обусловленная *C.difficile* - составляет 14,28%. К факторам риска в реализации ААД, обусловленной *C.difficile* относятся использование комбинированной антибактериальной терапии, чаще всего цефалоспорины 3 поколения, цефтриаксон – 41,37% в условиях стационара и аминопенициллинов (амоксиклав – 34,48%) в амбулаторных условиях, а также повторное поступление в стационар.

### **3.3 Клинико – лабораторная характеристика ААД у детей обусловленная *C.difficile***

#### **3.3.1 Клиническая характеристика ААД, обусловленная *C.difficile***

Данные литературы, касающиеся частоты выявления *C.difficile* весьма переменны. В конце прошлого столетия исследователи указывали на то, что частота ААД у госпитализированных пациентов находится в пределах от 3 до 29% в зависимости от основного заболевания, используемого антибактериального препарата и предрасполагающих факторов. Диареи, возникающие на фоне антибактериальной терапии, могут иметь инфекционную и неинфекционную природу. Неинфекционный генез ААД связан с нарушением моторики желудочно-кишечного тракта, а также токсическим воздействием препарата на кишечный эпителий и нарушением метаболизма желчных кислот и углеводов в кишечнике и др. Инфекционная природа ААД этиологический может быть связана с различными патогенами - *Clostridium perfringens*, *Salmonella species*, *Clostridium difficile*, которые способны колонизировать кишечник на фоне угнетения нормальной микрофлоры [79,80].

Большинство исследователей считают, что одним из наиболее значимых инфекционных агентов является *C.difficile*, с которой ассоциировано до 10-25% всех ААД и до 90-100% случаев псевдомембранозного колита (Alam S., 2009 г., и др.) [78].

Нами изучены клинические проявления ААД, вызванных *C.difficile* у пациентов, находившихся на стационарном лечении в отделении инвазивных диарей ГККП ГДИБ г. Астана в течение 2014 - 2015гг.

Как указано в таблице 11 клинические проявления ААД, обусловленные *C.difficile*, характеризовались следующими симптомами. Подострое начало

заболевания отмечалось у 60% пациентов, которое протекало преимущественно в среднетяжелой форме (85%). Практически у всех пациентов отмечалось наличие слабости и снижения аппетита на фоне субфебрильной (55%) и фебрильной (30%) температуры.

Таблица 11 - Сравнительная характеристика клинических симптомов диарей

Симптомы заболевания	Основная группа (n=20)		Группа сравнения (n=97)	
	N	%	N	%
Характеристика начала заболевания:				
- Острое	8	40	74	76,28
- Подострое начало	12	60	23	23,71
Форма заболевания:				
- Среднетяжелая	17	85	65	67,01
- Тяжелая форма	3	15	32	32,98
Слабость	20	100	97	100
Снижение аппетита	20	100	97	100
Повышение температуры:				
- Норма	-	-	-	-
- Субфебрильная (до 38,0 С)	11	55	76	78,35
- Фебрильная (до 39,0 С)	6	30	15	15,46
- Паретическая (39,0 С и выше)	3	15	6	6,18
Топика поражения:				
- Гастроэнтероколит	1	5	30	30,92
- Энтероколит	9	45	38	39,17
- Гемоколит	10	50	29	29,89

По топике поражения желудочно-кишечного тракта чаще регистрировались энтероколиты, которые составили 45% (9 детей), а в 50% случаев (10 детей) был установлен гемоколит.

Таблица 12 - Удельный вес ААД, обусловленной *S.difficile*

Всего пациентов		Основная группа		Группа сравнения	
п	%	п	%	п	%
203	100	29	14,28	174	85,71
203	100	29	100	174	100

Как представлено в таблице 12 среди 203 больных у 29 выявлены *S.difficile*, что составляет 14,28% от общего количества исследованных пациентов на данную инфекцию.

Таблица 13 - Возрастная структура пациентов исследованных на *S.difficile*

Возраст	Основная группа n=29	Группа сравнения n=174
от 0 мес. до 1 года	12 (41,37%)	49 (28,16%)

от 1 года до 3 лет	8 (27,59%)	48 (27,64%)
от 4 лет до 7 лет	3 (10,34%)	31 (18,01%)
от 8 лет до 10 лет	4 (13,79%)	22 (12,61%)
от 10 лет до 14 лет	2 (6,89%)	24 (13,51%)

Возрастной структуре обследованных больных с ААД основную массу составили дети в возрасте от 0 до 3 лет – 20 (68,96%). В возрастной группе дети с диагнозом ААД составили: от 4 до 7 лет - 3 (10,34%), от 8 до 10 лет - 4 (13,79%), от 10 до 14 лет - 2 (6,89%). В возрастных группах существенных различий в численности, заболевших не выявлено (таблица 13).

Среди обследованных детей 113 (55,71%) составили мальчики, 90 (44,28%) – девочки, гендерных различий выявлено не было (рисунок 10).

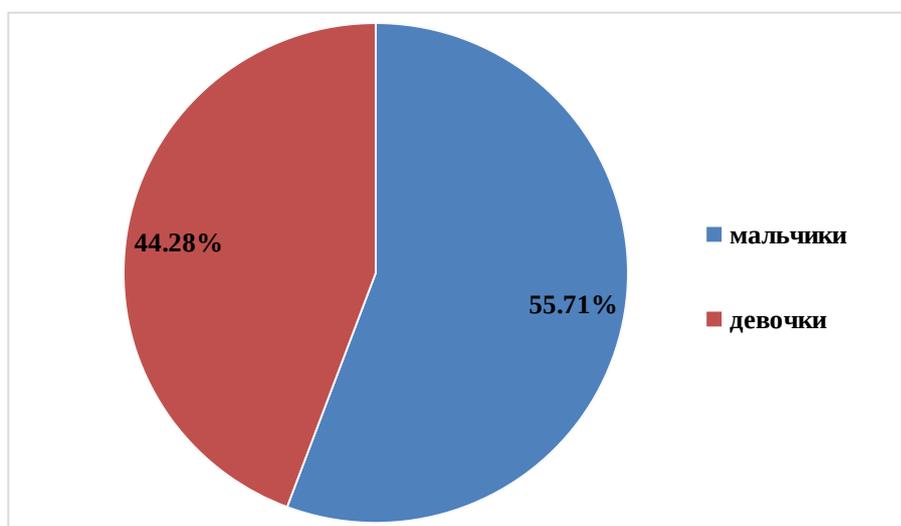


Рисунок 10 - Распределение больных с ААД по полу

В исследование включались дети только антибиотик – ассоциированной диареей, находившиеся на лечении в отделении инвазивных диарей.

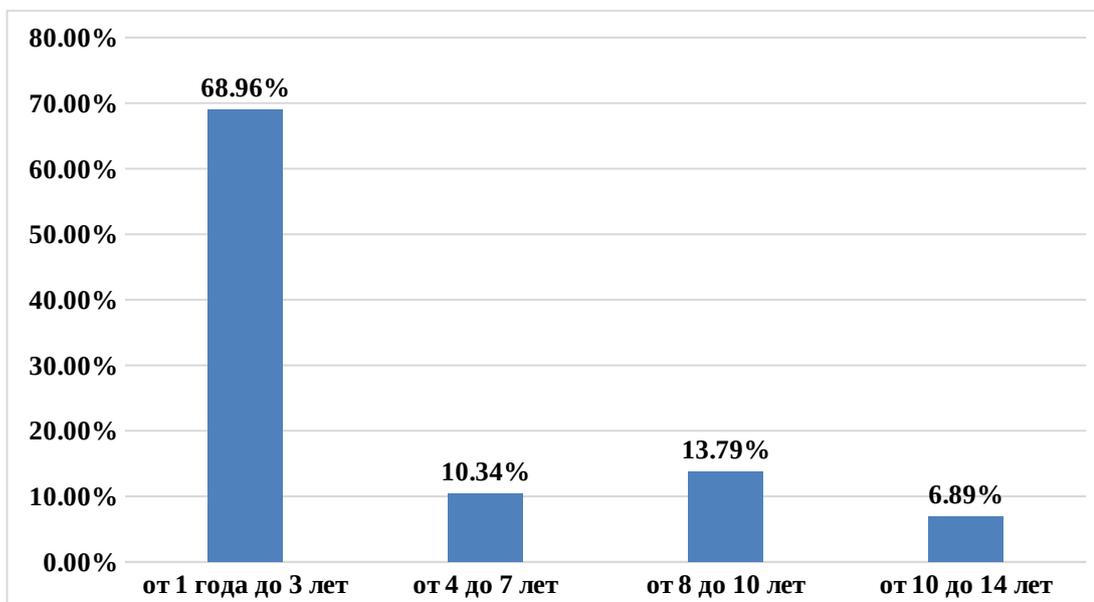


Рисунок 11 - Возрастная структура пациентов исследованных на C.difficile

Анализ возрастной структуры пациентов исследованных на C.difficile, представлены в рисунке 11.

