

В.Г. Майданник

**АНТИБИОТИКО-АССОЦИИРОВАННАЯ
ДИАРЕЯ У ДЕТЕЙ**

Київ — 2013

Майданник В.Г. Антибиотико-ассоциированная диарея у детей.- К., 2013.- 38 с.

В клинических рекомендациях систематизирован и обобщен материал об эпидемиологии, этиологии и клинических проявлениях антибиотико-ассоциированной диареи у детей. Даны точные дефиниции, сформулированы факторы риска развития антибиотико-ассоциированной диареи, названы наиболее часто вызывающие заболевание микробные агенты. Изложены современные взгляды на механизмы развития антибиотико-ассоциированной диареи у детей, освещены вопросы классификации и дифференциальной диагностики, а также рассмотрены достижения и возможные перспективы в области их диагностики, лечения и профилактики. Большая часть книги посвящена диарее, ассоциированной с *Clostridium difficile* у детей. С позиции доказательной медицины и с учетом результатов мета-анализов представлены современные подходы к лечению и профилактике антибиотико-ассоциированной диареи у детей с помощью пробиотиков.

Антибиотикоассоциированная диарея, связанная с *Clostridium difficile* (A04.7) – это острое заболевание кишечника, которое возникает как осложнение антибактериальной терапии и обусловлено *Clostridium difficile*.

Эпидемиология. *Clostridium difficile* часто обнаруживаются в окружающей среде и могут быть изолированы из почвы. Основной механизм передачи инфекции — фекально-оральный. Источником инфекции является человек (чаще — пациенты, получающие антибиотики широкого спектра действия, и дети).

Носительство *Clostridium difficile* особенно распространено у здоровых новорождённых (до 50%), но именно у них наблюдают самый низкий уровень поражений (табл.1). По мере развития нормальной микрофлоры (6-12 мес) число носителей уменьшается и среди здоровых взрослых лиц не превышает 3-5% (Bartlett, Perl, 2005).

Таблица 1

**Частота выделения *Clostridium difficile* и обнаружения ее токсинов
(С.М. Захаренко, 2008; Kelly, Lamont, 1998)**

Категории обследованных	Выделение <i>Clostridium difficile</i> , %	Обнаружение токсина, %
Здоровые взрослые	2-3	0,5
Новорожденные (здоровые)	30-70	5-60
Больные с патологией ЖКТ (не получающие антибиотики)	2-3	0-1
Пациенты, получающие антибиотики (без диареи)	10-20	2-8
Антибиотико-ассоциированные диареи	15-30	15-25
Псевдомемброзный колит	90-100	90-100

Что касается эпидемиологии *Clostridium difficile*-ассоциированных заболеваний, то в середине и в конце 90-ых годов прошлого столетия уровень заболеваемости в США был достаточно устойчивым, составляя 30-40 случаев на 100000 населения (McDonald et al., 2006; Kelly, LaMont, 2008). В 2001 году это число повысилось почти к 50, а в последующем увеличилось в 2005 году до 84 случаев на 100000 населения, что было почти три раза выше уровня 1996 года (31 на 100000 населения).

Обращает внимание, что в течение последнего десятилетия наблюдается устойчивое увеличение заболеваемости *Clostridium difficile*-ассоциированными заболеваниями. Так, по данным McFarland (2008), только в США к 2010 году прогнозируется увеличение количества случаев *Clostridium difficile*-ассоциированных заболеваний и частоты лабораторного выделения *Clostridium difficile* в течение года в 3-4 раза, достигая 450 000 – 700 000 больных в год (рис.1).

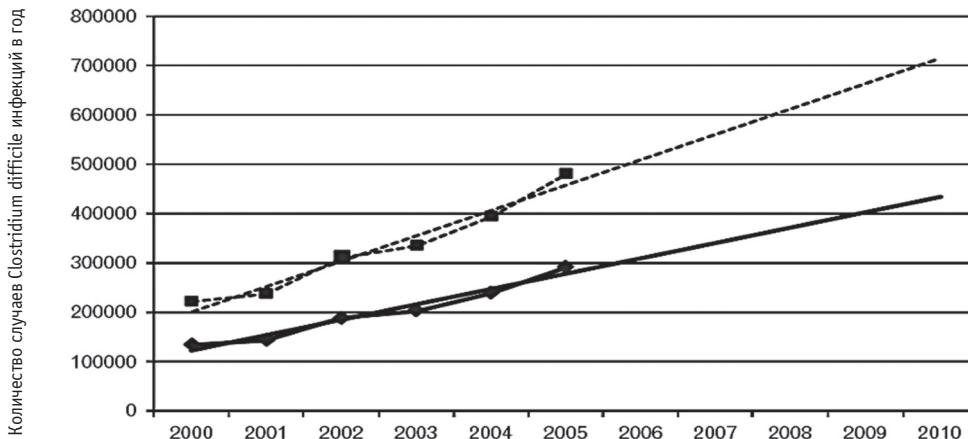


Рис.1. Фактическое и прогнозируемое количество случаев возникновения *Clostridium difficile* инфекции в течение года в США (McFarland, 2008)

Примечание. Сплошной линией обозначено абсолютное количество случаев возникновения случаев *Clostridium difficile* инфекций в течение года; пунктирной линией обозначено количество случаев лабораторного выделения *Clostridium difficile* в течение года.

Что касается Украины, то нами (В.Г. Майданник и соавт., 2010) проведено открытое многоцентровое исследование частоты возникновения АД у детей, носителей токсинов *Clostridium difficile*. Исследование проводилось на базе педиатрических кафедр Национального медицинского университета им. А.А. Богомольца, Запорожского государственного медицинского университета, Львовского национального медицинского университета им. Д.Галицкого, Харьковского национального медицинского университета, Крымского государственного медицинского университета им. С.С. Георгиевского, Донецкого национального медицинского университета им. М.Горького. Кроме общеклинического исследования определяли в кале токсины А и В *Clostridium difficile* методом ELISA до и через 3 недели после начала терапии.

Результаты проведенных исследований указывают, что до лечения носительство токсинов А и В *Clostridium difficile* выявлялось у 12,3% обследованных детей (В.Г. Майданник и соавт., 2010). При этом наиболее часто носительство регистрировалось среди детей первого года жизни (22,7%), затем с возрастом уменьшалось до 14% у детей в возрасте от 1 до 3 лет, 8,3% у детей в возрасте 3-6 лет, 9,5% у 7-12-летних и 7,4% у детей старше 13 лет (рис.2). При этом не выявлено каких-либо особенностей анамнеза заболевания и анамнеза жизни, клинической или лабораторной картины, которая бы отличала бы детей с токсиносительством от детей с отрицательным значением теста на токсины А и В *Clostridium difficile*.

Проведенные исследования показали, что АД на фоне приема антибиотиков возникала у 15,5% детей, находившихся под наблюдением. Причем среди детей, носителей токсинов А и В *Clostridium difficile* – в 3 раза чаще, чем у детей группы сравнения (соответственно у 36% и 12,4%; P<0,05) (В.Г. Майданник и соавт., 2010).

Наиболее часто АД была отмечена у детей, получавших комбинацию антибиотиков кларитромицин+амоксициллин (у 8% основной группы и 36,8% контрольной; P<0,05), цефодокс или

цефикс (25,8%), цефтриаксон или сульбактомакс (23,3%). Несколько реже ААД отмечено при приеме других антибиотков цефалоспоринового (цефуроксим, цефутил, цефотоксим, цефтазидим, цефазолин, цефлекс, лексин), пенициллинового ряда (амоксикилав, амоксициллин), макролидов (макропен, сумамед, ровамицин, кларитромицин) – у 2,6% детей основной и 8,7% контрольной групп (В.Г. Майданник и соавт., 2010).

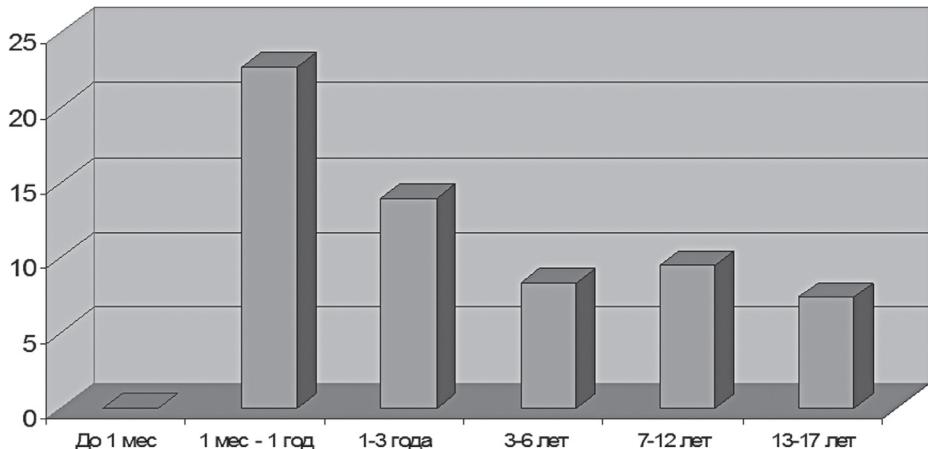
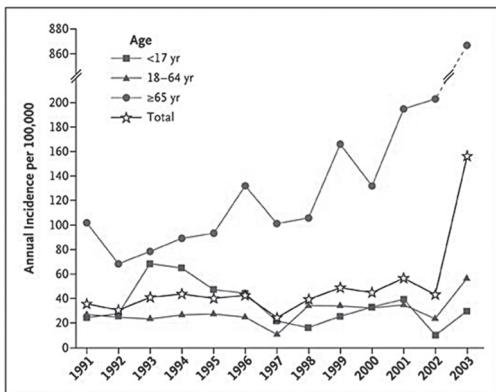


Рис.2. Частота носительства токсинов A и B *Clostridium difficile* у детей, проживающих в Украине

Обращает также внимание, что в последнее время появились сообщения о спорадических вспышках заболеваний, ассоциированных с *Clostridium difficile*. Так, в провинции Квебек (Канада) в течение 1991–2000 гг. уровень заболеваемости *Clostridium difficile* инфекции был довольно устойчив, находясь в пределах 22,2–25,2 на 100 000 населения (рис.3). Однако в 2003 г. количество новых случаев заболевания в течение года возросло в 4 раза, достигнув 92,2 случаев на 100 000 населения (Pepin et al., 2004; Loo et al., 2005). Причем повышение заболеваемости наблюдалось во всех возрастных группах населения (рис.3).

Рис.3. Ежегодная частота новых случаев *Clostridium difficile* инфекции в Sherbrooke (провинция Quebec, Канада)



Особое беспокойство вызывает увеличение числа тяжелых и нередко фатальных случаев *Clostridium difficile* инфекции (Pepin et al., 2004; Loo et al., 2005; Muto et al., 2005). Так, в Англии, например, *Clostridium difficile* инфекция была указана как первичная причина смерти для 499 пациентов в 1999 году, тогда как 2005 году это число увеличилось до 1999 пациентов, а в 2006 году еще увеличилось до 3393 случаев (Kelly, LaMont, 2008).

Увеличение уровня заболеваемости *Clostridium difficile* инфекции в Квебеке в 2003 году также сопровождалось существенным увеличением тяжести болезни и смертности. В частности, из 1703 больных, находившихся под наблюдением авторов, *Clostridium difficile* инфекция была указана как причина смерти в 6,9 % случаев, а в 7,5% случаев как способствующий фактор (Loo et al., 2005).

Недавно опубликованы результаты ретроспективного анализа обследования на наличие токсинов *Clostridium difficile* у 52772 детей в возрасте до 18 лет, лечившихся в 22 детских госпиталях в США в течение 2001-2006 гг. (Kim et al., 2008). Авторами было идентифицировано 4895 больных с наличием *Clostridium difficile*-ассоциированных заболеваний. За период наблюдения ежегодная частота *Clostridium difficile*-ассоциированных заболеваний у детей возросла с 2,6 до 4,0 случаев на 1000 госпитализаций (на 53%; P=0,04) и с 4,4 до 6,5 случаев на 10 000 пациенто-дней (на 47%; P=0,06). Средний возраст больных детей с *Clostridium difficile*-ассоциированными заболеваниями составил 4 года. При этом среди больных было 26% детей первого года жизни. Важно подчеркнуть, что большинство детей (67%) имели различные хронические заболевания (Kim et al., 2008).

В то же время у взрослых, находящихся на лечении в различных стационарах, частота носительства *Clostridium difficile* значительно выше и может достигать 10-20%, а иногда и 40% (Bartlett, Perl, 2005). При этом отмечено, что трансмиссия вегетативных форм *Clostridium difficile* от инфицированных (дети, медицинский персонал, лица, осуществляющие уход за больными и сами пациенты) к здоровым лицам осуществляется через такие факторы передачи, как руки и предметы ухода. Среди новорождённых возможна контактная передача от ребёнка ребёнку или с руками персонала (при пеленании, кормлении и купании одними и теми же руками). Кроме этого, установлена возможность широкого контаминации *Clostridium difficile* различных внутригоспитальных объектов (постельные принадлежности, мебель, душевые, туалеты и др.). Бытовая передача *Clostridium difficile* с участием различных факторов создает серьезный риск развития внутрибольничной инфекции, особенно у пациентов, получающих массивную антибактериальную терапию.