Результаты исследования свидетельствуют о том, что основную массу составили дети от 1 до 3 лет – 68,96%, от 4 до 7 лет- 10,34%, от 8 до 10 лет 13,79%, от 10 до 14 лет - 2 (6,89%).

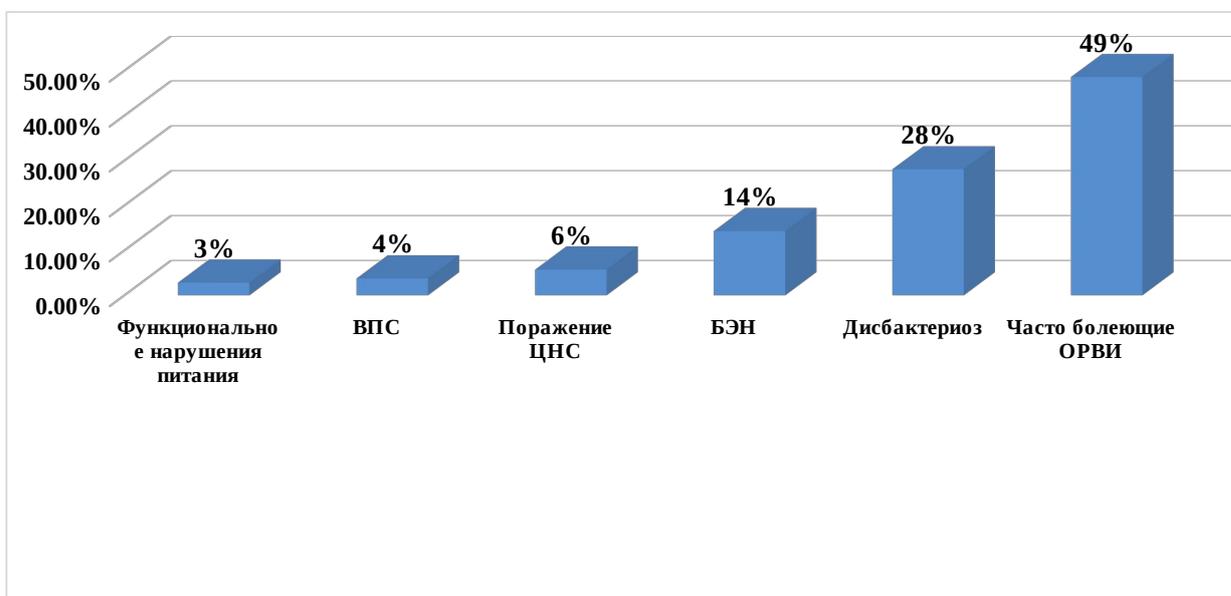


Рисунок 12 - Отягощенный преморбидный фон детей с ААД

Как представлено на рисунке 12 отягощенный преморбидный фон отмечался у 76,42% исследуемых пациентов. Среди обследуемых больных, диагноз «Дисбиоз кишечника» установлен у 30 детей, что составило – 28,03%. Количество детей, часто болеющих респираторными вирусными инфекциями,

составили - 48,57%, у 5 детей отягощенным фоном явилось поражение ЦНС, у 13 детей регистрировались белково энергетическая недостаточность (БЭН), у 4 пациентов установлен врожденный порок сердца (ВПС).

Данный факт, вероятно, связан, с глубиной развития дисбиотических нарушений на фоне воспалительного процесса в кишечнике и применения антибиотиков.

При исследовании болевого синдрома (таблица 14) было обнаружено, что боли в животе отмечались у 20 детей из группы с ААД, вызванных *C.difficile* (95%) и у 79 (81,4%) из группы без *C.difficile*. Боли вокруг пупка отмечались у 12 детей из группы с ААД, вызванных *C.difficile* (60%) и у 52 (53,60%) из группы без *C.difficile*. Боли в подвздошной области отмечались у 7 детей из группы с ААД, вызванных *C.difficile* (35%) и у 24 (24,74%) из группы без *C.difficile*. Боли в эпигастральной области не отмечались ни у одного ребенка из группы с ААД, вызванных *C.difficile* (0%) и у 3 (3,09%) из группы без *C.difficile*.

Продолжительность болей не более 1 суток была отмечена у 1 ребенка из группы с ААД, вызванных *C.difficile* (5 %) и у 51 (52,57%) из группы сравнения без *C.difficile*. Продолжительность болей до 2 суток была отмечена у 6 детей из группы с ААД, вызванных *C.difficile* (30 %) и у 26 (26,80%) из группы сравнения. Продолжительность болей до 3 суток была отмечена у 9 детей из группы с ААД, вызванных *C.difficile* (45%) и у 32 (2,06%) из группы сравнения без *C.difficile*. Продолжительность болей более 3 суток была отмечена у 3 детей из группы с ААД, вызванных *C.difficile* (15%) и ни у одного ребенка из группы сравнения без *C.difficile*.

Таблица 14 - Сравнительная характеристика болевого синдрома

Симптомы заболевания	Основная группа (n=20)		Группа сравнения (n=97)	
	N	%	N	%
Боли в животе	19	95	79	81,4
Характеристика болевого синдрома:				
- вокруг пупка				
- в подвздошной области	12	60	52	53,60
- в эпигастральной области	7	35	24	24,74
	0	0	3	3,09
Продолжительность болей в животе:				
1 сутки	1	5	51	52,57
2 суток	6	30	26	26,80
3 суток	9	45	2	2,06
Более 3 суток	3	15	0	0

Таким образом, нами было обнаружено, что боли в животе возникают чаще при ААД, вызванных *C.difficile*, чем при ААД без *C.difficile* у подавляющего большинства больных (95% по сравнению с 81,5%

соответственно). При этом при ААД, вызванных *C.difficile* они гораздо чаще локализируются вокруг пупка (60% по сравнению с 54,1% соответственно) и в подвздошной области (35% по сравнению с 25% соответственно). Напротив, боли в эпигастральной области не столь характерны для ААД, вызванных *C.difficile*, в отличие от ААД, не отягощенной без *C.difficile*, где частота их составляет 2,5%. Однако данные эти недостоверны и небольшое превышение частоты в группе с ААД без *C.difficile* может быть объяснено преобладанием симптомов поражения тонкой кишки в виде гастроэнтерита. Можно отметить продолжительность болей в животе при ААД, отягощенной *C.difficile* - инфекцией. Так, частота продолжительности болей более 3 суток в группе детей с ААД без *C.difficile* вообще равна нулю по сравнению с группой ААД, вызванных *C.difficile*, в которой частота равна 15%.

При изучении характера и кратности стула (таблица 15), было обнаружено, что кратность стула менее 5 раз в сутки была отмечена у 6 детей с ААД, вызванных *C.difficile* (20,68%) и у 87 (50%) из группы детей с ААД без *C.difficile*. Кратность стула более 5, но менее 10 раз в сутки была отмечена у 16 детей с ААД, вызванных *C.difficile* (55,17%) и у 53 (30,45%) из группы детей с ААД без *C.difficile*. Кратность стула более 10 раз в сутки была отмечена у 7 детей с ААД, вызванных *C.difficile* (24,13%) и у 34 (19,54%) детей с ААД без *C.difficile*.

Также была изучена частота возникновения патологических примесей в стуле с ААД, вызванных *C.difficile* и детей с ААД без *C.difficile*. Кровь в стуле отмечалась у 10 (50%) детей с ААД, вызванных *C.difficile* и у 30 (30,92%) детей с ААД без *C.difficile*. Слизь в стуле отмечалась у 9 (45%) детей с ААД, вызванных *C.difficile* и у 38 (39,17%) детей с ААД без *C.difficile*. Зелень в стуле отмечалась у 1 (5%) детей с ААД, вызванных *C.difficile* и у 29 (29,89%) детей с ААД без *C.difficile*.

Таблица 15 - Сравнительная характеристика стула у исследуемых пациентов

Симптомы заболевания	Основная группа (n=20)		Группа сравнения (n=97)	
	N	%	N	%
Кратность стула:				
1-5 раз в сутки	4	20	49	50,51
6-10 раз в сутки	11	55	30	30,92
Более 10 раз в сутки	5	25	18	18,55
Патологические примеси:				
- кровь	10	50	30	30,92
- слизь	9	45	38	39,17
- зелень	1	5	29	29,89
Консистенция стула:				
Кашицеобразная	5	25	30	30,92
водянистая	15	75	67	69,07

При анализе консистенции стула было обнаружено, что кашицеобразный стул отмечался у 5 (25%) детей с ААД, вызванных *C.difficile* и у 30 (30,92%) детей с ААД без *C.difficile*. Водянистый стул отмечался у 15 (75%) детей с ААД, вызванных *C.difficile* и у 67 (69,07%) детей с ААД без *C.difficile*.