По данным Spivack et al. (2003), 78% больных с *Clostridium difficile*-ассоциированными заболеваниями помимо диареи имеют дополнительные факторы риска. Поэтому авторы считают, что поскольку в детских стационарах *Clostridium difficile* редко вызывают серьезную диарею, а тестировать *Clostridium difficile* довольно сложно, то анализ на выявление *Clostridium difficile* необходимо проводить только детям с серьезной длительной диареей и болью в брюшной полости.

Этиология. *Clostridium difficile* – строго анаэробная, спорообразующая, грамположительная бацилла (рис.4), которая была открыта американскими микробиологами Hall и O'Toole в 1935 году при исследовании кишечной микрофлоры новорожденных и первоначально не рассматривалась как патогенный микроорганизм. Видовое название «*difficile*» («трудный») подчеркивает трудности выделения данного микроорганизма культуральным методом.

Вегетативные формы *Clostridium difficile* обладают способностью продуцировать экзотоксины, среди которых идентифицированы повреждающие кишечную стенку энтеротоксин (токсин A) и цитотоксин (токсин B). ААД вызывают только токсигенные штаммы *Clostridium difficile*.

Важно учитывать, что *Clostridium difficile* имеет отношение далеко не ко всем случаям ААД, чаще выявляется при тяжелых вариантах заболевания. Так, при антибиотикоассоциированном колите и псевдомемброзном колите указанный этиологический фактор обнаруживается у 50–75% и 100% пациентов соответственно. Вместе с тем, при собственно ААД данный микроорганизм ответствен за развитие лишь 10–30% случаев болезни.



Рис.4. Микрофотография бактерий *Clostridium difficile*

Большинство штаммов, выделяемых от пациентов с симптомами ААД, продуцируют два токсина (до 75%), хотя в литературе имеются указания на то, что от больных могут быть выделены штаммы, продуцирующие только один токсин. Оба токсина являются крупными белковыми экзотоксинами с мол. массой 308 kDa токсин A (энтеротоксин) и токсин B (цитотоксин) с мол. массой 270 kDa и 45%-ной гомологичностью по аминокислотному составу, что определяет некоторую схожесть их биологической активности (Bartlett, 2006; Jank et al., 2007).

Кроме того, в 1988 году было установлено, что некоторые штаммы *Clostridium difficile* (в среднем 6%) продуцируют также третий токсин, названный первоначально как двойной (бинарный) токсин, а в последующем CDT (Popoff et al., 1988). Дальнейшие исследования показали, что CDT является актин-специфической АДФ-рибозилтрансферазой (actin-specific ADP-ribosyltransferase), состоящей из двух независимых цепей белка: CDTa - ферментативного компонента (мол. масса 48 kDa) и CDTb - связывающего компонента (мол. масса 99 kDa) (Goncalves et al., 2004; Barbut et al.,

2005; Kelly, LaMont, 2008). В настоящее время установлено, что распространенность штаммов *Clostridium difficile* среди больных людей, которые produцируют двойной (бинарный) токсин, колеблется в пределах от 1,6 до 20,8% (Barbut et al., 2005).

В настоящее время установлено, что синтез токсинов A и B, продуцируемых *Clostridium difficile*, кодируется генами *tcdA* и *tcdB* (рис.12). Они расположены в локусе патогенности, который назван PaLoc (сокр. от англ. C. difficile pathogenicity locus), занимая сегмент в 19,6 kb (Voth, Ballard, 2005; Kelly, LaMont, 2008).

Экспериментальные исследования подтвердили гипотезу о том, что именно локус патогенности PaLoc определяет способность к токсинообразованию у отдельных штаммов *Clostridium difficile*. Нетоксигенные штаммы возбудителя не имеют такого локуса и, следовательно, не могут вызвать развития манифестных форм болезней у человека и животных.

В указанном локусе имеются еще 3 дополнительных гена - *tcdD*, *tcdE* и *tcdC* (рис.5), кодирующих белки, выполняющие регуляторные и транспортные функции (Nord, 2008; Kelly, LaMont, 2008).

Кроме того, было установлено, что гены *cdtA* и *cdtB*, расположенные на неизвестном расстоянии от PaLoc (рис.5), кодируют соответственно ферментативный и связывающий компоненты двойного (CDT) токсина (Kelly, LaMont, 2008).

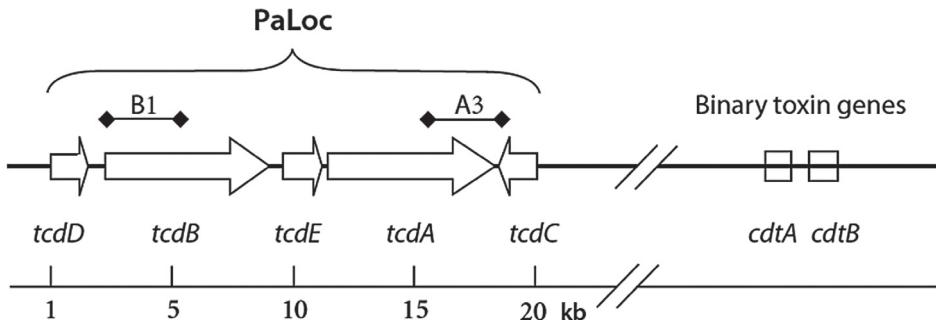


Рис.5. Схема главных генов в патогенном локусе (PaLoc) *Clostridium difficile*

Примечание. B1 и A3 – обозначено местоположение и относительный размер генных фрагментов, которые подверглись амплификации в цепной полимеразной реакции при типировании токсинов.

Данные о структуре генома *Clostridium difficile* свидетельствуют о наличии гена *tcdD*, который локализуется несколько выше группы генов, кодирующих синтез токсинов A и B (рис.6). Субстанция TcdD, кодируемая геном *tcdD*, необходима для экспрессии *tcdA*- и *tcdB*-генов *in vivo* и активации транскрипции указанных генов *in vitro*. Субстанция TcdD функционирует как альтернативный σ (сигма)-фактор для фермента РНК-полимеразы, которая является промотором синтеза токсинов A и B (Dupuy et al., 2008).

Под влиянием определенных факторов, действующих на бактериальную клетку извне (например, уменьшение концентрации в окружающей среде питательных субстратов), усиливается син-

тез субстанции TcdD, которая активирует транскрипцию генов tcdA и tcdB за счет активации tox-промотора. Синтез даже малого количества субстанции TcdD катализирует ее дальнейшее лавинообразное накопление. Напротив, увеличение содержания в окружающей микроорганизм среде глюкозы или других питательных субстратов вызывает ингибирующий эффект на синтез субстанции TcdD. Вполне вероятно, что и активность tox-промоторов находится под непосредственным регулирующим влиянием определенных факторов внешней среды (Dupuy et al., 2008).

Что касается обнаруженного гена tcdC (рис.6), то считают, что он выполняет роль негативного регулятора транскрипции генов, синтезирующих токсины A и B (Dupuy et al., 2008). Было установлено, что продуктом этого гена является кислый белок TcdC с мол. массой 26 kDa, который связан с мембраной и имеет трансмембранный домен в N-терминальной области белка (Govind et al., 2006). Кроме того, было показано, что TcdC формирует димер, который находится в средине части белка (Dupuy et al., 2008).

Однако выявленные биохимические особенности не указывали на то, каким образом TcdC может работать. Проведенный анализ его последовательностей показывает, что TcdC не подобен любому известному регулирующему белку и никакой ДНК-связывающий участок не был идентифицированный. Основанная на свойствах TcdC, одна из гипотез заключается в том, что TcdC может функционировать как анти-сигма (σ) фактор (Dupuy et al., 2008). Считают, что анти-сигма(σ) факторы являются трансмембранными белками, которые регулируют экспрессию генов, модулируя активность родственного σ фактора (Dupuy et al., 2008). При этом авторы полагают, что механизм его действия состоит в изоляции родственного сигма (σ)-фактора, предотвращая, таким образом, формирование активной РНК-полимеразы (рис.6).

В локусе патогенности PaLoc *Clostridium difficile* выявлен также ген tcdE (рис.13), который, как полагают, кодирует синтез белка TcdE, играющего очень важную роль при выделении токсина из клетки (Dupuy et al., 2008). Считают, что он обеспечивает формирование пор и лизис плазматической мембраны, способствуя тем самым выделению токсинов из клетки.

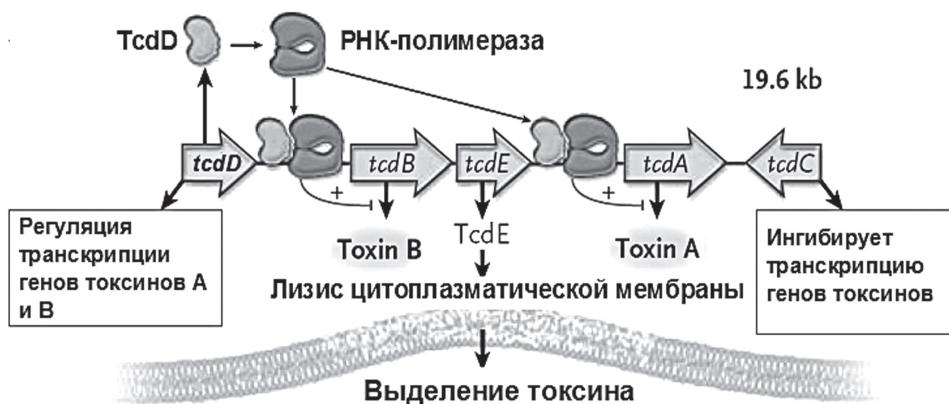


Рис.6. Схема регуляции синтеза токсинов A и B *Clostridium difficile*

Токсин А представляет собой белок с мол. массой 308 kDa и состоит из 2710 аминокислот (рис.7), тогда как токсин В состоит из 2366 аминокислот и имеет мол. массу 270 kDa (Voth, Ballard, 2005). Оба токсина имеют N-терминальный домен, состоящий из 546 аминокислот, который обладает глюкозилтрансферазной ферментативной активностью и оказывает токсический эффект на клетки (Giesemann et al., 2008).

Токсины А и В в своей структуре имеют также C-терминальный домен, состоящий соответственно из 862 и 515 аминокислотных остатков (рис.7), которые составляют область названную «объединением повторяющихся олигопептидов» (combined repetitive oligopeptides) или сокращенно CROPs (Giesemann et al., 2008). Токсин А в C-терминальном домене несет 30 CROPs, имеющих размеры от 21 до 50 аминокислотных остатков, тогда как токсин В несет только 19 CROPs (Kelly, Lamont, 2006). Что касается функционального значения, то считают, что указанный домен имеет важное значение для распознавания рецепторов различных клеток и прикрепления к ним (Giesemann et al., 2008; Jank, Aktories, 2008). В частности, полагают, токсин А *in vivo* связывается со специфическими рецепторами, содержащими галактозо- β -1,4-N-ацетилглюкозамин, который входит в состав полисахаридных антигенов, обнаруживаемых на эпителиальных клетках кишечника человека. Для токсина В рецепторы пока остаются неидентифицированными (Bartlett, 2006; Jank et al., 2007).

Между N- и C-терминальными доменами расположен небольшой, состоящий из 172 аминокислот, гидрофобный домен (рис.7). Считают, что он наиболее вероятно ответственен за перемещение токсинов через цитоплазматическую мембрану. Поэтому его еще называют как «трансмембранный домен» (transmembrane domain) или как «область перемещения» (translocation domain). Проведенные исследования показали, что удаление этой гидрофобной области существенно влияет на токсическую активность (Jank, Aktories, 2008).

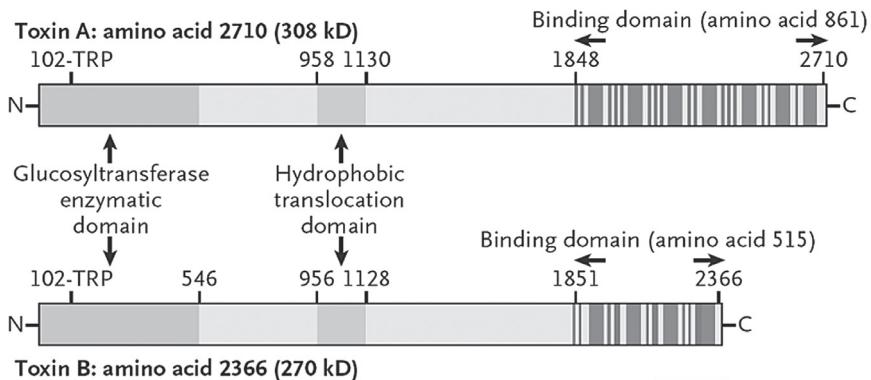


Рис.7. Структура токсинов *Clostridium difficile*

Между N-терминальным и гидрофобным доменами расположен небольшой, состоящий из 223 аминокислотных остатков, цистеин-протеазный домен (рис.7), который подобен RTX токсину вибриона холеры (Jank, Aktories, 2008). Полагают, что этот домен вовлечен в обработку и сокращение токсина, которая обусловлена каталитической триадой, состоящей из Asp587, His653 и Cys698 (Jank, Aktories, 2008).

Обсуждение факторов патогенности *Clostridium difficile* было бы неполным, если оставить без внимания доказанную способность возбудителя к адгезии. Исследование факторов адгезии в перспективе позволит ответить на вопрос о механизмах персистирования микроорганизма в кишечнике.

В 1988 году Borriello et al. высказали предположение о том, что именно адгезия играет основную роль на начальном этапе развития инфекции. Hennnequin et al. в 2001 году опубликовали результаты экспериментального исследования, свидетельствующего об участии одного из белков теплового шока (GroEL) в адгезии *Clostridium difficile* к клеткам в культуре тканей. Полученная антисыворотка к этому белку блокировала контакт эпителиальных клеток с возбудителем, что подтверждает вероятную роль GroEL в качестве адгезина.

Первым идентифицированным адгезином, продуцируемым *Clostridium difficile*, стал поверхностный мембранный белок Cwp66 (66 кД), кодируемый геном cwp66. Несколько позже был обнаружен ген slpA, кодирующий S-layer precursor protein у некоторых вирулентных штаммов *Clostridium difficile* (C253 и 79-685). Этот белок имеет на С-конце молекулы по-следовательность аминокислот, сходную с таковой у адгезина Cwp66.

В геноме *Clostridium difficile* также имеется ген fliD, кодирующий flagellar cap protein, который, как предполагается, выполняет специфические функции, обеспечивая прикрепление возбудителя к рецепторам эпителиоцитов слизистой оболочки.

Следует отметить, что токсин А (энтеротоксин) оказывает диареенное и летальное действие, а также стимулирует гуанилаткиназу, тогда как токсин В (цитотоксин) оказывает летальное действие, которое в 1000 раз превосходящее действие токсина А, а также нарушает функции мембран с потерей К+ и фибронектина, ингибирует синтез белка.

Кроме того, *Clostridium difficile* проявляет высокую резистентность к антибиотикам широкого спектра действия, что создаёт предпосылки для обширной колонизации кишечника и секреции больших доз токсинов, вызывающих изменения кишечной стенки; чувствительна к действию ванкомицина.

В 2004 году в США проведено исследование, в котором приняли участие инфекционисты по всей стране. Врачей просили сообщить о случаях инфекций, вызванных *Clostridium difficile*, с которыми они столкнулись в последние 6 месяцев. В общей сложности, 210 респондентов сообщило о 3292 подобных случаях. Тридцать восемь процентов врачей-инфекционистов отметили увеличение частоты, а 39% — увеличение тяжести заболеваний, вызванных *Clostridium difficile* (Wainy et al., 2005). Данный микроорганизм представляет проблему и в других странах, в частности, в Канаде, Великобритании и Нидерландах. В 2002 году в больницах Монреаля и юга Квебека начались вспышки тяжёлых заболеваний, вызванных *Clostridium difficile*, что вызвало предположение о том, что возбудитель обладает повышенной вирулентностью. Были собраны штаммы *Clostridium difficile* в Канаде, США и Великобритании, и проведено их токсинотипирование, риботипирование с использованием ПЦР, изучение с помощью гель-электрофореза в пульсирующем поле, а также выявление гена двойного токсина и делеции в предполагаемом гене отрицательной регуляции продукции токсинов А и В (tcdC). Исследована *in vitro* продукция токсинов А и В эпидемическим штаммом и другими штаммами (Wainy et al., 2005).

Оказалось, что штамм *Clostridium difficile* с повышенной вирулентностью, идентифицированный как North American pulsed-field type 1 (NAP1) риботип 027, вызывал 67% случаев внутрибольничных и 37% случаев внебольничных инфекций (Wainy et al., 2005). Штамм NAP1/027 способен вырабатывать в 16 раз больше токсина А и в 23 раза больше токсина В по сравнению с контрольным штаммом, а также штамм NAP1/027 продуцирует дополнительный двойной (бинарный) токсин. Данный штамм имеет деле-

цию в гене *tcdC*, вовлечённом в отрицательную регуляцию токсинообразования. Кроме перечисленных факторов вирулентности, штамм также характеризуется повышенной резистентностью к антимикробным препаратам (в частности, к фторхинолонам), что даёт ему возможность распространяться в лечебных учреждениях (Warny et al., 2005).

По сравнению с пациентами, инфицированными другими типами *Clostridium difficile*, пациенты, инфицированные штаммом NAP1/027, чаще получали терапию фторхинолонами (29,4% против 19,8%; отношение шансов 2,17). Штаммы NAP1/027 содержали гены токсинов A и B, бинарный токсин и ген, регулирующий выработку токсина (*tcdC*), утративший 39 пар оснований, а также точечную мутацию в позиции 184, приводящей к остановке трансляции полипептидной цепи, так называемый стоп-кодон (Goorhuis et al., 2008).

Существует предположение, что вирулентный штамм может распространяться во внебольничных условиях среди людей, не обращающихся за медицинской помощью, хотя для подтверждения этого требуются дальнейшие исследования. Поэтому Warny et al. (2005) считают, что целесообразно проводить в лечебных учреждениях мониторинг за инфекциями, вызываемыми *Clostridium difficile*, путём учёта положительных результатов лабораторных исследований на *Clostridium difficile* и тестов на токсинообразование. Для предотвращения и остановки потенциальных вспышек должны строго соблюдаться меры по инфекционному контролю.

По данным Центра по контролю и предупреждению заболеваний США (CDC, 2008) штамм NAP1/027, вызывающий наиболее тяжелые *Clostridium difficile*-ассоциированные заболевания, встречается у здоровых людей в штате Коннектикут с частотой 7,6 случаев на 100000 населения.

Для развития диареи, обусловленной инфекцией *Clostridium difficile*, необходимо наличие так называемых предрасполагающих, или триггерных, факторов. Таким фактором в подавляющем большинстве случаев служат антибиотики, прежде всего линкомицин и клиндамицин (табл.2). По данным Центра по контролю и предупреждению заболеваний США (CDC, 2008), 68% больных с *Clostridium difficile*-ассоциированными заболеваниями получали антибиотики в течение 3 месяцев, предшествующих возникновению заболевания, в том числе 16% больных получали клиндамицин, 35% - фторхинолоны, 45% - другие антибиотики (цефалоспорины, тетрациклин, макролиды и др.).

Роль антибиотиков в патогенезе диареи сводится к подавлению нормальной микрофлоры кишечника, в частности резкому снижению количества нетоксигенных клоstrидий, и созданию условий для размножения условно-патогенного микроорганизма *Clostridium difficile*. Сообщалось, что даже однократный прием антибиотика может послужить толчком к развитию этого заболевания.

Таблица 2

Антibiактериальные препараты, предрасполагающие к *Clostridium difficile*-ассоциированной диарее (Kelly, Lamont, 2006)

Высокий риск	Средний риск	Низкий риск
Ампициллин	Тетрациклины	Аминогликозиды (парентерально)
Амоксициллин	Сульфонамиды	Метронидазол
Клиндамицин	Макролиды (включая эритромицин)	Бациллазин
Цефалоспорины (2 и 3 поколения)	Хлорамфеникол	Ванкомицин
Линкомицин	Триметоприм	
	Фторхинолоны	

Однако диарея, обусловленная инфекцией *Clostridium difficile*, может развиваться и в отсутствие антибиотикотерапии, при других условиях, при которых наблюдается нарушение нормального микробного биоценоза кишечника. В частности, предрасполагающими факторами могут быть уремия, врожденные и приобретенные иммунодефициты (в том числе на фоне гематологических заболеваний, применения цитостатических препаратов и иммунодепрессантов), кишечная непроходимость, хронические воспалительные заболевания кишечника (неспецифический язвенный колит и болезнь Крона), ишемический колит, сердечная недостаточность, нарушения кровоснабжения кишечника, стафилококковая инфекция (CDC, 2008).

Контингентами риска по развитию тяжелых форм нозокомиальной *Clostridium difficile*-инфекции являются и дети раннего возраста (ослабленные), а также пациенты, длительно находящиеся в стационаре. К факторам риска также относят повторные очистительные клизмы, длительное использование назогастрального зонда, оперативные вмешательства на органах желудочно-кишечного тракта и продолжительное пребывание пациентов в стационаре. Особенно велика угроза развития псевдомембранозного колита после операций на органах брюшной полости. Сообщалось о развитии псевдомембранозного колита на фоне активного применения слабительных средств.

В то же время установлено, что диарея и колит, обусловленные *Clostridium difficile*, могут развиваться не только в стационаре, но и в амбулаторных условиях при использовании антибиотиков широкого спектра действия, особенно у ослабленных пациентов и детей раннего возраста.

Патогенез. Согласно современным представлениям ключевыми звенями патогенеза *Clostridium difficile*-ассоциированной диареи и псевдомембранозного колита являются нарушение микробиосистемы кишечника в результате использования антибиотиков или других препаратов, обладающих антимикробной активностью, колонизация кишечника токсигенными штаммами *Clostridium difficile*, продукция возбудителем токсинов A и/или B и как следствие повреждение слизистой оболочки кишечника и развитие воспалительного процесса. Клинически манифестирующие формы *Clostridium difficile* инфекции реализуются только при наличии всех основных патогенетических факторов. Для развития болезни недостаточно только колонизации кишечника *Clostridium difficile*, равно как и нарушение нормального состава кишечной микрофлоры не приведет к развитию ПМК без участия токсигенных штаммов *Clostridium difficile*.

Патогенез инфекции *Clostridium difficile* складывается из нескольких звеньев (рис.8).

Как известно, нормальная кишечная микрофлора способна эффективно подавлять рост *Clostridium difficile* – явление, получившее название колонизационной резистентности. Изменение микробной популяции кишечника под действием антибиотиков приводит к снижению колонизационной резистентности, изменению содержания аминокислот и нарушению метаболизма углеводов и желчных кислот, осуществляемых резидентными анаэробами.

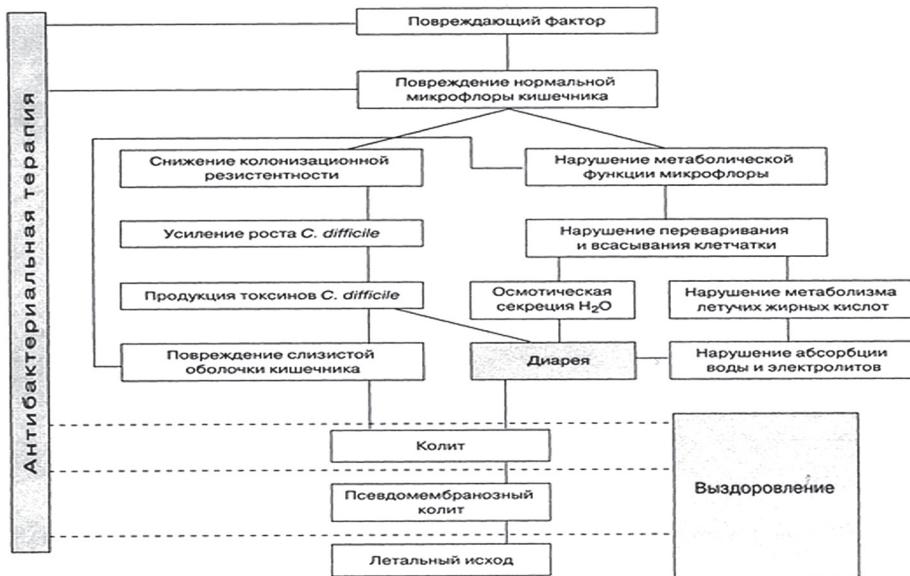


Рис.8. Схема патогенеза инфекции, ассоциированной с *Clostridium difficile* (Ю.В. Лобзин и соавт., 2002)

Нарушение колонизационной резистентности, в свою очередь, значительно повышает чувствительность кишечника к различным микроорганизмам, которые устойчивы к действию повреждающего фактора. К ним, в частности, относится *Clostridium difficile*. Колонизация кишечника данным возбудителем или активация эндогенного резервуара *Clostridium difficile* на этом фоне запускает цепь процессов, приводящих при сочетанном действии определенных факторов к развитию клинически манифестирующих форм инфекции (рис.8).

В создавшихся благоприятных условиях на фоне сниженной колонизационной резистентности начинается прогрессирующее размножение возбудителя. У пациентов с клинически манифестирующими формами болезни плотность колонизации *Clostridium difficile* составляет, как правило, более 108 КОЕ/мл. Вегетативные формы возбудителя размножаются непосредственно в просвете толстой кишки.

После достижения микроорганизмом поздней логарифмической и ранней стабильной фазы размножения в толстой кишке начинаются продукция и выделение *Clostridium difficile* экзотоксинов, приводящих в конечном итоге к диарее и колиту. Большинство штаммов продуцирует оба токсина (A и B). Однако заболевание может вызываться и штаммами, обра-зующими только один токсин. Их энтеро- и цитотоксическое действие приводит к повреждению колоноцитов, усилиению секреции жидкости в полость кишечника и развитию воспаления слизистой оболочки толстой кишки.