Таким образом, мы можем отметить отличия в кратности стула у детей с ААД, вызванных *C.difficile* и детей с ААД без *C.difficile*. Кратность стула у ААД, вызванных *C.difficile* превышает таковую у ААД без *C.difficile* детей. Часто отмечаются патологические примеси в стуле при ААД, вызванных *C.difficile*, в том числе кровь. Напротив, по консистенции стула отличий между двумя группами обнаружено не было.

Помимо прочих клинических проявлений, была изучена частота возникновения рвоты, ее продолжительность и кратность (таблица 16). Рвота была отмечена у 20 (100%) с ААД, вызванных *C.difficile* и у 97 (100%) детей с ААД без *C.difficile*. Продолжительность рвоты не более суток была отмечена у 8 (40%) с ААД, вызванных *C.difficile* и у 52 (53,60%) детей с ААД без *C.difficile*. Продолжительность рвоты не более 2 суток была отмечена у 6 (30%) с ААД, вызванных *C.difficile* и у 28 (28,86%) детей с ААД без *C.difficile*. Продолжительность рвоты не более 3 суток была отмечена у 6 (30%) с ААД, вызванных *C.difficile* и у 17 (17,52%) детей с ААД без *C.difficile*.

Кратность рвоты не более 3 раз в сутки была отмечена у 6 (30%) с ААД, вызванных *C.difficile* и у 43 (44,32%) детей с ААД без *C.difficile*. Кратность рвоты не более 6 раз в сутки была отмечена у 9 (45%) с ААД, вызванных *C.difficile* и у 30 (30,92%) детей с ААД без *C.difficile*. Кратность рвоты более 6 раз в сутки была отмечена у 5 (25%) с ААД, вызванных *C.difficile* и у 24 (24,74%) детей с ААД без *C.difficile*.

Таблица 16 – Частота, продолжительность и кратность рвоты исследуемых пациентов

Симптомы заболевания	Основная группа (n=20)		Группа сравнения (n=97)	
	N	%	N	%
Рвота	20	100	97	100
Продолжительность рвоты:				
1 сутки	8	40	52	53,60
2 суток	6	30	28	28,86
3 суток	6	30	17	17,52
Кратность рвоты:				
1-3 раз в сутки	6	30	43	44,32
4-6 раз в сутки	9	45	30	30,92
Более 6 раз в сутки	5	25	24	24,74

Резюмируя выше изложенные данные, ААД, обусловленная *C.difficile* у детей раннего возраста, характеризуется подострым началом – 60%,

преобладанием средне тяжелых форм – 85%, наличием энтероколита – 45%, гемоколита – 50%.

### 3.3.2 Лабораторная характеристика ААД, вызванных *C.difficile*

Проведено сравнительное исследование особенностей лабораторных показателей в 2 группах детей с ААД, вызванных *C.difficile* (n=29) и ААД, без *C.difficile* (n=174). Установлено, что в общем анализе крови содержание гемоглобина, количество эритроцитов, цветной показатель, количество тромбоцитов у исследуемых пациентов в группе с ААД, вызванных *C.difficile* не отличались от группы детей с ААД, без *C.difficile*. Однако, частота изменений таких показателей, как количество лейкоцитов, палочкоядерных нейтрофилов, сегментоядерных нейтрофилов и показатель СОЭ заметно отличались от таковых показателей у детей с без *C.difficile* инфекции.

Лейкоцитоз был выявлен у 20 (19,85%) с ААД, вызванных *C.difficile* и у 43 (21,18%) с ААД, без *C.difficile*. Повышение палочкоядерных нейтрофилов было выявлено у 44 (21,67%) с ААД, вызванных *C.difficile* и у 43 (21,18%) с ААД, без *C.difficile*. Повышение сегментоядерных нейтрофилов чаще отмечалось у детей с ААД, вызванных *C.difficile*. Повышение СОЭ до 20-30 мм/час было выявлено у 18,22% с ААД, вызванных *C.difficile* и у 20,22% с ААД, без *C.difficile*.

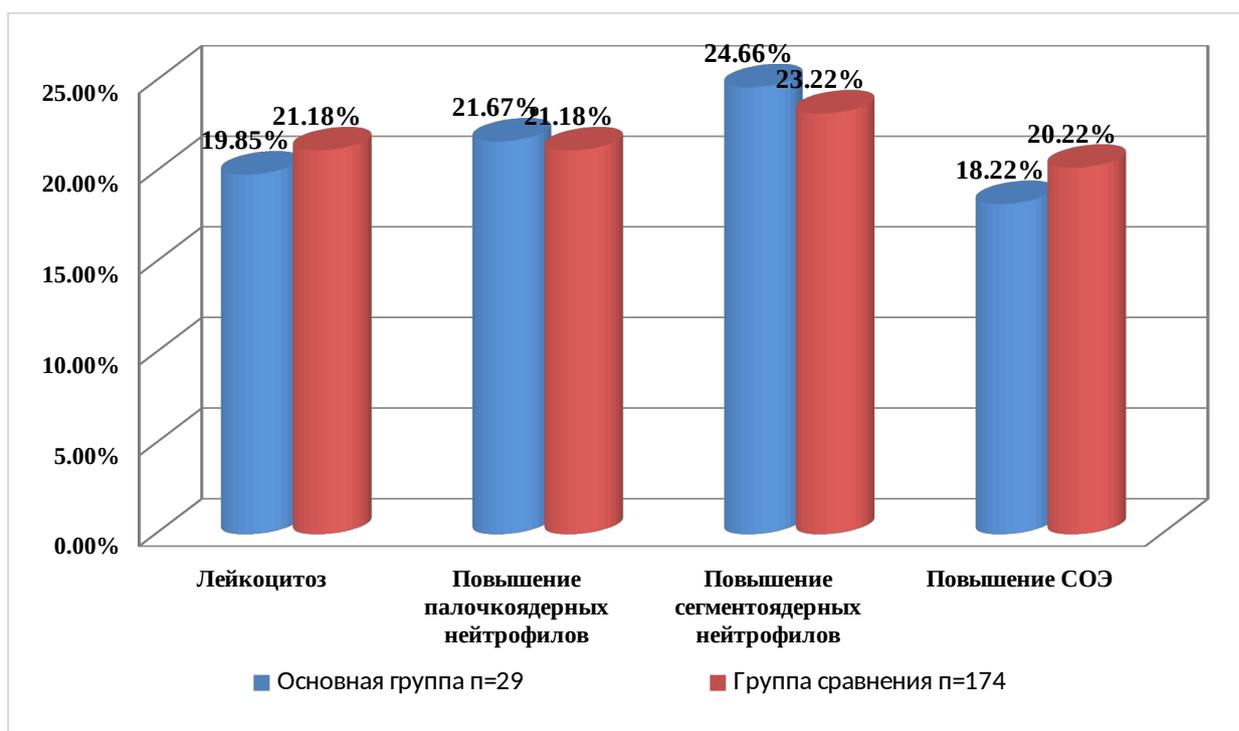


Рисунок 13 – Показатели периферической крови основной и контрольной групп

Таким образом, полученные изменения ОАК при ААД, вызванных с *C.difficile* у детей соответствуют общеизвестному факту повышения показателей уровня лейкоцитов, палочкоядерных нейтрофилов, сегментоядерных нейтрофилов и СОЭ, характерных для бактериальных инфекций (рисунок 13).

При оценке изменений в общем анализе мочи, биохимическом анализе крови, коагулограмме не выявлено существенных отличий между группами детей с ААД, вызванных с *C.difficile* и ААД, без *C.difficile*.

Резюмируя вышеизложенные данные можно сделать следующие выводы: ААД, обусловленная *C.difficile* - характеризуется подострым началом, преобладанием средне тяжелых форм, наличием энтероколита, гемоколита с гипертермией, и позволяет заподозрить это заболевание, для проведения целенаправленного обследования и лечения.

Лечение больных *C.difficile*. - инфекцией проводилось метронидазолом, ванкомицином либо сочетанием этих препаратов при тяжелом течении заболевания. Терапия метронидазолом проводилась у 16 больных, что составило 55%. Терапия ванкомицином проводилась у 10 больных, что составило 35%), комбинированное лечение было проведено у 3 детей (10%). Курс антибактериальной терапии составил 10-14 дней. В качестве базисной терапии больным назначались ферментные препараты (Креон, Панкреатин), пробиотики (Бифиформ Малыш, Энтерол), энтеросорбенты (Диоктаэдрический смектит).

### **Клинический пример №1**

Ребенок Бакберди Д., ИБ №188, в возрасте 1 года 3 месяцев поступил в отделение инвазивных диарей в ГДИБ, в 1-й день заболевания с жалобами на повышение температуры тела до 39,5С, жидкий стул со слизью и зеленью от 3-х до 10-ти раз в сутки. На до госпитальном этапе антибактериальная терапия пациенту не проводилась. При поступлении в стационар состояние ребенка расценено как среднетяжелое. При объективном осмотре отмечалось наличие симптомов интоксикации в виде вялости, снижения аппетита. Фебрильная лихорадка, симптомы энтероколита в виде болезненности по ходу толстой кишки, наличия жидкого стула с зеленью и тяжами слизи. В общем анализе крови – лейкоциты до 19 г/л, увеличение СОЭ до 22 мм/час. Бактериологический посев кала - отрицательные. Диагноз при поступлении: Острый энтероколит, инвазивная форма, средней степени тяжести.

Учитывая инвазивный характер диареи, при поступлении в стационар ребенку назначена терапия цефтриаксоном в дозе 600 мг в сутки внутримышечно, в течение 7 дней, оральная регидратация, энтеросорбенты, ферменты, диетотерапия. За время нахождения в стационаре состояние ребенка улучшилось: исчезли симптомы интоксикации, температура тела нормализовалась, стул стал оформленным к 9 дню госпитализации. При выписке лабораторные показатели соответствовали норме. Ребенок выписан

домой на 9 день госпитализации с выздоровлением. В периоде реконвалесценции (1 месяц) не болел.

Через месяц после выписки ребенок повторно поступил в стационар с жалобами на повышение температуры тела до 38,9С в течение 4 дней, жидкий стул с кровью и зеленью до 4-х раз в сутки, вялость, капризность. При осмотре отмечено наличие у ребенка симптомов токсикоэксикоза 1-2 степени в виде вялости, отсутствие аппетита, снижение тургора тканей, сухость и бледность кожных покровов, фебрильная лихорадка, жидкий стул с зеленью, тяжами слизи и примесью крови. Диагноз при поступлении: ОКИ, сальмонеллез?

В стационаре ребенку было проведено комплексное лабораторное обследование согласно общепринятым стандартам. При этом методом ПЦР анализатор в кале были выявлены токсины А и В *S. difficile*. Бактериологический посев кала - отрицательные. В общем анализе крови – лейкоциты 9,3 г/л, увеличение СОЭ до 13 мм/час, п/я-10%, с/я-21%. Биохимический анализ крови – без изменения. При проведении УЗИ брюшной полости были выявлены признаки гепатомегалии без изменения структуры паренхимы. На основании полученных данных поставлен диагноз антибиотикоассоциированный *S. difficile* гемоколит, среднетяжелая форма.

Было проведено лечение метронидазолом по 80 мг 3 раза в день, энтеролом по ½ капсулы 3 раза в день – 7 дней. На фоне терапии стул нормализовался на 6 день лечения, контрольный анализ кала на токсины А и В *S. difficile* на 8 день терапии – отрицательный.

Цель демонстрации: показать случай развития *S. difficile* гемоколита в поздние сроки от начала лечения антибиотиком с благоприятным течением на фоне адекватной этиотропной терапии.

### **Клинический пример №2**

Ребенок Д., 1 месяц, поступил в отделение инвазивных диарей в ГДИБ, на 2-й день болезни с диагнозом направления: Острый гастроэнтерит. Из анамнеза жизни известно, что ребенок от 1 беременности, протекавшей на фоне субфебрильной температуры у матери на 40-й неделе. Роды срочные, самостоятельные, вес 3410г, находился на смешанном вскармливании (смесь «NAN»). В возрасте 24 дней у мамы отмечалось развитие гнойного мастита, в связи с чем она получала амоксилав в дозе 1000мг 2 раза в день внутрь. На 3 день приема антибиотика матерью у ребенка (28 день жизни) появилась 3-4 рвота после каждого кормления. Стул жидкий до 20-25 раз в сутки, при этом потеря в весе составила 600г. После осмотра участкового педиатра был поставлен диагноз «острый гастроэнтерит, токсикоз с эксикозом 3 степени», ребенок направлен на госпитализацию. При поступлении в отделение инвазивных диареи состояние ребенка расценено как тяжелое. При осмотре регистрировались симптомы токсикоэксикозом 2-3 степени в виде вялости, снижение аппетита, снижения тургора тканей, диуреза, потери веса. Кожа чистая, бледная сухая. Плач без слез. Голос осиплый. Тургор тканей резко снижен. Губы сухие. Видимые слизистые суховаты, чистые. В легких

дыхание пуэрильное, хрипов нет, ЧД 52 в минуту. Тоны сердца слегка приглушены, чистые, ритмичные, ЧСС 164 в минуту. Язык влажный, обложен белым налетом. Живот мягкий, болезненный по ходу толстого кишечника. Анус сомкнут, гиперемирован. Печень, селезенка не увеличены, их свойства не изменены. Стул при поступлении жидкий, зеленый, обычного запаха, со слизью. Диурез снижен.

Ребенку назначена регидратационная терапия внутривенно, антибактериальная терапия «Цефураксим» 120г 2 раза в день внутривенно струйно, энтеросорбенты.

В общем анализе крови отмечено увеличение палочкоядерных лейкоцитов до 27%. Общий анализ мочи не выявил отклонений. В биохимическом исследовании крови было выявлено повышение АЛТ в 2 раза, мочевой кислоты, общего билирубина до 1311 мкМ/л за счет непрямой фракции. В копрограмме отмечено наличие стеатореи 1 типа. Анализ кала на кишечные вирусы - отрицательные.

Кал на токсины А и В *C. difficile* - положительный. На основании полученных данных поставлен клинический диагноз *C. difficile*, гастроэнтероколит, тяжелая форма, токсикоз с эксикозом 2-3 степени.

Было проведено лечение метронидазолом (доза 7,5 м/кгг 2 раза в сутки), креоном и смектой, при этом была отменена терапия цефураксимом. На фоне терапии (11 дней) контрольный анализ кала на токсины А и В *C. difficile* – отрицательный. Рецидива не было. Ребенок выписан домой с улучшением на 18 сутки с рекомендациями продолжить грудное вскармливание, прием пробиотиков 3-4 недели.

Цель демонстрации: показать случай тяжелой *C. difficile*- инфекции, у новорожденного ребенка на смешанном вскармливании на фоне лечения мамы антибиотиком. Представляет интерес пероральное поступление антибиотика с молоком матери ребенку и возникновение у последнего не только ААД, но и *C. difficile*, гастроэнтероколит, токсикоза с эксикозом.

## **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Несмотря на достигнутые успехи в совершенствовании диагностики и лечебной тактики, диареи у детей остаются широко распространёнными заболеваниями (Онищенко Г.Г., 2006; Учайкин В.Ф., 2007; Феклисова Л.В., 2007).

В Республике Казахстан по данным «Научно-практического центра санитарно-эпидемиологической экспертизы и мониторинга КЗПП МНЭ Агентства Республики Казахстан по защите прав потребителей» установлено, что в 2015 году зарегистрировано всего 14477 случаев диарей включая бактериальную дизентерию, другие кишечные уточненные инфекции, бактериальные и вирусные инфекции, что в 1,1 раз меньше, чем в 2014 году (14567) аналогично и в 2013 году (14722 случаев). Среди детей в возрасте от 0 до 14 лет данные показатели в 2015 году составили 10038 случаев в 2014 году 10260 случаев, 10833 случаев, что свидетельствует о тенденции снижения заболеваемости как у взрослых, так и у детей [19].

Следует признать, что до настоящего времени их диагностика остаётся по - прежнему несовершенной – при применении «традиционных» лабораторных методов исследования этиологический диагноз удаётся установить лишь у 1/3 больных (Малеев В.В., 2007; Новокшенов А.А., 2006; Тихомирова О.В.2006). В последние годы отмечается отчётливая тенденция в изменении этиологической значимости патогенов, вызывающих диареи у детей (Горелов А.В., Милютин Л.Н., 2005; Титова Л.В., Феклисова Л.В., 2006). Не вызывает сомнения тот факт, что ведущая роль среди них в мире теперь принадлежит вирусам, которые обуславливают 50-80% диареи у детей

(Glass R 2005; Parashar V., 2003). Вместе с тем оппортунистические инфекции, вызываемые условно патогенными грибами, занимают особое место в практике клинициста (Шевяков М.А., 2002; Мирзабалаева А.К., 2004).