Токсины A и B связываются с рецепторами на поверхности клеток (рис.9). Токсин A на C-конце белковой молекулы имеет участок, состоящий из повторяющихся аминокислотных последовательностей, с помощью которого он *in vivo* связывается со специфическими рецепторами, содержащими

жащими галактозо- β -1,4-N-ацетилглюкозамин, который входит в состав полисахаридных антигенов, обнаруживаемых на эпителиальных клетках кишечника человека (Bartlett, 2006; Jank et al., 2007). Кроме того, у человека эта структура имеется в составе гликопептидных антигенов I, X и Y (система Льюиса), расположенных на поверхности клеток кишечного эпителия. Это и обеспечивает прикрепление к ним токсина A *Clostridium difficile*. В большом количестве антиген X также представлен на поверхности нейтрофилов. В связи с этим активация хемотаксиса как результат действия токсина A может быть обусловлена связыванием токсина с гликопептидными антигенами на поверхности лейкоцитов. После прикрепления к клетке токсин проникает в нее посредством эндоцитоза подобно дифтерийному и коклюшному токсинам. Для токсина B рецепторы пока остаются неидентифицированными (Bartlett, 2006; Jank et al., 2007).

После связывания с рецепторами клеток токсины подвергаются эндоцитозу (рис.9). В эндосомах происходит окисление токсинов и высвобождение гидрофобных участков белков, с помощью которых они встраиваются в мембрану. Это происходит в условиях низкого значения pH (в пределах 5,2-6,0). Полагают, что при низком значении pH в эндосомах происходит конформационное изменение белка. При этом высвобождаются гидрофобные области токсинов, которые являются ранее замаскированными в пределах белка (Jank et al., 2007). В последующем, токсины формируют в эндосомах поры в виде ионных каналов и их N-терминальный каталитический домен, который обладает глюкозил-трансферазной ферментативной активностью, перемещается в цитозоль (рис.9).



Рис.9. Схема проникновения токсинов *Clostridium difficile* внутрь клетки (Jank et al., 2007)

Как известно, Rho-протеины являются низкомолекулярными гуанозинтрифосфатазами (GTPases), которые в клетках управляют многочисленными сигнальными путями и регулируют широкий круг клеточных процессов. Rho-протеины относятся к семейству малых гуанозинтрифосфат-связывающих белков (GTPases). В настоящее время описано около 20 Rho GTPases, включая RhoA, Rac1 и Cdc42, которые изучены лучше других (Jank et al., 2008; Gent et al., 2008; Jank, Aktories, 2008).

Rho-протеины обладают липидными модификациями, которые направляют их в клеточные мембранны и могут совершать цикл между гуанозинтрифосфат- (GTP) и гуанозиндифосфат (GDP)-связанными состояниями (рис.10). Связывание с GTP обеспечивается с помощью фактора обмена нуклеотидов гуанина (guanine nucleotide exchange factors - GEF), а GTP гидролиз катализируется GTPase-активирующими протеинами (GTPase-activating proteins – GAP).

Дополнительный уровень регуляции обеспечивается ингибитором диссоциации нуклеотидов гуанина (guanine nucleotide dissociation inhibitors – GDI), который секвестрирует GDP-связанные Rho белки в цитоплазме вдали от GTP-GDP цикла (рис.10).

Следовательно, Rho белки совершают цикл между активной GTP-формой, в которой они могут связываться с различными белками-мишениями, и неактивной GDP-формой (Jank et al., 2008; Gent et al., 2008; Jank, Aktories, 2008). Переход из одной формы в другую в свою очередь регулируется многочисленными клеточными факторами. Среди таких факторов различают ингибирующие белки, одни из которых активируют GTP-азную активность GTP-связывающих белков (GAP- GTPase activating proteins) и переводят их в неактивную GDP-форму, а другие – затрудняют в них замещение GDP на GTP (GDI – GDP dissociation inhibitor), и активирующие белки, которые вызывают обмен GDP на GTP (GEF – GDP/GTP exchange factor), переводя их тем самым в активную GTP-форму (А.А. Минин, А.В. Кулик, 2004).

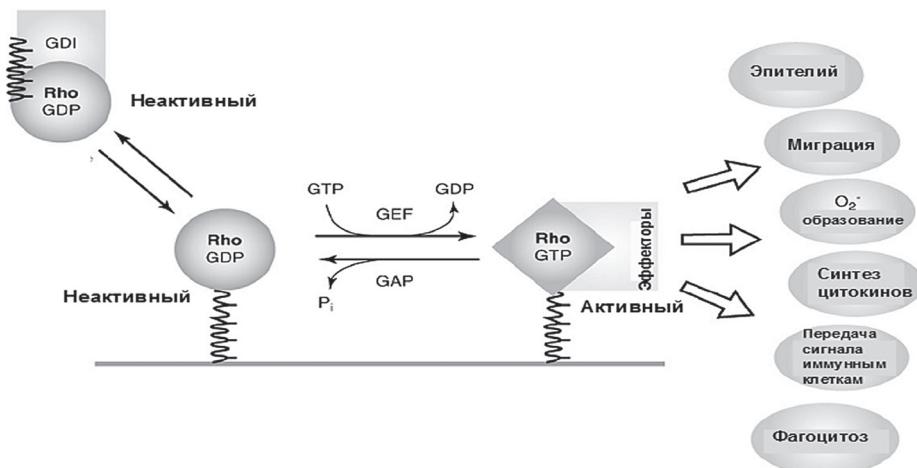


Рис.10. Физиологическое значение Rho GTPases

Примечание. GDP – гуанозиндифосфат; GTP – гуанозинтрифосфат; GDI – ингибитор диссоциации нуклеотида гуанина (guanine nucleotide dissociation inhibitors); GAP – GTPase-активирующие протеины (GTPase-activating proteins); GEF – фактор обмена нуклеотидов гуанина (guanine nucleotide exchange factors).

GTP-связанные Rho белки взаимодействуют с рядом эффекторных молекул, что модулирует их активность и локализацию. Регуляция этих эффекторных белков обязательно ведет к изменению функциональной активности клеток (рис.10). В частности, Rho белки регулируют актиновый цитоскелет, активацию ферментов (например, протеинкиназ, фосфолипаз), влияют на транскрипцию генов, а также на пролиферацию, подвижность и полярность клеток (Jank et al., 2008; Genth et al., 2008; Jank, Aktories, 2008). Как известно, в норме эпителиальные слои характеризуются клеточной полярностью и хорошо организованным расположением специализированных межклеточных соединений – таких как адгезия и межклеточные плотные контакты (*tight junctions*). Повышенные уровни RND3/RhoE, который противодействует функции RhoA, может способствовать потере полярности и многослойности эпителия (Jank et al., 2008; Genth et al., 2008; Jank, Aktories, 2008).

Кроме того, при взаимодействии патогенов с макроорганизмом, а также активными иммунокомпетентными клетками именно Rho белки являются важными для осуществления эпителием барьерных функций, миграции иммунокомпетентных клеток, процессов адгезии, фагоцитоза, образования супероксидных радикалов, секреции цитокинов и свободной передачи сигналов иммунокомпетентным клеткам (Jank et al., 2008; Genth et al., 2008; Jank, Aktories, 2008).

При *Clostridium difficile*-инфекции токсины A и B оказывают цитопатический эффект, который они реализуют через инактивацию Rho-протеинов, входящих в семейство малых гуанозинтрифосфат (GTP)-связывающих протеинов, которые регулируют функции актина цитоскелета клеток и процесс трансдукции клеточных сигналов (рис.11). Механизм действия токсинов A и B заключается в том, что глюкозированные токсины модифицируют Rho белки. В частности, клостридиальные гликозированные токсины изменяют Rho GTPases в треонине 35 или 37, который расположен в switch-I области GTPases. В результате токсины A и B ингибируют взаимодействие эффекторных молекул и блокируют сигнальные пути трансдукции (рис.11). В частности, токсины блокируют обмен нуклеотидов GEFs и ингибируют GAP-стимулированную GTPase активность. Гликозированные Rho белки больше не в состоянии взаимодействовать с GDI и поэтому обнаруживаются в плазматической мембране. Как известно, гликозирование предотвращает образование активного GTP с помощью GTPases, тогда как связывание с самим GTP возможно. Удивительно, но гликозированные токсины вызывают увеличение экспрессии RhoB, который является непосредственно ранним продуктом генов (рис.11). Некоторые RhoB, кажется, в состоянии избежать модификации токсинами A или B и могли бы выполнять важные сигнальные функции (Genth et al., 2008).

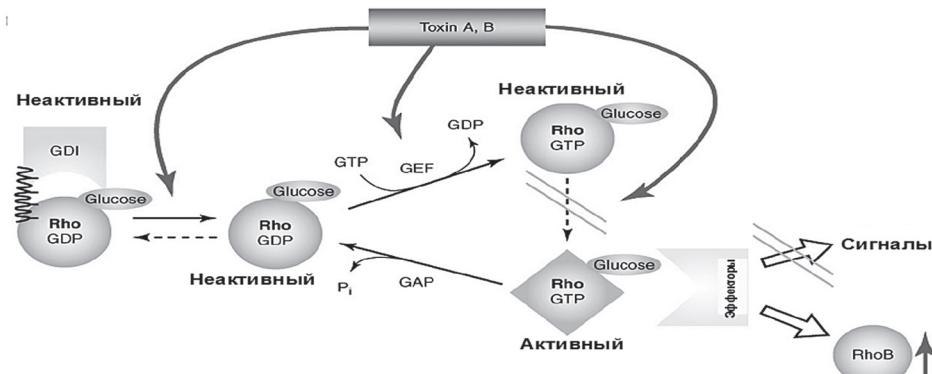


Рис.11. Схема регуляции Rho GTPases токсинами A и B *Clostridium difficile*

Примечание. GDP – гуанозиндинофосфат; GTP – гуанозинтриофосфат; GDI – ингибитор диссоциации нуклеотида гуанина (guanine nucleotide dissociation inhibitors); GAP – GTPase-активирующие протеины (GTPase-activating proteins); GEF – фактор обмена нуклеотидов гуанина (guanine nucleotide exchange factors).

Обусловленная токсинами А и В дисрегуляция Rho-протеинов приводит к разрушению цитоскелета, окружлению клеток, ретракции и апоптозу (Jank et al., 2007). Оба токсина, обладая синергетическим действием, вызывают развитие воспалительной реакции в слизистой оболочке толстой кишки (посредством активации выработки и секреции моноцитами цитокинов) с секрецией богатого белком экссудата, содержащего нейтрофилы, моноциты и слущенные энтероциты (рис.12).

В последующем энтеротоксины А и В играют основную роль в развитии изменений со стороны кишечника. Общеизвестно, что токсин А обладает в 50-400 раз более выраженным летальным эффектом, чем токсин В. В то же время он имеет в 1000 раз меньшую, чем у токсина В, цитотоксическую активность (Ю.В. Лобзин и соавт., 2002). В экспериментах на интактных животных моделях токсин А повышает миоэлектрическую активность колоноцитов, повреждает слизистую оболочку кишечника и вызывает развитие в ней воспалительного процесса, усиливает секрецию жидкости.

Различают прямой и опосредованный повреждающие эффекты токсина А на эпителий кишечника. В экспериментах на лигированной кишечной петле крысы через 1 ч после введения токсина в ее просвете начинает накапливаться жидкость, которая спустя 2 ч становится вязкой, а через 4 ч приобретает геморрагический характер. Максимальный секреторный эффект развивается спустя 6 ч от момента воздействия токсина (Ю.В. Лобзин и соавт., 2002). Полагают, что токсин А повышает секрецию жидкости в просвет кишечника и способствует развитию диареи, стимулируя гуанилаткиназу (Bartlett, 2006; Jank et al., 2007).

Параллельно с усилением секреции жидкости наблюдаются деэпителизация ворсинок и значительное увеличение проницаемости сосудов, в результате чего возрастаёт осмотическое давление в просвете кишечника. Повреждение тканей кишечника в лигированной петле быстро прогрессирует и через 6 ч приводит к развитию некроза слизистой оболочки. В результате действия токсина А повреждаются только ворсинки, крипты остаются интактными (Ю.В. Лобзин и соавт., 2002).

Эпителиальные клетки кишечника опосредованно разрушаются за счет миграции в очаг воспаления большого количества фагоцитов, «привлеченных» гибелью нейтрофилов в результате цитотоксического действия токсинов. Высвобождаемые фагоцитирующими клетками лизосомальные ферменты, как и ферменты, выделяющиеся при разрушении эпителиоцитов, усиливают повреждение клеток.

Как уже указывалось, токсин А усиливает секрецию жидкости в просвет кишечника. По своему характеру она отличается от той, которая секретируется под влиянием энтеротоксинов, продуцируемых другими патогенами, например холерного энтеротоксина. Она имеет большую вязкость и геморрагический характер. Связано это с тем, что жидкость накапливается не за счет нарушения функции ионных насосов, а в связи с разрушением эпителиальных клеток, приводящим к нарушению не только водно-электролитного обмена клеток, но и к проницаемости эпителиального слоя в целом. Поэтому предполагается, что именно токсин А является причиной диареи в начальный период болезни.

Ключевыми медиаторами, опосредующими воспалительный и секреторный эффекты токсина A, являются метаболиты арахидоновой кислоты (простагландины, лейкотриены, фактор активации тромбоцитов), субстанция P, продуцируемые моноцитами илтерлейкины (IL-1, IL-6, IL-8) и фактор некроза опухоли (TNF- α) (Ю.В. Лобзин и соавт., 2002).