По данным ВОЗ на современном этапе среди инфекционных диарей в последнее время все большее значение придается так называемым ААД, составляющим 6-29% от общего числа диарей. С нарушением микробной экологии, связано широкое распространение *C.difficile* - ассоциированных заболеваний, клинический спектр которых варьирует от носительства и кратковременной диареи, проходящей после отмены препарата, вызвавшего ее, до псевдомембранозного колита с токсическим мегаколоном и перфорацией кишечника. Согласно данным различных исследователей, *C.difficile* является причиной 15-25% антибиотико-ассоциированных диарей и 90-100% случаев псевдомембранозного колита [3,4].

Если в 90 годы, по мнению ведущих ученых РК: Р.С. Идрисовой и соавт. предшествующий ОКИ дисбактериоз создавал благоприятные условия для более глубокого поражения кишечника сальмонеллами, а дисбактериоз, развившийся во время кишечной инфекции, утяжелял ее, способствуя затяжному течению и хронизации процесса, с формированием упорных диарей, то на современном этапе актуальными являются появление диарей связанных с использованием антибактериальной терапии [12].

Согласно критериям ВОЗ, антибиотико-ассоциированная диарея — это 3 и более эпизода неоформленного или водянистого стула в течение 2 или более дней подряд, связанных с приемом антибактериальных препаратов. ААД развивается у 5–35% пациентов на фоне лечения антибиотиками или в течение 8 недель после их отмены [67,68]. В отдельных клиниках частота ААД повышается до 62 % [69]. В детской популяции уровень ААД колеблется от 11 до 40% [70]. В Украине частота ААД у детей составляет 15,5 %, но увеличивается в 3 раза при носительстве токсигенных штаммов *C.difficile* [71]. При развитии ААД увеличивается длительность госпитализации пациентов, повышается риск развития осложнений и других нозокомиальных инфекций [72]; при этом стоимость лечения может возрастать в 4 раза [73].

С учетом широкой распространённости диарей в нашей стране нами проводились исследования на базе ГККП городской детской инфекционной больницы г. Астана в отделении инвазивных диарей. Исследования проводились в два этапа. Первый этап включал в себя ретроспективный анализ историй болезней детей в возрасте от 0 до 14 лет, за 2010-2014 годы. Исследования позволили установить этиологию и возрастную структуру детей, диарей, преморбидный фон.

В результате проведенной работы установлено, что в течение 2010-2014гг. в отделение инвазивных диарей ГДИБ г. Астана с диагнозом: «Инвазивная диарея» было госпитализировано и пролечено – 11290 детей.

Мониторинг данной патологии за исследуемый период свидетельствует о стабильно высоком уровне заболеваемости среди детей раннего возраста. Максимальный подъем заболеваемости во всех возрастных группах

отмечается в 2010 году. Основная масса заболевших поступает на вторые и третьи сутки заболевания, и составляют от 58,2 до 62,8% в отличие от других показателей обращения за стационарной помощью.

Необходимо отметить, что около 2% детей после выписки из стационара поступают повторно. Количество повторно поступающих по сроку возвращения в стационар широко варьируют, наибольшее количество пациентов, поступает ежегодно повторно после выписки из стационара на третьи сутки. Причем отмечается тенденция к устойчивому повторному поступлению пациентов из года в год именно первые трое суток, начиная с 2012 года первые сутки 0,45%, вторые – 0,36%, третьи – 0,34%. В 2013 году первые сутки 0,3%, вторые – 0,48%, третьи – 0,56%. В 2014 году первые сутки 0,27%, вторые – 0,38%, третьи – 0,5%.

В нозологической структуре инвазивных диарей на первом месте находятся возбудители УПФ – 41,67% - 45,61%, на втором месте - сальмонеллез–3,7%, на третьем месте дизентерия -0,7%, на четвертом месте эшерихиоз- 0,3%, причем высокий уровень заболеваемости инвазивными формами диарей отмечается среди детей раннего возраста от 0 до 3 лет.

Диарея, вызванная нарушением нормальной микрофлоры кишечника, — одно из наиболее распространенных осложнений антибиотикотерапии. Среди прочих микробов-оппортунистов, ответственных за расстройство кишечника, *C.difficile* занимает особое место благодаря по крайней мере двум обстоятельствам. Во-первых, обладая агрессивным цитотоксином, *C.difficile* вызывает специфический псевдомембранозный колит, летальность при котором достигает 30 %. Во-вторых, благодаря спорообразованию *C.difficile* обладает особой резистентностью ко многим антибиотикам и к дезинфицирующим средствам, что создает дополнительные проблемы, особенно в условиях стационара. Инфекция *C.difficile* многими стационарами до сих пор не рассматривается как серьезная проблема. Это в немалой степени связано с тем, что многие случаи *C.difficile* остаются не диагностированными. Однако, если своевременно не выявить данную инфекцию, может произойти быстрое распространение спор данного возбудителя буквально по всему стационару и число случаев данного заболевания. Начиная с 2000 года, когда в США и Канаде были зарегистрированы крупные внутрибольничные вспышки, *C.difficile* - инфекция вошла в список приоритетных внутрибольничных инфекций.

Лабораторная (микробиологическая) диагностика имеет смысл только у пациентов с клиническими симптомами, т.к. обнаружение *C.difficile* или энтеротоксина при отсутствии как минимум диареи не имеет значения для установления диагноза. Золотым стандартом лабораторной диагностики *C.difficile* был и остается микробиологический метод выделения чистой культуры, который позволяет определить токсинообразование, чувствительность к антибиотикам и риботип штамма как важнейшую эпидемиологическую метку. Таким образом, в большинстве случаев до сих пор основными методами диагностики *C.difficile* остается культуральное

исследование. Длительное время анализа (положительные результаты – в течение 24 часов, отрицательные результаты – в течение 48–72 часов) и трудоемкость не позволят большинству микробиологических лабораторий взять этот метод на вооружение в рутинной клинической практике. Более того, сама по себе длительность исследования тормозит достижение одной из основных целей диагностики – принятие своевременного решения по изолированию пациента и проведению соответствующую антибактериальную терапию и своевременной дезинфекции в стационаре.

Второй этап работы включал в себя проспективное исследование в течение 2014 - 2015гг. Для изучения факторов, способствующие реализации ААД и его клинических особенностей. Под наблюдением находилось 203 детей в возрасте от 0 месяцев до 14 лет с инвазивной формой диареи. Для подтверждения диареи вызванной *C.difficile* нами использовалось современная технология метод экспресс ПЦР-диагностика «GenomEra» для определения ДНК (биоматериал кал) на автоматическом встроенном ПЦР анализаторе с специально разработанными тест - чипами с нанесенными реагентами системы GenomEra от Abacus Diagnostica.

Проб фекалий исследовали в течение 2-3 ч после их взятия с использованием молекулярный способ диагностики *C.difficile* технологии GenomEra, которая совмещает принцип ИФА-анализа, основанного на флюоресценции с разрешением по времени и ДНК-амплификацию простых в использовании пластиковых тест-чипов с нанесенными реагентами. Исследование проводилось менее чем за 1 ч., непосредственно из разведенного образца стула без сложной проб подготовки с выявлением гена токсина В *C.difficile* на автоматическом встроенном ПЦР анализаторе с специально разработанными тест-чипами с нанесенными реагентами Системы GenomEra от Abacus Diagnostica. Мы можем сделать вывод, что поскольку *C.difficile* часто выделяют у пациентов с клинической патологией, сам факт выявления гена токсина В имеет большое диагностическое значение, что позволит поставить окончательный диагноз и оценить в полной мере эпидемиологическое значение этих результатов, в особенности в лечении детей и взрослых пожилого возраста.

Результаты данных тестов получены уже в течение до 1 часа. Быстрая диагностика позволяет своевременно назначить пациенту лечение, изолировать его, дезинфицировать предметы и минимизировать возможные последствия распространения инфекции в стационаре. Комбинация данных тестов с более чувствительными методами, такими как ИФА и ПЦР, позволит лабораториям своевременно подтверждать результаты как истинно положительные образцы. Полимеразная цепная реакция (ПЦР) может заменить ИФА и культуральное исследование, но для комплексного обследования пациентов необходимо применять вместе все 3 вида исследования. В настоящее время необходимо внедрить и были доступны те тесты, которые определяют наличие *C.difficile* через выявление генов токсинов А и В. Данный метод обладает очень высокой чувствительностью и

специфичностью. Быстрая диагностика *C.difficile* в условиях ограниченных ресурсов диарей должны скринироваться на наличие данного возбудителя для назначения правильного лечения и соблюдения противоэпидемических мероприятий инфекционного контроля.

Исследования показали, что антибиотик ассоциированная диарея, обусловленная *C.difficile* - составляет 14,28% среди инвазивных форм диарей независимо от возраста. К факторам риска развития *C.difficile* - инфекции относятся применение комбинированной антибактериальной терапии чаще всего цефалоспорины 3 поколения, цефтриаксон – 41,37 % в условиях стационара и аминопенициллинов (амоксиклав – 34,48%) в амбулаторных условиях. Клинические проявления диарей, обусловленные *C.difficile*, характеризовались следующими симптомами. Подострое начало заболевания отмечалось у 60% пациентов, которое протекало преимущественно в среднетяжелой форме (85%). Практически у всех пациентов отмечалось наличие слабости и снижения аппетита на фоне субфебрильной (55%) и фебрильной (30%) температуры. По топике поражения желудочно-кишечного тракта регистрировались энтероколиты – 45%, гемоколита – 50 %.

## **ВЫВОДЫ**

1. В возрастной структуре пациентов, пролеченных в ГДИБ г. Астана с 2010 по 2014 годы с диагнозом: «Инвазивная диарея» преобладали дети в возрасте от 0 до 3 лет, среднестатистический показатель – 88,2%, в этиологической структуре: диареи не уточненной этиологии – 53,63%; возбудители УПФ – 41,67%; сальмонеллез–3,7%; дизентерия - 0,7%; эшерихиоз - 0,3%.

2. Выявлено, что антибиотик ассоциированная диарея, обусловленная *C.difficile* - составляет 14,28%, факторами риска развития заболевания является повторное использование цефалоспоринов при неэффективности стартовой терапии (цефтриаксон, цефоперазон, меропенем – 17,24 % ( $p<0,05$ ); цефуроксим, цефтриаксон+амикацин – 13,79% ( $p<0,05$ ) в условиях стационара, в антибактериальном анамнезе: амоксиклав – 34,48% и сумамед – 17,24% ( $p<0,05$ ), а также определена прямая положительная средняя корреляционная взаимосвязь ( $r=0,5$ ) между использованием вышеуказанных антибиотиков и выявлением *C.difficile*.

3. Установлено, что у детей раннего возраста клиника антибиотик ассоциированных диарей, обусловленных *C.difficile*, характеризуется подострым началом – 60%, преобладанием средне тяжелых форм – 85%, наличием энтероколита – 45%, гемоколита – 50%.

### **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

1. При наличии у пациентов инвазивной диареи, не поддающейся антибактериальной терапии, либо при многократном получении антибиотиков амбулаторно или стационарно (более трёх раз в год) с последним приемом 2 месяца назад, а также при длительном лечении в стационаре или при повторной госпитализации с диареей необходимо провести лабораторное исследование с целью выявления ААД обусловленной *Clostridium difficile*.

2. Для повышения эффективности выявления *Clostridium difficile* рекомендуется использование экспресс-анализатора «GenomEra».



### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Учайкин В.Ф. Решенные и нерешенные проблемы инфекционной патологии у детей // Детские инфекции.-2003.-№4.-С.3-7.
2. Эпидемиологическая характеристика инфекционной заболеваемости в Республике Казахстан // Педиатрия и детская хирургия Казахстана.-2005.-№3.-с.36.
3. Усманова М.В., Абирова А.А. Анализ заболеваемости острыми кишечными заболеваниями по регионам Республики Казахстан за 1991-2001 г. // Медицина. - 2004. - №2. - С.98-100.

4. Учайкин В.В. Руководство по инфекционным болезням у детей. - М.: ГЭОТАР МЕД. - 2002. - 808 с.
5. Горелов А.В., Милютина Л.Н., Усенко Д.В. Лечение острых кишечных инфекций у детей. - Москва, 2003. - 48 с.
6. Воротынцева Н.В., Мазанкова Л.Н. Острые кишечные инфекции у детей. - М.: Медицина, 2001. - 477с.
7. Евстигнеев И.В., Иммунологические методы исследования в диагностике заболеваний толстого кишечника, 2012, с. 22-32.
8. Захаренко С.М., Пономарев С.В. Заболевания, ассоциированные с *Clostridium difficile* // Лечение и профилактика. – 2012. -№3. –С.82-89.
9. CDC National Healthcare Safety Network Manual. Patient Safety Component/ 2008. Available at: [http://www.cdc.gov/ncidod/dhqp/pdf/nhsn/M\\_DRO\\_CDAD\\_Protocol\\_v4REV.pdf](http://www.cdc.gov/ncidod/dhqp/pdf/nhsn/M_DRO_CDAD_Protocol_v4REV.pdf).
10. Лобзин Ю.В. Проблемы детских инфекций на современном этапе / Ю.В. Лобзин // Инфекционные болезни. — 2009. — Т. 7, № 2. — С. 7—12.
11. Абатуров О.Є. Модуляція активності TLR4 епітеліоцитів слизової оболонки шлунка при хелікобактерній інфекції / О.Є. Абатуров, О.М. Герасименко // Современная педиатрия. — 2009. — № 6 (28). — С.141—146.
12. Р.С.Идрисовой и соавт. Нарушения биоценоза кишечника детей – реконвалесцентов ОКИ и пути их коррекции. 1995.
13. Учайкин В.Ф., Нисевич Н.И., Шамшева О.В. Инфекционные болезни у детей. ГЭОТАР- Медиа, 2007. ГЭОТАР- Медиа, 2010-863с
14. Ющук, Н.Д. Острые инфекционные диареи / Н-Д, Ющук, Л.Е. Бродов // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. 2000. - №6. - С-22-27.
15. Г.А.Тимофеева, А.В.Цинзерлинг. Острые кишечные инфекции, вызванные некоторыми условно-патогенными бактериями. «Острые кишечные инфекции у детей».
16. Petri Jr. WA. Enteric Infections, Diarrhoea, and Their Impact on Function and Development / Jr. WA. Petri, M. Miller, HJ. Binder [et al.] // The Journal of Clinical Investigations. — 2008. — Vol. 118, № 4. — P. 1277—1290.
17. Горелов А.В., Милютина Л.Н., Усенко Д.В. Клинические рекомендации по диагностике и лечению острых кишечных инфекций у детей. М.,МЗ СР РФ,2005, 106 с.
18. Златкина А.Р. Патофизиологические механизмы диареи. Мукоцитопротекция, патофизиологические и клинические аспекты. Сб. статей международного сателлитного симпозиума на V конгрессе «Человек и лекарство». М., 1998; 15 - 20.
19. Здоровье населения Республики Казахстан и деятельность организаций здравоохранения в 2014 г. Статистический сборник. Астана 2015г. стр.311-312.
20. Dennehy, P.H. Acute diarrheal disease in children: epidemiology, prevention, and treatment / P.H. Dennehy // Infect Dis Clin North Am. – 2005. – V. 19 (Suppl. 3). – P. 585-602.

21. Thielman, N.M. Acute infectious diarrhea / N.M. Thielman, R. Guerrant // *New England Journal of Medicine*. 2004; 350: 38–47.
22. Горелов, А.В. Клинические рекомендации по диагностике и лечению острых кишечных инфекций у детей: Пособие для врачей. / А.В. Горелов, Л.Н. Милютин, Д.В. Усенко // М.: Москва, 2005. – 106 с.
23. Денисюк, Н.Б. Эпидемиологические особенности ротавирусной инфекции и ее место в структуре острых кишечных инфекций / Н.Б. Денисюк, Ю.Д. Каган // *Материалы II ежегодного Всероссийского конгресса по инфекционным болезням*. – Москва, 2010. – 383 с
24. Тихомирова, О.В. Вирусные диареи у детей: особенности клинического течения и тактика терапии / О.В. Тихомирова // *Детские инфекции*. – 2003. – №3. – С. 7-10.
25. Учайкин, В.Ф. Решенные и нерешенные проблемы инфекционной патологии у детей / В.Ф. Учайкин // *Детские инфекции*. – 2003. – №4. – С.3–7.
26. McFarland L.V., Muligan M.E., Kwok R.Y., Stamm W.E. Nosocomial acquisition of *Clostridium* in infection. *N Engl J Med*.-1989; 320: 204-10.
27. Горелов А.В. Изучение острых кишечных инфекций у детей / А.В. Горелов // *Эпидем. и инф. болезни*. — 1999. — №2. — С. 41-45.
28. Г.А.Иванов, В.Ф.Лебедев, В.Г.Федоров, С.А.Шляпников. Антибиотик-ассоциированные колиты у пострадавших с тяжелой сочетанной травмой. //Актуальные проблемы гнойно-септических инфекций. Санкт-Петербург, 1996, с. 44.
29. В.А.Малов, В.М.Бондаренко, С.Г.Пак Роль *Clostridium difficile* в патологии человека.//*Журн.микробиол.*-1996.-№1.-С.91-96.
30. Bartlett J.G., et al. Antibiotic-associated pseudomembranous colitis due to toxin producing clostridia. //N. Engl.J.Med.-1978.-Vol.298.-P.531.
31. Borriello S.P. Virulence factors of *Clostridium difficile*. In “Recent advances in *Clostridium difficile* and its toxins” Societe Fransaise de Microbiologie, Tours, May 4 1995
32. MacFarland L.V. The epidemiology of *Clostridium difficile* infections. //Gastroenterology Internat.-1991.-№4. -P.82 - 85.
33. Marteau P.H., Lavergne A. *Clostridium difficile* In: Diarrheas infectieuses - Progreses en Gastroenterologie. J.C.Rambaud and P.Rampal (eds), Paris, Doin 1993 113 p.
34. Marteau P., Pochart P., Bouhnik Y., Rambaud J.C. Fate and effects of some transiting microorganisms in the human gastrointestinal tract. //World Rev.Nutr.Diet.-1993.-№74.-P.1-24.
35. RKI: *C.difficile*: Zum Stand der Meldungen schwer verlaufender Infektionen in Deutschland // *Epid. Bull.* — 2008. — 15. — 117-119.
36. Демиховская Е. Журнал «Болезни и антибиотики» 1 (03) 2010. Двуделикий *s.difficile*: возбудитель экзогенной инфекции и/или эндогенный оппортунист кишечной микрофлоры при антибиотикотерапии. Росток, Германия.
37. Kist M. *Clostridium difficile*-assozierte Diarrhöe, Krankenhaushygiene up-date. — 2007. — 2. — 301-314.