Нейтрофилы, обнаруживаемые в большом количестве в псевдомембранах при псевдомембранным колите и подлежащей слизистой оболочке кишечника, играют центральную роль в патогенезе *Clostridium difficile*-ассоциированных болезней. Посредством протеина G токсин A *in vitro* активирует гранулоциты человека, что реализуется путем кратковременного увеличения концентрации несвязанного кальция в цитоплазме клеток и приводит к активации их хемотаксиса и хемокинеза. На модели инфекции *Clostridium difficile* у кроликов моноклональные антитела к поверхностным рецепторам CD1lb/18 нейтрофилов ингибируют как инфильтрацию ими слизистой оболочки кишечника, так и секреторный эффект токсина A (Ю.В. Лобзин и соавт., 2002).

С целью изучения роли отдельных субпопуляций нейронов в развитии повреждения слизистой оболочки кишечника был проведен опыт на денервированной петле подвздошной кишки крысы. Введение токсина A *Clostridium difficile* в денервированную петлю подвздошной кишки сопровождалось снижением секреции на 75% ($p<0,001$), миелопероксидазной активности нейтрофилов - на 92% ($p<0,01$) и уменьшением гистологического повреждения - на 96% ($p<0,001$) по сравнению с таковыми в интактных петлях (Ю.В. Лобзин и соавт., 2002).

Таким образом, внешняя хирургическая денервация способствует защите подвздошной кишки от действия токсина A, продуцируемого *Clostridium difficile*, и препятствует развитию энтерита. В связи с этим высказано предположение, что в формировании повреждения подвздошной кишки играют роль сенсорные нейроны кишечной стенки (Ю.В. Лобзин и соавт., 2002).

Токсин B обладает мощным цитотоксическим действием. В культуре клеток он вызывает в 100-1000 раз больший цитотоксический эффект, чем токсин A. Вероятно, более высокая токсичность токсина B связана в значительной степени с более низкой плотностью рецепторов к токсину A на поверхности клеток, чем с более высокой токсичностью самого токсина B (Voth, Ballard, 2005; Keel, Songer, 2006; Jank et al., 2007).

Токсин B, введенный в эксперименте в кишку хомяков, в отсутствие токсина A не вызывает никакого эффекта на интактную слизистую оболочку. Напротив, в присутствии субтоксических концентраций токсина A или при повреждениях слизистой оболочки токсин B может привести к гибели животного. Эти данные свидетельствуют о том, что эпителиальные клетки кишечника не содержат специфических рецепторов к токсину B. Он может токсически действовать только в том случае, если токсин A или другие факторы приведут к повреждению эпителия, достаточному для проникновения токсина B в глубину слизистой оболочки. Более того, до настоящего времени не идентифицированы специфические рецепторы к токсину B у человека (Voth, Ballard, 2005; Keel, Songer, 2006; Jank et al., 2007).

В экспериментах на крысах токсин B подобно токсину A стимулирует хемотаксис и миграцию нейтрофилов в очаг воспаления. Медиаторами,участвующими в реализации этого эффекта, являются продуцируемый макрофагами TNF- α и метаболиты липооксигеназного пути превращения арахидоновой кислоты (Voth, Ballard, 2005; Keel, Songer, 2006; Jank et al., 2007).

Супернатант макрофагов, обработанный токсином B, не влияет на транспорт ионов в слизистой оболочке тонкой кишки, что наблюдается, однако, при действии токсина A. Это связано с тем, что

в отличие от токсина А токсин В не стимулирует синтез ИЛ-1 β , который в опытах на кроликах активирует транспорт электролитов в подвздошной кишке (Voth, Ballard, 2005; Keel, Songer, 2006; Jank et al., 2007).

Итак, в целом энтеротоксичность *Clostridium difficile* реализуется двумя путями. Прямой эффект заключается в непосредственном действии токсинов на энteroциты и нервный аппарат кишечной стенки. Непрямой эффект обеспечивается за счет активации макрофагов, тучных клеток и других клеток крови и увеличения продукции нейропептидов и провоспалительных цитокинов.

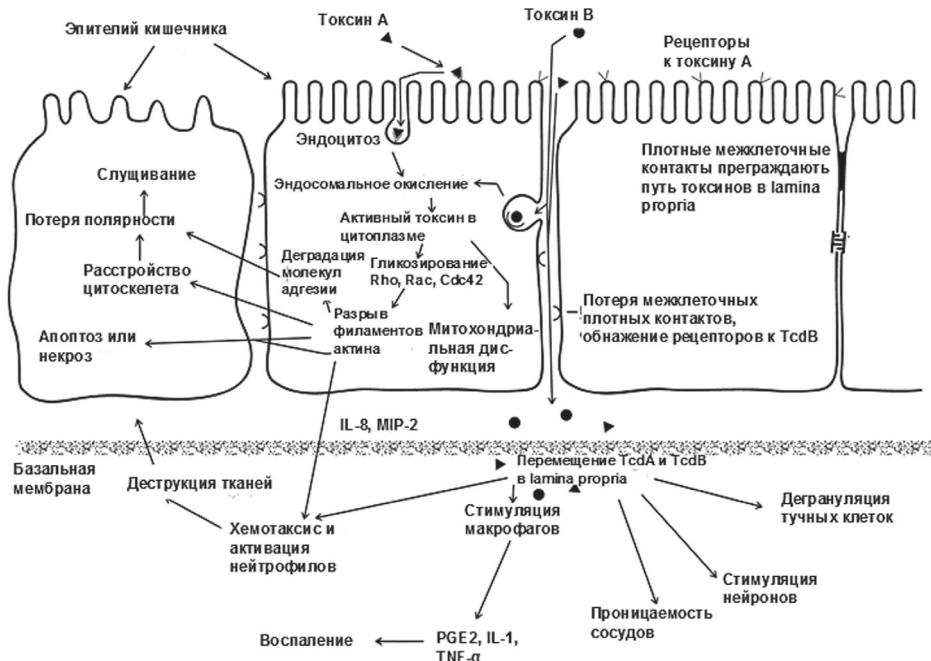


Рис. 12. Механизмы повреждения кишечника токсинами А и В *Clostridium difficile*

Кроме воздействия токсинов, в развитии диареи при *Clostridium difficile* существует ряд других механизмов. Так, подавление антибиотиками резидентных анаэробов приводит к неспециальному изменению микрофлоры кишечника, что в свою очередь нарушает метаболизм и всасывание углеводов, которые в норме расщепляются анаэробами до молочной кислоты и короткоцепочечных жирных кислот. В результате в просвете кишечника накапливаются катионы, связанные с анионами органических кислот и углеводов, что приводит к осмотической диарее. Подавление анаэробной флоры толстой кишки также вызывает нарушение дегидроксилирования желчных кислот (холевой и дезоксихолевой), что дополнительно усиливает диарейный синдром за счет развития секреторной диареи (И.В.Маев и соавт., 2007).

Таким образом, энтеротоксины А и В *Clostridium difficile* играют основную роль в развитии изменений со стороны кишечника. Токсин А обладает просекреторным и провоспалительным действием; он способен активировать клетки – участники воспаления, вызывать высвобождение медиаторов

ров воспаления и субстанции Р, дегрануляцию тучных клеток, стимулировать хемотаксис полиморфноядерных лейкоцитов. Токсин В проявляет свойства цитотоксина и оказывает повреждающее действие на колоноциты и мезенхимальные клетки. Это сопровождается дезагрегацией актина и нарушением межклеточных контактов. Провоспалительное и дезагрирующее действие токсинов А и В приводят к значительному повышению проницаемости слизистой оболочки кишечника. Следовательно, в патогенезе ААД, ассоциированной с *Clostridium difficile*, задействованы секреторный (воздействие энтеротоксина и желчных кислот), осмотический (нарушение обмена углеводов) и экссудативный (воспалительная экссудация в просвет кишечника) механизмы.

Важной проблемой являются частые рецидивы инфекции *Clostridium difficile* (в среднем 20–25%), связанные с персистированием в кишечнике спор бактерий или повторным инфицированием из экзогенного источника. Обычно после проведения этиотропной терапии наступает клиническое выздоровление или улучшение, однако на 2–28-й день (в среднем через 3–7 дней) развивается рецидив диареи, по своей клинической картине практически идентичный первому эпизоду заболевания. Рецидивирующее течение инфекции *Clostridium difficile* связывают с низкой концентрацией у данной категории пациентов сывороточных IgG- и IgM-антител к токсину А.

Клиника и диагностика. Клинические проявления инфекции *Clostridium difficile* варьируют от легкой диареи до жизнеугрожающих состояний, таких как псевдомембранный колит. *Clostridium difficile*-инфекция может протекать в виде асимптоматического бактерионосительства, особенно у новорожденных и детей первого года жизни, или нетяжелой *Clostridium difficile*-ассоциированной диареи (рис.13), а также может приводить к развитию псевдомембранозного колита (А.Л. Заплатников и соавт., 2004; Delmee, 2001).

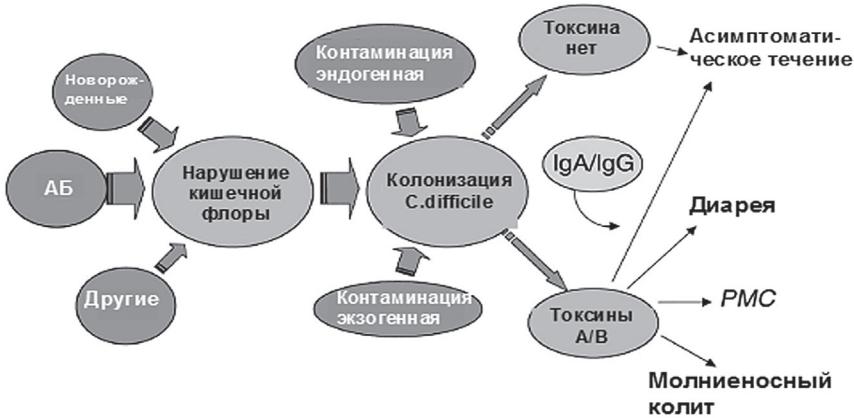


Рис.13. Общая схема развития *Clostridium difficile*-ассоциированных заболеваний (Delmee, 2001). Примечание. PMC – псевдомембранный колит

Кроме того, очень редкой формой *Clostridium difficile*-ассоциированных заболеваний может быть молниеносный колит. Это очень тяжелая форма поражения толстого кишечника. Пациенты с молниеносным колитом страдают обезвоживанием, имеют серьезную боль в брюшной полости, сильный понос с кровотечением и даже шок. У них существует риск возникновения токсического

мегаколона (расширение толстой кишки из-за серьезного воспаления) и разрыва толстой кишки (перфорация). Пациенты с молниеносным колитом очень часто не реагируют на консервативное лечение. Поэтому им необходимо хирургическое удаление толстой кишки, чтобы предотвратить разрыв толстой кишки.

Значительное распространение (более 50%) асимптоматического бактерионосительства *Clostridium difficile* у новорожденных детей и младенцев и крайне низкая частота развития у них манифестных форм инфекции объясняется, по-видимому, особенностями строения клеточной мембранны кишечного эпителия (А.Л. Заплатников и соавт., 2004). Предполагается, что у детей раннего возраста эпителиальные клетки слизистых оболочек кишечника не имеют рецепторов к токсинам *Clostridium difficile*. Вероятно, что в формировании транзиторной резистентности к данной инфекции имеет значение и наличие у детей первого полугодия жизни материнских анти-клоэтиридиальных антител, полученных трансплацентарно (А.Л. Заплатников и соавт., 2004).

***Clostridium difficile*-ассоциированная диарея (A04.7)** у детей часто характеризуется клиническими симптомами нетяжелого колита или энтероколита и обычно протекает без лихорадки и интоксикации. Заболевание начинается вскоре после начала применения антибиотика (в 62% случаев) или через некоторое время после окончания лечения (чаще всего через 2–3 недели). Чаще всего протекает относительно легко, не сопровождается выраженной дегидратацией. В большинстве случаев диарея прекращается после отмены антибиотика и, как правило, не требует специфической терапии.

В клинической картине возможно появление болей в животе, но чаще болезненность со стороны кишечника выявляется лишь при его пальпации. Отмечается легкое или умеренное учащение дефекации, как правило, не приводящее к выраженным водно-электролитным нарушениям.

При бактерионосительстве *Clostridium difficile* и легких вариантах антибиотико-ассоциированной диареи гемограмма, как правило, характеризуется нормальными показателями.

Псевдомемброзный колит (K91.8; A04.7). Заболевание под названием псевдомембранозный энтероколит было впервые описано Finney в 1893 году. Однако только в 1977 году было установлено, что этиологическим фактором, его обуславливающим, является цитотоксин (Larson et al., 1977), который был идентифицирован как цитотоксин, выделяемый *Clostridium difficile* (Larson et al., 1978; Bartlett et al., 1978).

У 35% больных псевдомемброзным колитом локализация воспалительных изменений ограничена толстой кишкой, в остальных случаях в патологический процесс вовлекается и тонкая кишка (И.А. Ерюхин и соавт., 1997; О.Ю. Шульпекова, 2007). Преимущественное поражение толстой кишки, по-видимому, можно объяснить тем, что это преимущественное место обитания анаэробных клоэтиридиий (О.Ю. Шульпекова, 2007).

Клинические проявления псевдомемброзного колита у детей обычно развиваются остро и характеризуются отказом от еды. У 30-50% больных наблюдается лихорадка (не редко до 40°C), интоксикация, диарея, срыгивания, вздутие и боли в животе спастического (абдоминальные колики) характера (А.Л. Заплатников и соавт., 2004) болезненной пальпацией живота по ходу толстого кишечника.