38. Bartlett J.C. Narrative review: the new epidemic of Clostridium difficile-associated enteric disease // *Ann. Intern. Med.* — 2006. — 145(10). — 758-64.
39. Roberts K. et al. Die Verbreitung von Clostridium difficile-Sporen durch die Luft // *Krh-Hyg.* — 2008. — 30 Heft. — 158-162.
40. Kuijper E.J., Coignard B. and Tull P. Emergence of Clostridium difficile-associated disease in North America and Europe // *Clin. Microbiol. Infect.* — 2006. — 12 (Suppl. 6). — 2-18.
41. 1. Kist M. Clostridium difficile-assozierte Diarrhöe, Krankenhaushygiene update. — 2007. — 2. — 301-314.
42. Ackermann G., Kist M. Clostridium difficile — Aktueller Stand Teil II: Virulenzfaktoren, Antibiotika-Resistenz, Typisierungsmethoden // *Mikrobiologe.* — 2009. — 19 Jg. — S. 9-20.
43. RKI: Erster Nachweis von Clostridium difficile, Ribotyp 027 in Deutschland — Erreger mit hoher Virulenz // *Epid.Bull.* — 2007. — 41. — 386.
44. RKI: Schwer verlaufende Infektionen mit C.difficile: Zur Meldepflicht // *Epid. Bull.* — 2007. — 46. — 424.
45. RKI: Clostridium-difficile-Infektionen: Übermittlungen gemäß IfSG von 01/2008 bis 12/2009 // *Epid. Bull.* — 2010. — 10. — 87-89.
46. Джон Бартлет в соавторстве, представитель медицинского факультета Университета Джона Хопкинса в Балтиморе. "Новые штаммы бактерии Clostridium difficile эпидемии во многих больницах в США". Журнал «New England Journal of Medicine».
47. Bartlett J.C. et al. Antibiotic-associated pseudomembranous colitis due to toxin-producing clostridia // *N. Engl. J. Med.* — 1978. — 298 (10). — 531-4
48. Elliot D. et al. Clostridium difficile-associated diarrhoea // *Inter. Med. J.* — 2007. — 37(8). — 561-8.
49. RKI: C.difficile: Zum Stand der Meldungen schwer verlaufender Infektionen in Deutschland // *Epid. Bull.* — 2008. — 15. — 117-119.
50. Pelleschi M.E. Clostridium difficile — Associated Disease // *Critical Care Nurse.* — February 2008. — Vol. 28(1). — P. 27-35.
51. Pepin J., Saheb N., Coulombe M.A. et al. Emergence of fluoroquinolones as the predominant risk factor for Clostridium difficile-associated diarrhea: a cohort study during an epidemic in Quebec // *Clin. Infect. Dis.* — 2005. — 41(9). — 1254-1260.
52. Радутна О.А. ААД у дітей, обумовлена Clostridium difficile // *Перинатологія та педіатрія.* — 2008. — № 2(34). — С. 71-73.
53. Pelleschi M.E. Clostridium difficile — Associated Disease // *Critical Care Nurse.* — February 2008. — Vol. 28(1). — P. 27-35.
54. Margaret C. Fisher. Pseudomembranous Colitis // *Nelson Textbook of Pediatrics, Kliegman.18th ed., 2008.* — [www.mdconsult.com](http://www.mdconsult.com)
55. Bortlett J.G. Antibiotic-associated diarrhea // *NTJM.* — 2002. — 346. — 334-9.
56. Delmee M. The Clostridium difficile epidemic in Europe: difficulties and diagnosis. Abstract booklet 2007. Clostridium difficile: an old bug with new tricks? — P. 12-19.

57. Aas J., Gessert C.E., Bakken J.S. Recurrent *Clostridium difficile* colitis: Case series involving 18 patients treated with donor stool administered via a nasogastric tube // *Clin. Infect. Dis.* — 2003. — 36. — 580-585.
58. Іванько О.Г., Пацера М.В., Чернишова Л.І., Радутна О.А. Визначення токсинів А+В *Clostridium difficile* у випорожненнях дітей, які отримували лікування з приводу туберкульозу // *Медико-соціальні проблеми дитячого віку.* — Тернопіль, 2007. — С. 50-51.
59. Іванько О.Г., Пацера М.В., Чернышова Л.И., Радутная Е.А. Использование пробиотиков для профилактики осложненной противотуберкулезной терапии у детей // *Сучасні проблеми фтизіатрії та пульмонології в умовах промислового міста.* — Запоріжжя, 2007. — С. 6-7.
60. Hidding I., Koning K. Probiotics in the prevention and treatment of antibiotic associated diarrhea // *Agro Food industry hi-tech.* — July — August 2005. — Anno 16, № 4. — P. 18-20.
61. Whelan K., Schneider S.M. Mechanisms, prevention, and management of diarrhea in enteral nutrition // *Curr. Opin. Gastroenterol.* — 2011. — 27. — 152-9.
62. Polage C.R., Solnick J.V., Cohen S.H. Nosocomial diarrhea: evaluation and treatment of causes other than *Clostridium difficile* // *Clinical practice.* — 2012. — 55. — 982-989.
63. Bartlett J.C. Narrative review: the new epidemic of *Clostridium difficile*-associated enteric disease // *Ann. Intern. Med.* — 2006. — 145(10). — 758-64.
64. Heimesaat M.M., Granzow K., Leidinger H., Liesenfeld O. Prevalence of *Clostridium difficile* toxins A and B and *Clostridium perfringens* enterotoxin A in stool samples of patients with antibiotic-associated diarrhea // *Infection.* — 2005. — 33. — 340-4.
65. Cohen S.H., Gerding D.N., Johnson S. et al. Clinical practice guidelines for *Clostridium difficile* infection in adults: 2010 update by the Society for Healthcare Epidemiology of America (SHEA) and the Infectious Diseases Society of America (IDSA) // *Infect. Control. Hosp. Epidemiol.* — 2010. — 31. — 431-55.
66. Bobak D., Arfons L.M., Creger R.J., Lazarus H.M. *Clostridium difficile* associated disease in human stem cell transplant recipients: coming epidemic or false alarm? // *Bone Marrow. Transplant.* — 2008. — 42. — 705-13.
67. Wistrom J., Norrby S.R., Myhre E.B. Frequency of antibiotic-associated diarrhoea in 2462 antibiotic-treated hospitalized patients: a prospective study // *J. Antimicrob. Chemother.* — 2001. — Vol. 47.— P.43-50.
68. Bartlett J.G. Antibiotic-associated diarrhea // *N. Engl. J. Med.* — 2002. — Vol. 346, № 5. — P. 334-339.
69. LaRosa M., Bottaro G., Gulino N. Prevention of antibiotic-associated diarrhea with *Lactobacillus sporogens* and fructo-oligosaccharides in children: a multicentric doubleblind vs. placebo study // *Minerva Pediatr.* — 2003. — № 55. — P. 447-452.
70. Turck D., Bernet J.P., Marx J. et al. Incidence and risk factors of oral antibiotic-associated diarrhea in an outpatient pediatric population // *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* — 2003. — № 37. — P. 22-26.