Стул частый, как правило, 3-6 раз в сутки, но нередко может быть до 15–20 раз за сутки. В каловых массах – примесь слизи и крови (реже). Иногда большая часть испражнений представлена густой белесовой слизью и обрывками фибринозных наложений.

Таким образом, псевдомембранозный энтероколит характеризуется образованием и выделением с калом плёнчатого материала — структур, представленных фибрином и слизью, а также наличием псевдомембран.

В случаях резко выраженного учащения стула развивается эксикоз с нарушениями кровообращения, значительно реже отмечается коллапс без предшествующей диареи.

При псевдомембранозном колите изменения в клиническом анализе крови носят неспецифический характер. У 50–60% больных в периферической крови выявляется лейкоцитоз. Количество лейкоцитов в периферической крови составляет при минимальной диарее $12\text{--}20 \times 10^9/\text{л}$. Однако, у 30% больных лейкоцитоз может превышать $30 \times 10^9/\text{л}$. В гемограмме выявляется нейтрофильный лейкоцитоз со сдвигом лейкоцитарной формулы влево. Отмечается также ускорение СОЭ.

Течение псевдомембранозного колита может осложниться кишечным кровотечением, перфорацией и развитием перитонита. Поэтому для своевременного выявления этих грозных осложнений за пациентами с тяжелыми формами *Clostridium difficile* должно проводиться совместное наблюдение педиатра и хирурга.

Иногда, в начале заболевания, до развития диареи или на фоне развития пареза кишечника, наблюдается клиническая картина «острого живота» (И.А. Ерюхин и соавт., 1997). Это должно учитываться у каждого пациента, получающего антибактериальную терапию при проведении дифференциальной диагностики. В случае выраженной диареи на первый план выходят проблемы, связанные с дегидратацией организма и нарушением водно-электролитного баланса.

Описаны случаи рецидивирующего течения манифестных форм клоstrидиоза диффициле, при которых отмена этиотропной терапии или использование антибиотиков в последующие периоды жизни ребенка вновь сопровождались развитием колита. Причинами рецидивов при этом считаются такие факторы, как неполная элиминация кишечника от *Clostridium difficile* и реинфекция (А.Л. Заплатников и соавт., 2004).

Крайне тяжелые и летальные случаи *Clostridium difficile*-инфекции в большинстве случаев отмечаются у детей с выраженной нейтропенией на фоне лейкемии, у младенцев с болезнью Гиршпрунга и у пациентов с хроническими воспалительными заболеваниями кишечника (болезнь Крона, неспецифический язвенный колит). Очень редко может наблюдаться молниеносное течение псевдомембранозного колита, напоминающее холеру. Обезвоживание развивается в течение нескольких часов и заканчивается летальным исходом.

Летальность при развитии ПМК составляет более 30%. Описаны случаи развития токсического мегаколона и некротической перфорации толстой кишки (И.А. Ерюхин и соавт., 1997).

Диагностика псевдомембранозного колита базируется на 4 основных признаках: возникновение диареи после приема антибиотиков, выявление характерных макроскопических изменений толстой кишки, своеобразная микроскопическая картина, а также доказательство этиологической роли *Clostridium difficile*.

Использование методов, позволяющих доказать этиологическую роль *Clostridium difficile*, представляется наиболее строгим и точным подходом в диагностике антибиотикоассоциированной диареи, вызванной этим микроорганизмом. Лабораторное исследование на наличие *Clostridium difficile* рекомендуется проводить детям старше года и взрослым, у которых выявляется необъясняемая диарея, связанная с применением антибиотиков (Bartlett, Gerding, 2008). При этом рекомендуется придерживаться «правила 3-х дней», которое гласит, что различные микро-

организмы могут вызвать диарею до 3 дня после госпитализации, но после 3 дней наиболее вероятным возбудителем является *Clostridium difficile* (Bartlett, Gerding, 2008). Поэтому рекомендуется исследовать образцы фекалий, полученных от больных с диареей после 3-х дневного пребывания в стационаре (Bartlett, Gerding, 2008). Следовательно, при подозрении на антибиотико-ассоциированную диарею и псевдомембранный колит кал пациентов должен быть подвергнут исследованию на наличие *Clostridium difficile* и их токсинов (табл.3).

В настоящее время разработаны методы бактериологического исследования *Clostridium difficile* с использованием специальных селективных сред (Delmée, 2001). Однако бактериологическое исследование анаэробной порции микроорганизмов фекалий малодоступно, дорогостоящее и не отвечает клиническим запросам, так как продолжительность исследования может занимать от 2 до 5 дней (Kelly, Lamont, 1998). Чувствительность бактериологического метода выявления *Clostridium difficile* достаточно высока (89-100%), тогда как специфичность низка вследствие широкой распространенности бессимптомного носительства данного микроорганизма среди госпитальных больных и пациентов, принимающих антибиотики (Kelly, Lamont, 2006; Bartlett, Gerding, 2008). Данный метод не позволяет различать токсикогенные и нетоксикогенные штаммы *Clostridium difficile*. Поэтому методом выбора признано выявление токсинов, продуцируемых *Clostridium difficile*, в кале больных.

Основным лабораторным критерием диагностики данной инфекции является детекция токсинов *Clostridium difficile* в фекалиях. У более чем 95% пациентов с псевдомембранным колитом в фекалиях обнаруживается энтеротоксин *Clostridium difficile*. Для этого используются методы иммуноферментного анализа (ИФА) и цитотоксический тест на культурах клеток с использованием специфических антисывороток в реакции нейтрализации.

ИФА в большинстве лабораторий используется с начала 90-х годов XX века для выявления токсина A или токсинов A и B, что повышает информативность диагностики. Преимуществами метода служат простота и быстрота выполнения (в течение 2-6 ч), а также высокая чувствительность (63-99%) и специфичность, которая составляет 75-100% (Kelly, Lamont, 2006; Bartlett, Gerding, 2008). Однако для качественной диагностики может потребоваться 2-3 кратное повторение исследования, особенно при тяжелом течении (Jaber et al., 2008). Кроме того, метод ИФА по специфичности и чувствительности уступает цитотоксическому тесту. Среди последних наибольшая чувствительность отмечена при детекции в культуре клеток токсина B. Поэтому «золотым стандартом» лабораторной диагностики *Clostridium difficile*-инфекции является цитотоксический тест, направленный на обнаружение токсина B (табл.7). Цитотоксический тест является высоко чувствительным (67-100%) и высоко специфичным методом (85-100%). Однако в случае нарушений оптимальных условий его выполнения, а также при инактивации токсина при его транспортировке и замораживании наблюдается снижение чувствительности теста (Kelly, Lamont, 2006; Bartlett, Gerding, 2008).

Метод латекс-агглютинации менее специфичен и чувствителен (табл.3), а поэтому в настоящее время используется все реже. Вместе с тем, реакция латекс-агглютинации для выявления токсина A *Clostridium difficile* позволяет в течение 15-45 мин установить наличие токсина A в фекалиях. Кроме того, стоимость ее выполнения составляет в среднем \$8 (Bartlett, Gerding, 2008). Поэтому некоторые авторы рекомендуют ее использовать только для экспресс-диагностики (Bartlett, Gerding, 2008).

В последнее время в клинической практике широко используется полимеразная цепная реакция (ПЦР), с помощью которой можно определить гены, кодирующие токсин В или токсин А токсикогенных штаммов *Clostridium difficile* (табл.3). Указанный метод обладает достаточно высокой чувствительностью (100%) и специфичностью, составляющей 96,7-100% (Kelly, Lamont, 2006). При этом было отмечено, что ПЦР имеет высокую конкордантность (99%) с цитотоксическим тестом (Kelly, Lamont, 2006).

Следует отметить, что для этиологической расшифровки диареи у новорожденных и детей первых месяцев жизни выявление токсинов А и В не имеет диагностического значения. Это связано с транзиторной резистентностью детей данного возраста к токсинам *Clostridium difficile*, что и определяет минимальный риск развития у них манифестных форм заболевания (А.Л. Заплатников и соавт., 2004).

Таблица 3

Диагностика Clostridium difficile-инфекции

Тесты	Цель выявления	Время исследования	Чувствительность, %	Специфичность, %
Исследование цитотоксичности на культуре тканей (цитотоксический тест)	Токсин В	24-48 ч	67–100	85 –100
Реакция нейтрализации токсина (на культуре фибробластов)	Токсин В	24-48 ч		~100
Латекс-агглютинация	Бактериальный энзим (глутаматдегидрогеназа)	30 мин	58–92	80–96
Иммуноферментный анализ	Токсин А и/или токсин В	2-6 ч	63–99	75–100
Полимеразная цепная реакция (ПЦР)	Ген, кодирующий токсин В, ген, кодирующий токсин А или оба гена	2-4 ч	100	96,7–100
Культуральный метод	Обнаружение бактерий и их токсигенности <i>in vitro</i>	24-72 ч	89–100	84–99
DOT-иммуноблоттинг	Токсин А	30 мин	58-76	77-91

При эндоскопическом исследовании картина псевдомембранозного колита характеризуется наличием бляшковидных, лентовидных и сплошных «псевдомембран», мягких, но плотно спаянных со слизистой оболочкой (рис.14). Как известно, псевдомембранны это морфологический признак псевдомембранозного колита, которые представляют собой фибринозные пленки, образовавшиеся на участках некроза клеток эпителия слизистой кишки, макроскопически выглядящие как бледные серовато-желтые бляшки размером 2 - 10 мм в диаметре на слегка приподнятом

основании (рис.15). Следует отметить, что псевдомембранны визуализируются при эндоскопическом исследовании у 50% больных с псевдомембранозным колитом. Изменения наиболее выражены в дистальных отделах ободочной и прямой кишок. Слизистая оболочка отечна, но не изъязвлена. Участки изъязвлений выявляются в крайне тяжелых случаях.

Обнаружение при эндоскопическом обследовании толстого кишечника желтоватых бляшек, возвышающихся над «ломкой», легко травматизируемой, гиперемированной слизистой, а также наличие толстого слоя наложений являются верифицирующими признаками псевдомембранозного колита и могут использоваться при проведении дифференциального диагноза (А.И. Парфенов, 2002; А.Л. Заплатников и соавт., 2004).

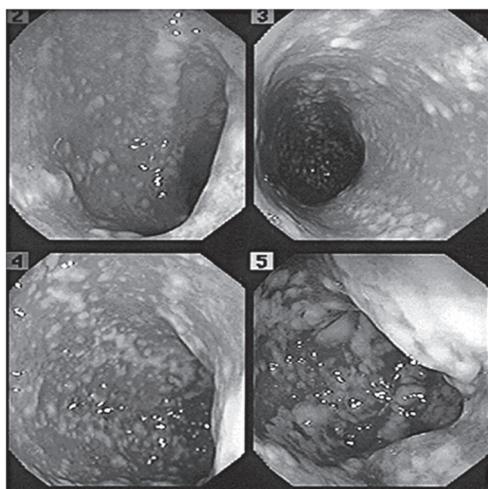


Рис.14. Псевдомембранны в толстом кишечнике при псевдомембранозном колите

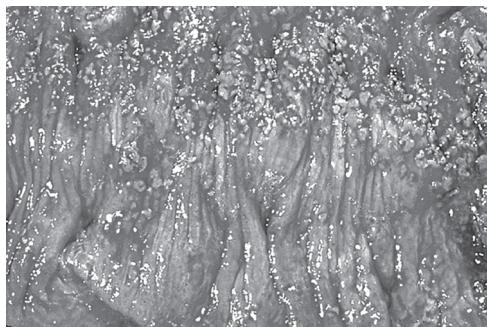


Рис.15. Поражение слизистой оболочки толстого кишечника при псевдомембранозном колите (Mylonakis et al., 2001)

При гистологическом исследовании обнаруживают субэпителиальный отек с круглоклеточной инфильтрацией собственной пластинки, капиллярные стазы с выходом эритроцитов за пределы сосудов (рис.25). На стадии образования псевдомембран, имеющих вид гриба (рис.16), под поверхностным эпителием слизистой оболочки образуются экссудативные инфильтраты. Эпителиальный слой приподнимается и местами отсутствует; оголенные места слизистой оболочки прикрыты лишь слущенным эпителием. В поздних стадиях болезни эти участки могут занимать большие сегменты кишки. При микроскопическом исследовании определяется, что псевдомембрана содержит некротизированный эпителий, обильный клеточный инфильтрат и слизь. В мембране происходит размножение микроорганизмов. В подлежащей интактной слизистой оболочке и подслизистой основе видны полнокровные сосуды.

Таким образом, при псевдомембранозном колите, ассоциированном с *Clostridium difficile*, наиболее ранним гистологическим признаком заболевания является центральный некроз поверхностных эпителиальных клеток в криптах желез с нейтрофильной инфильтрацией и включением фибрина капилляров в собственной пластинке, а также гиперсекреция слизи в смежных криптах.

Это приводит к формированию абсцессов крипта. При прогрессировании заболевания происходит некроз и обнажение слизистой оболочки с тромбозом венул подслизистого слоя. Воспаление стенки кишки, как правило, остается поверхностным, однако поскольку незащищенная подслизистая оболочка подвергается к воздействию фекалий, то это может приводить к дисфункции мускулатуры и последующего расширения толстой кишки.

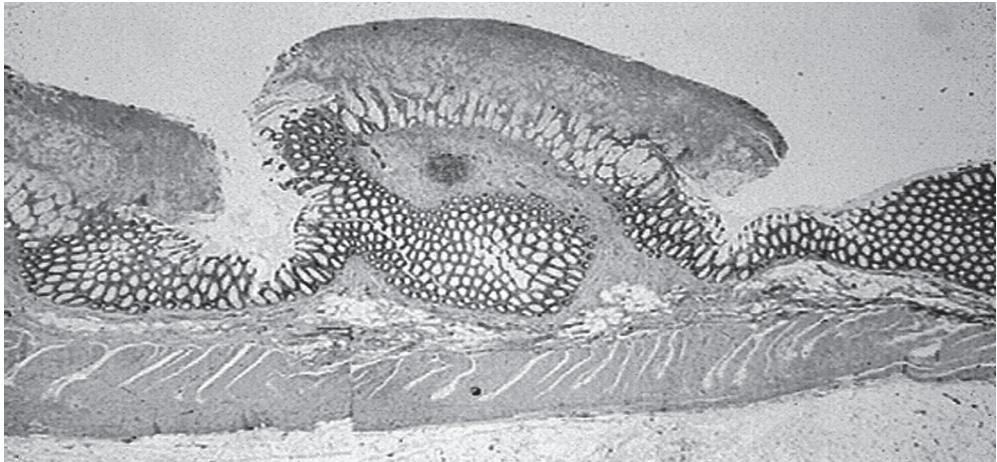


Рис.16. Микроскопические изменения при псевдомемброзном колите (Bartlett, 2008)

При компьютерной томографии можно выявить расширение полости и утолщение стенки толстой кишки (>4 мм) за счет отека и воспаления (рис.17), а также нередко выявляется воспалительный выпот в брюшной полости. Однако указанные признаки не являются строго специфическими.

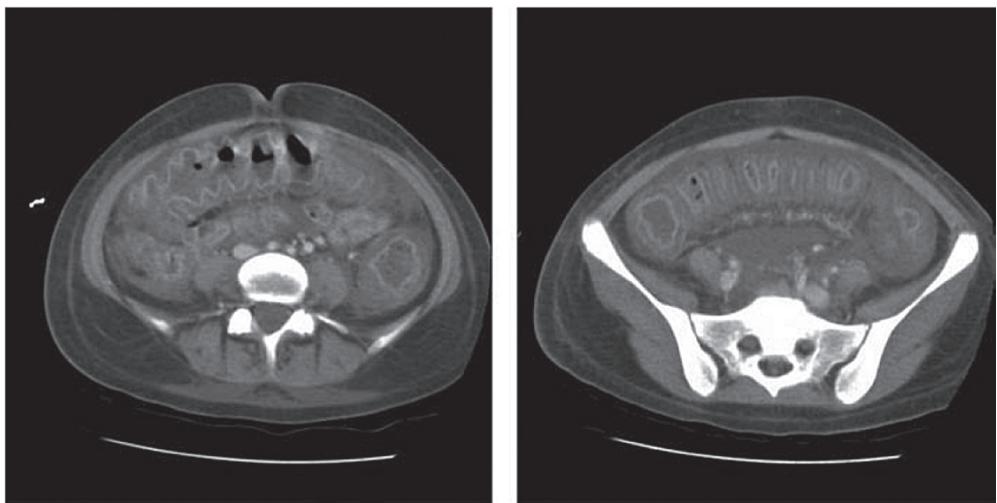


Рис.17. Компьютерная томограмма органов брюшной полости при псевдомемброзном колите, связанном с Clostridium difficile (Jaber et al., 2008)

С помощью обзорной рентгенографии органов брюшной полости у больных псевдомембранозным колитом выявляется расширение и утолщение толстой кишки, а также иногда паралитическая кишечная непроходимость (рис.18). При этом исследование с барием не имеет никакого диагностического значения и может быть даже катастрофическим в случае перфорации кишечника.

Рис.18. Обзорная рентгенограмма органов брюшной полости больного с псевдомембранозным колитом (Mylonakis et al., 2001)



Лечение и профилактика. Как отмечалось ранее, больные с *Clostridium difficile* инфекцией подлежат контактной изоляции с проведением текущей и заключительной дезинфекции. Такой подход диктуется возможностью распространения инфекции от ребенка к ребенку и необходимостью предотвращения контаминации возбудителем объектов окружающей среды (Ю.В. Лобзин и соавт., 2002; А.Л. Заплатников и соавт., 2004).

Асимптоматическое бактерионосительство *Clostridium difficile* у здоровых детей не требует проведения терапевтических мероприятий.

При развитии манифестных форм *Clostridium difficile* инфекции, независимо от степени выраженности клинических проявлений, принципиальным положением является незамедлительная отмена используемых антибиотиков и восстановлении водно-электролитного баланса организма путем проведения оральной регидратации. В некоторых случаях уже эта мера приводит к купированию симптомов болезни. Как показывают некоторые наблюдения, такая тактика приводит к прекращению диареи только у 15–25% больных, в то время как в большинстве случаев возникает необходимость проведения специфической антибактериальной терапии.

Следует избегать назначения препаратов, угнетающих перистальтику кишечника, например лоперамида и дифеноксила гидрохлорида. Так, некоторыми авторами продемонстрирована связь между использованием дифепоксилата, лоперамида и других средств, угнетающих моторику

кишечника, с развитием токсического мегаколона у пациентов с *Clostridium difficile*-ассоциированным колитом и псевдомембранным колитом.

По мнению Ю.В. Лобзина и соавт. (2002), эти препараты, способствуя стазу кишечного содержимого, теоретически увеличивают риск прогрессирования повреждения слизистой оболочки кишечника и усиления воспалительного процесса в связи с увеличением времени контакта слизистой оболочки с токсинами возбудителя. Более того, развитие стаза кишечного содержимого может усиливать размножение *Clostridium difficile*.

Лечение детей, больных различными клиническими формами *Clostridium difficile*-инфекции (диарея, колит, псевдомембранный колит), включает такие основные направления, как этиотропную терапию, направленную на уничтожение *Clostridium difficile* в кишечнике, сорбцию и удаление из просвета кишки микробных тел и их токсинов, восстановление микробной экосистемы кишечника, а также устранение дегидратации и коррекцию нарушений водно-электролитного баланса. Но прежде всего, в случае появления диареи на фоне курса антибиотикотерапии, если возможно, необходимо отменить данный антибиотик.

Диетотерапия. При оценке значения диетических рекомендаций был сделан вывод о том, что голодание безусловно показано при сочетании острой диареи с такими симптомами, как тошнота и рвота. У ослабленных детей с острой диареей раннее возобновление кормления способствует ускорению выздоровления. При острой диарее признано целесообразным соблюдение легкой диеты с исключением жирной и острой пищи, продуктов, стимулирующих перистальтику кишечника, алкоголя, кофе и молочных продуктов. Больным с острой инфекционной диареей рекомендуется - сроком на 2-3 дня - легкая диета с включением в нее таких продуктов, как слизистые супы, рис, подсущенный хлеб, подсоленный крекер, печенный картофель, яйца и др.

Диетические мероприятия направлены на исключение молочных продуктов, свежих фруктов и овощей, мяса. Через 12 часов после купирования диареи питание начинают с неконцентрированного бульона, соленого печенья, добавляют белый хлеб. При снижении частоты дефекаций постепенно в рацион включают рис, печенный картофель, куриный бульон с рисом и домашней лапшой; при нормализации стула - печеную рыбу, яблочный соус, бананы, домашнюю птицу.

Регидратационная терапия признана средством первого выбора в лечении острой диареи у детей, ослабленных лиц и больных пожилого возраста. При этом обращают внимание, что регидратационная терапия не уменьшает частоту стула, не укорачивает продолжительность заболевания, однако, позволяют предотвратить тяжелые последствия, обусловленные дегидратацией.

При нетяжелом течении диареи у взрослых возможен прием больными обычных напитков, богатых глюкозой и электролитами. Самый простой регидратирующий раствор готовится следующим образом: в 1 стакан апельсинового сока (он содержит 1,5 г хлорида калия) добавляют 1/2 чайной ложки поваренной соли (3,5 г хлорида натрия) и 1 чайную ложку соды (2,5 г бикарбоната натрия) после чего кипяченой водой доводят общий объем раствора до 1 л.

При более выраженном обезвоживании показаны специальные регидратационные растворы, имеющие электролитный состав, рекомендованный экспертами ВОЗ (Na^+ - 90 ммоль/л, K^+ - 20 ммоль/л, Cl^- - 80 ммоль/л, HCO_3^- - 30 ммоль/л, глюкоза - 110 ммоль/л). В педиатрической практике с целью борьбы с обезвоживанием при диарее используют препарат регидрон, содержащий в 1 пакетике 3,5 г натрия хлорида, 2,9 г натрия цитрата, 2,5 г калия хлорида и 10 г декстрозы. После растворения содержимого пакетика в 1 л теплой кипяченой воды больному дают пить получен-

ный раствор, исходя из предполагаемой потери массы тела (при потере 5-7,5% массы тела объем вводимой жидкости составляет 40-50 мл/кг массы тела в течение 4 часов или до 150 мл/кг массы тела в сутки). Общий объем перорально принимаемой жидкости взрослыми больными должен быть не менее 2-3 л в сутки.

При тяжелом обезвоживании (потеря более 10% массы тела в течение 24 ч) дополнительно прибегают к внутривенному введению 5% раствора глюкозы и растворов электролитов.

Этиотропная терапия. Показаниями для назначения этиотропной терапии при *Clostridium difficile*-ассоциированных заболеваниях являются продолжающаяся диарея после отмены антибиотиков, тяжелая форма заболевания, рецидив диареи после повторного приема антибиотиков. Специфическая антибактериальная терапия показана также всем пациентам, у которых не представляется возможным прекратить прием антибиотика или заменить его другим, в меньшей степени способствующим развитию *Clostridium difficile*-ассоциированных болезней.

Вместе с тем, вопрос о необходимости назначения этиотропной терапии в каждом конкретном случае должен решаться индивидуально с учетом возраста ребенка, тяжести заболевания и фоновых состояний. Так, при легких вариантах *Clostridium difficile*-ассоциированных диарей, развившихся у детей с благополучным преморбидным фоном, назначение этиотропного лечения не требуется (А.Л. Заплатников и соавт., 2004). В то же время у детей раннего возраста, ослабленных, у пациентов с нейтропенией, тяжелыми хроническими заболеваниями и пороками развития (особенно ЖКТ) даже при легких формах инфекции назначение антисклеродиальных препаратов считается обоснованным (А.Л. Заплатников и соавт., 2004). Абсолютными показаниями для этиотропной терапии у детей являются тяжелые формы заболевания, продолжающаяся после отмены антибиотиков диарея, а также рецидив инфекции на фоне повторного приема антибиотиков.

При выборе антибиотика учитывают два основных фактора: чувствительность возбудителя и возможность достижения максимальной концентрации препарата в кишечнике, в связи с чем предпочтение отдается пероральным лекарственным формам.

Препаратами выбора являются метронидазол или ванкомицин, которые назначают внутрь (Ю.В. Лобзин и соавт., 2002; McFarland et al., 2000; Nelson, 2007). Своевременное назначение метронидазола или ванкомицина внутрь при *Clostridium difficile*-ассоциированной диарее обычно позволяет предотвратить развитие псевдомемброзного колита.

Препараты выбора для этиотропной терапии *Clostridium difficile*-инфекции (метронидазол, ванкомицин) подавляют рост популяции *Clostridium difficile*, имеющей высокую чувствительность к указанным препаратам (Nelson, 2007; Gerding et al., 2008; Bartlett, 2009).

При этом стартовую этиотропную терапию *Clostridium difficile*-ассоциированных заболеваний в большинстве случаев начинают с введения метронидазола, который считается препаратом выбора. Его преимуществами является существенно меньшая стоимость и отсутствие риска селекции ванкомициностойчивых энтерококков.

Клиническая эффективность метронидазола при лечении заболеваний, вызванных *Clostridium difficile*, составляет 62-100%, а частота рецидивов колеблется от 5 до 29% (Aslam et al., 2005).

Ванкомицин — антибиотик из группы гликопептидов — также обладает выраженным бактерицидным действием на *Clostridium difficile*. Причем ванкомицин стал первым препаратом, продемонстрировавшим высокую активность в отношении *Clostridium difficile*. В связи с этим все последующие подходы к терапии этой инфекции сравнивают с ним по эффективности как с «золотым стандартом».

Однако при *Clostridium difficile*-инфекции его рекомендовано использовать, как «препарат второй линии», когда отсутствует клинический эффект от стартовой терапии, либо в качестве альтернативного антибиотика у детей с противопоказаниями к применению метронидазола. Ограничения к широкому использованию ванкомицина объясняются попыткой снизить риск развития устойчивости к нему грамположительной флоры, в первую очередь стафилококков и энтерококков. Это связано с тем, что ванкомицин в настоящее время является одним из немногих антибактериальных препаратов, эффективных при инфекциях, вызванных метициллин-резистентными штаммами стафилококка. В случаях необходимости применения ванкомицина при *Clostridium difficile* используется только оральный способ его введения. При приеме внутрь препарат практически не всасывается из кишечника и почти целиком выделяется с калом.