71. Майданник В.Г. Антибиотикассоциированная диарея, связанная с *Clostridium difficile* // Здоров'я України. — 2010. — С. 20-22.
72. McFarland L.V., 2010 Probiotics and Diarrhea // Ann. Nutr. Metab. — 2010. — № 57 (suppl. 1). — P. 10-11.
73. Vonberg R.P., Reichardt C., Behnke M. et al. Cost of nosocomial *Clostridium difficile*-associated diarrhea//J. Hosp. Infect. — 2008. — Vol. 70. — P. 15-20.
74. Майданник В.Г. Антибиотикассоциированная диарея, связанная с *Clostridium difficile* // Здоров'я України. — 2010. — С. 2022.
75. Lusk R.H., Fekety F.R., Silva J.J., Bodendorfer T., Devine B.J., Kawanishi H., Korff L., Nakauchi D., Rogers S., Siskin S.B. Gastrointestinal side effects of clindamycin and ampicillin therapy//J. Infect. Dis. — 1977.— Suppl. 135. — P. 111-119.
76. Мазанкова Л.Н. Эпидемиологические аспекты *C.difficile*- инфекции у детей/Л.Н. Мазанкова, Ильина Н.О., Юнее Б., Гамева Е.В., Кондратенко Н.Н. // Инфектология. - Том 2. - №3.- 2010. Материалы Всероссийского ежегодного конгресса «Инфекционные болезни у детей: диагностика, лечение и профилактика», С.-Пб. С. 117-118.
77. Wistrom J., Norrby S.R., Myhre E.B. Frequency of antibiotic-associated diarrhoea in 2462 antibiotic-treated hospitalized patients: a prospective study // J. Antimicrob. Chemother. — 2001. — Vol. 47. — P. 43-50.
78. Alam S., Mushtag M. Antibiotic Associated Diarrhea in Children // Indian Pediatric. -2009. – Vol. Jun; 46(6). P. 491-496.
79. Юнее Б. *Clostridium difficile* -инфекция у детей: факторы риска инфекционного и неинфекционного генеза / Б.Юнес, Мазанкова Л.Н., Курохтина И.С., Самарина О.Ю. // Сб. аннотированных докладов IV Всероссийской научно-практической конференции «Инфекционные аспекты соматической патологии у детей», М.- 2011.- С. 119-121.
80. Мазанкова Л.Н. Эпидемиология и клинические варианты *Clostridium difficile* -инфекции у детей / Л.Н. Мазанкова, Юнее Б., Горбунов С.Г., Курохтина И.С. // Детские инфекции.- 2012.-№3.- С.39-42.
81. Антибиотик-ассоциированные диареи у детей: проблема и решение / И.Н. Захарова, Л.Н. Мазанкова, Б. Юнее // Учебное пособие для врачей.- М., 2011.- РМАПО.-47 с.
82. Мазанкова Л.Н. Совершенствование дифференциальной диагностики ОКИ различной этиологии / Л.Н. Мазанкова, Юнее Б., Курохтина И.С., Храмова Е.Н. // Материалы IX конгресса детских инфекционистов. - 2010 г. - С. 57.
83. Кучеренко Н.П. Клинико-этиологическая характеристика кишечных расстройств у детей раннего возраста Донецкий национальный медицинский университет им. М. Горького. Акушерство и гинекология. Клинические исследования. Журнал «Здоровье ребенка» 6 (66) 2015.
84. Р.Х.Бегайдарова, 1995; Е.А.Огай и соавт., 1995; В.Ф.Учайкин и соавт., 1996; М. J. Farthing, 2000. А.К.Катарбаев, 1995; А.А.Курмангалиева, Е.А.Огай, А.Л.Котова и соавт., 1999; Г.К.Азнаметова, 1999. Онищенко Г.Г., 2006;

- Учайкин В.Ф., 2007; Феклисова Л.В.. 2007. Обзор литературы. Нарушения биоценоза кишечника детей – реконвалесцентов ОКИ и пути их коррекции.
85. Воротынцева Н. В. Острые кишечные инфекции у детей/Н. В. Воротынцева, Л. Н. Мазанкова. М. : Медицина, 2001. - 480 с.
86. Whelan K., Schneider S.M. Mechanisms, prevention, and management of diarrhea in enteral nutrition // *Curr. Opin. Gastroenterol.* — 2011. — 27. — 152-9.
87. Постникова Е. А. Изучение качественного и количественного состава микрофлоры кишечника у клинически здоровых детей в раннем возрасте/Е. А. Постникова, А. П. Пикина, Л. И. Кафарская//Журнал микробиологии. 2004. - № 1. - С.67-69.
88. Николаева И. В. Кишечная микрофлора у здоровых детей раннего возраста/И. В. Николаева, В. А. Анохин, И. А. Айнутдинова//Российский вестник перинатологии и педиатрии. 2009. - № 2. - С. 3033.
89. Нисевич Н. И. Инфекционные болезни у детей в XX веке и проблемы века XXI/Н. И. Нисевич//Педиатрия. 2001. - спец. выпуск. - С. 5-9.
90. Горелов А. В. Клинические рекомендации по диагностике и лечению ОКИ у детей: пособие для врачей/А. В. Горелов, Л. Н. Милютина, Д. В. Усенко. М(.: б.и., 2006. - 109 с.
91. Подколзин А. Т. Сезонность и возрастная структура острых кишечных инфекций/А. Т. Подколзин, Е. Б. Фенске//Терапевтический архив. -2007. -№ 11. С. 10-16.
92. Heimesaat M.M., Granzow K., Leidinger H., Liesenfeld O. Prevalence of *Clostridium difficile* toxins A and B and *Clostridium perfringens* enterotoxin A in stool samples of patients with antibiotic-associated diarrhea // *Infection.* — 2005. — 33. — 340-4.
93. Bobak D., Arfons L.M., Creger R.J., Lazarus H.M. *Clostridium difficile* associated disease in human stem cell transplant recipients: coming epidemic or false alarm?//*Bone Marrow. Transplant.* — 2008. — 42. — 705-13.
- 94 Polage C.R., Solnick J.V., Cohen S.H. Nosocomial diarrhea: evaluation and treatment of causes other than *Clostridium difficile*//*Clinical practice.* — 2012. — 55. — 982-989.
95. Cohen S.H., Gerding D.N., Johnson S. et al. Clinical practice guidelines for *Clostridium difficile* infection in adults: 2010 update by the Society for Healthcare Epidemiology of America (SHEA) and the Infectious Diseases Society of America (IDSA)//*Infect. Control. Hosp. Epidemiol.* — 2010. — 31. — 431-55.
96. Hensgens M.P., Goorhuis A., Dekkers O.M. et al. Time interval of increased risk for *Clostridium difficile* infection after exposure antibiotics//*J. Antimicrob Chemother.* — 2012. — 67. — 742-8.
97. Wilcox M.H. Overcoming barriers to effective recognition and diagnosis of *Clostridium difficile* infection // *Clin. Microbol. Infect.* — 2012. — 18(Suppl. 6). — 13-20.
98. Бельмер С. В. Антибиотик ассоциированный дисбактериоз кишечника / С. В. Бельмер // РМЖ. - 2004. - № 3. - С. 148-151.
99. *Clostridium difficile* infection in Europe//A CDI Europe Report April 2013—44.

100. Бабаян М.Л. Современные методы профилактики антибиотико-ассоциированных диарей у детей//Детская гастроэнтерология и нутрициология – 2005. – Т.13, №18. – С. 1205 -1207.
101. Малов В.А., Антибиотико-ассоциированные диареи.//Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия.-2002.-№1.-С.24-27.
102. Осипенко М.Ф. Бикбулатова Е.А. Антибиотико-ассоциированная диарея.//Фарматевтика.-2007.-№13.-С.89-90.
103. Шифрин О.С., Андросова Л.Н. Антибиотико-ассоциированная диарея: новые возможности лечения и профилактики.//Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопротктологии.-2003.-№5.-С.82-86.
104. Шульпекова Ю.О. Антибиотико-ассоциированная диарея.//РМЖ.-2007.-Том 15, №6.-С.1-6.
105. Strategies to prevent/Dubberke E.R.et al. // Infect Control Hosp Epidemiol. 2008; 29:S81-S92.
106. Бургасов П.Н., Румянцев С.н. Эволюция клостридозов издательство. – Москва. Медицина, 1974.-248с.
107. A one-year intensified study of outbreaks of gastroenteritis in The Netherlands/Van Duynhoven YTHP, Jager CM, Kortbeek LM, et al.// Epidemiol Infect. -2005. – P.133:9-21.
108. Expression of calprotectin in colon mucosa and fecal of patients with ulcerative colitis/W.B.Liu, Y.M.Lu, Z.Jin et.all.//Beijing Da Xue Xue Bao. 2005 Apr 18; 37 (2):179-82.
109. Role of Clostridium difficile/M.Cerquetti et al.//Pediatr.Infect.Dis J14:598-603.