Суточная доза ванкомицина при *Clostridium difficile*-инфекции составляет 40 мг/кг, распределенная в 4 приема (А.Л. Заплатников и соавт., 2004; McFarland et al., 2000). При этом в сутки ребенок не должен получать более 2 г препарата. Продолжительность терапии — 7-14 дней. Взрослым больным ванкомицин назначают по 125-500 мг 4 раза в сутки. Лечение рекомендуется продолжать в течение 10-14 суток (Kelly, Lamont, 2006).

Клиническая эффективность различных режимов терапии ванкомицином, по данным сравнительных исследований, колеблется от 81 до 100%, частота рецидивов после курса лечения - от 10 до 28%.

Энтеросорбенты. С целью сорбции и удаления из просвета толстого кишечника микробных тел *Clostridium difficile* и ее токсинов рекомендуется использовать энтеросорбенты. Было показано, что анионообменные смолы, такие как холестирамин и колестипол, обладают способностью связывать токсин B, продуцируемый *Clostridium difficile* (Ю.В. Лобзин и соавт., 2002; Sinatra et al., 1976; Moncino, Falletta, 1992). Ряд авторов предлагает применять их для лечения легких форм болезни или для закрепления эффекта антимикробной терапии в качестве препаратов второго ряда, а также в комплексном лечении рецидивов инфекции *Clostridium difficile*. Однако данные об эффективности этих препаратов весьма противоречивы. Так, Mogg et al. (1980) в проспективном исследовании клинический эффект терапии колестиполом отмечали у 5 (35%) из 14 пациентов с микробиологически подтвержденной инфекцией *Clostridium difficile*, тогда как положительный ответ на плацебо был отмечен у 22% больных. В другом ретроспективном исследовании из 19 пациентов, получавших холестирамин, удовлетворительный ответ на терапию был зарегистрирован у 68% больных (Kruetzer, Milligan, 1978). При этом авторы наблюдали разрешение диареи в среднем спустя 2,1 дней и рекомендовали продолжать ее в течение 5 дней после разрешения диареи, чтобы предотвратить ее рецидив (Kruetzer, Milligan, 1978).

Tedesco (1982), применив ванкомицин в комбинации с холестирамином (по 5 г каждые 12 ч) у 11 больных с *Clostridium difficile*-колитом, у всех пациентов наблюдали положительный эффект, который продолжался в течение последующих 6 недель. Однако неизвестно, происходило ли это из-за обоих лекарственных средств или просто из-за высокой чувствительности к ванкомицину. Кроме того, авторы обращают внимание на необходимость применения холестирамина спустя 2-3 ч после приема ванкомицина.

Однако представленные результаты значительно уступают эффективности лечения метронидазолом или ванкомицином, при котором положительный клинический эффект наблюдается у 95% больных (Kelly, Lamont, 2006). Более того, имеются сообщения о возможности абсорбции холес-

тирамина в желудочно-кишечном тракте и поступлении его в системный кровоток (Ю.В. Лобзин и соавт., 2002).

Что касается детей, то холестирамин использовали для лечения нескольких детей, но эти исследования были ограничены и не были плацебо-контролируемыми (Sinatra et al., 1976; Moncino, Falletta, 1992). По мнению Ю.В. Лобзина и соавт. (2002), причинами вариабельной эффективности холестирамина являются изменение pH кишечника и конкурентные взаимодействия с некоторыми компонентами кишечного содержимого. В связи с этим он не рекомендуется для рутинного использования при *Clostridium difficile*-ассоциированных болезнях.

Таким образом, энтеросорбенты могут быть использованы только в легких случаях инфекции, когда не применяются этиотропные средства, а также в тяжелых случаях, когда используется внутривенное введение метронидазола, поскольку при пероральном введении этиотропных лекарственных средств возможно уменьшение терапевтического эффекта антибиотиков из-за их связывания с энтеросорбентами в просвете кишечника.

После отмены антимикробных препаратов детям, перенесшим *Clostridium difficile*-инфекцию, для полной санации кишечника от спор возбудителя целесообразно провести курсовое лечение пробиотиками.

Пробиотики. Какой же препарат из многочисленного арсенала пробиотиков, представленных сегодня в Украине, выбрать практикующему педиатру? Как сказала известный польский ученый Hania Szajewska, «все пробиотики кажутся одинаковыми, но некоторые все же отличаются от других». Поэтому при выборе конкретного препарата из группы пробиотиков врач должен учесть все влияющие на его эффективность и безопасность факторы, в частности состав, степень изученности отдельных компонентов препарата в научных исследованиях, опыт практического применения и доказанность клинических эффектов.

Однако практический опыт показывает, что наибольший эффект достигается при использовании комплексных средств, которые содержат сразу несколько видов бактерий (А.И. Хавкин, 2003). В частности, на наш взгляд, определенными преимуществами в клинической практике обладают многокомпонентные пробиотики, содержащие наиболее физиологичную для тонкой и толстой кишок микрофлору, например хорошо известный врачам-педиатрам препарат линекс.

В отличие от других пробиотиков, линекс содержит довольно сложную комбинацию кислото- и антибиотикоустойчивых лиофилизованных кишечных аэробов и анаэробов: *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium infantis* и *Enterococcus faecium SF68* (нетоксигенный и непатогенный штаммы стрептококка группы D, выделенные из кишечника здорового человека) в количестве не менее $1,2 \times 10^7$ микробных тел на одну капсулу. Компоненты линекса устойчивы к действию антибиотиков и других химиотерапевтических препаратов и не передают эту устойчивость патогенным штаммам бактерий.

Попадая в кишечник, составляющие линекса выполняют все функции собственной нормальной кишечной микрофлоры: снижают pH содержимого, создают неблагоприятные условия для размножения и жизнедеятельности патогенных микроорганизмов, участвуют в синтезе витаминов группы В, РР, К, Е, С, фолиевой кислоты (нормальная микрофлора полностью обеспечивает потребность человека в витаминах В12, В6 и Н, причем витамин В12 в природных условиях синтезируется только микроорганизмами). Компоненты этого препарата создают благоприятные условия для абсорбции железа, кальция, витаминов В в кишечнике (за счет ацидификации кишечного

содержимого). Молочнокислые микроорганизмы, входящие в его состав, колонизируют тонкий кишечник и осуществляют ферментативное расщепление белков, жиров, сложных углеводов, в том числе при лактазной недостаточности у детей. Белки и углеводы, не всосавшиеся в тонкой кишке, подвергаются более глубокому расщеплению в толстом кишечнике анаэробами, в том числе бифидобактериями, входящими в состав линекса. Бифидобактерии продуцируют фермент фосфопротеинфосфатазу, необходимую для метаболизма казеина молока у грудных детей. Компоненты линекса также участвуют в обмене желчных кислот (образование стеркобилина, копростирина, дезоксихолевой и литохолевой кислот, реабсорбция желчных кислот).

Очень важно, что линекс содержит те виды бифидо- и лактобактерий, которые необходимы детскому организму и выделены из кишечника здорового человека. За счет присутствия в составе *Streptococcus faecium* действие препарата распространяется на верхние отделы кишечника, чего не могут обеспечить традиционные пробиотики. Здесь целесообразно подчеркнуть принципиальное преимущество линекса перед препаратами, действующей субстанцией которых являются микроорганизмы, в норме не присутствующие в микрофлоре кишечника (А.И. Хавкин, 2003).

Линекс обладает способностью наиболее физиологичным образом нормализовать микрофлору кишечника у пациентов с острыми кишечными инфекциями и дисбактериозом: попадая в кишечник, живые бактерии расселяются на всем его протяжении – от толстой до тонкой кишки, в течение длительного времени выполняя все функции нормальной кишечной микрофлоры – антимикробную, пищеварительную, витаминообразующую. Возможность пролонгированного выполнения активной физиологической роли путем постоянной продукции важнейших субстанций естественной флоры обеспечивает линексу преимущество перед препаратами – пробиотиками (содержащими только продукты метаболизма бактерий). Линекс обладает более широким спектром ферментной активности, что обусловлено его трехкомпонентным составом. Это важнейшие преимущества, особенно при лечении расстройств пищеварения у детей, находящихся на искусственном вскармливании (А.И. Хавкин, 2003).

Для эффективного лечения следует правильно подобрать дозу. Детям первого года жизни назначают 3 раза в день по 1/2–1 капсуле, давая запить небольшим количеством жидкости. Пациентам до 5-го месяца жизни надо, предварительно вскрыв капсулу, высыпать ее содержимое в сцеженное грудное молоко (давать с ложечки), молочную смесь или пюре. Дело в том, что у детей грудного возраста pH желудочного сока более 4. Это способствует выживаемости содержащихся в капсуле бактерий, и они благополучно распределяются по всему желудочно-кишечному тракту, достигая нижних отделов тонкой и толстой кишки. Детям после года лучше давать линекс непосредственно в капсуле. Детям от 2 до 12 лет необходимы 1–2 капсулы три раза в день, которые следует запивать небольшим количеством жидкости. Если ребенок все же не в состоянии проглотить капсулу, то содержимое ее можно смешать с небольшим количеством жидкости (чай, сок, подсахаренная вода).

Таким образом, все вышеперечисленные факты позволяют считать линекс наиболее перспективным средством для лечения дисбактериоза.

В клинических исследованиях показана хорошая клинико-лабораторная эффективность и переносимость линекса при коррекции кишечного дисбиоза у детей раннего возраста.

Результаты исследований свидетельствуют о высокой терапевтической эффективности препарата линекс в комплексной терапии острых кишечных инфекций (ОКИ) у детей (В.Г. Майданник,

Г.Г. Юхименко, 2007). В частности, включение линекса в комплексную терапию ОКИ у детей раннего возраста бактериальной этиологии оказывает содействие улучшению клинического течения заболевания и нормализации количественных и качественных показателей испражнений. При этом линекс хорошо переносился больными. Побочных реакций не наблюдалось. Учитывая его положительное влияние на динамику клинических проявлений и нормализацию испражнений, линекс можно считать одним из препаратов базисной терапии ОКИ у детей раннего возраста, который может применяться в комбинации с антибактериальными препаратами (В.Г. Майданник, Г.Г. Юхименко, 2007).

Недавно в открытом сравнительном рандомизированном исследовании проведена оценка эффективности пробиотической терапии у 59 детей в возрасте от 6 до 17 лет препаратом линекс, содержащим лиофилизированные штаммы *Bifidobacterium infantis*, *Lactobacillus acidophilus* и *Streptococcus faecium* антибиотик-ассоциированного дисбактериоза кишечника, развившегося на фоне антхиеликобактерной терапии (С.В. Бельмер и соавт., 2007). Основную группу составили 38 пациентов, группу сравнения — 21 ребенок. Пациенты обеих групп были сопоставимы по демографическим и клиническим характеристикам (С.В. Бельмер и соавт., 2007). Всем детям перед началом исследования было проведено клиническое и лабораторное обследование (1-й осмотр). В дальнейшем пациентам основной группы был назначен препарат линекс в возрастной дозировке. Длительность курса лечения составила 1 неделю. После окончания курса антхиеликобактерной терапии в течение 1-й недели дети обеих групп были обследованы повторно (2-й осмотр), а, спустя 1 месяц — обследованы в третий раз (3-й осмотр).

В ходе исследования анализировались клинические данные, а также результаты исследования состава кишечной микрофлоры и летучих жирных кислот. Проведенное исследование показало, что у большинства пациентов антхиеликобактерная терапия сопровождается развитием антибиотик-ассоциированного дисбактериоза кишечника. Однако назначение препарата линекс, содержащего лиофилизированные штаммы *Bifidobacterium infantis*, *Lactobacillus acidophilus* и *Streptococcus faecium* снижает риск развития антибиотик-ассоциированного дисбактериоза кишечника, а его эффект проявляется клиническим улучшением, нормализацией состава микрофлоры кишечника и восстановлением ее метаболической активности (С.В. Бельмер и соавт., 2007).

Недавно А.В. Горелов и соавт. (2008) провели оценку эффективности мультипробиотического препарата линекс, содержащего кислотоустойчивые и антибиотикорезистентные штаммы *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium infantis* и *Streptococcus faecium*, в профилактике антибиотико-ассоциированной диареи у детей. В исследование были включены 48 детей в возрасте от 1 года до 14 лет, находившиеся на стационарном лечении по поводу тяжелых и осложненных форм острой респираторной инфекции в Детской инфекционной больнице №5 г. Москвы. Среди обследованных детей, больные в возрасте 1–3 года составили 66,7% (32 ребенка), старше 3 лет — 33,3% (16 человек). Мальчиков было 62,5% (30 пациентов), девочек 37,5% (18 детей). Среди больных доминировали пациенты с острым бронхитом (45,8%), ангиной (35,4%). Основным критерием включения пациентов в данное исследование явилось наличие острой инфекции верхних или нижних дыхательных путей, требующей назначения антибиотиков в течение 8±2 дней (пероральные формы амоксициллина с клавулановой кислотой, пероральные формы пенициллинов (амоксициллин, ампициллин, феноксиметилпенициллин), либо цефалоспоринов (супракс) в произвольном соотношении (А.В. Горелов и соавт., 2008).

Все пациенты были рандомизированы на две группы: основная группа – 24 ребенка, которые с первого дня антибактериальной терапии получали линекс (в возрастной дозировке, через 1–2 часа после дачи антибактериальных препаратов); группа сравнения – 24 больных, не получавших пробиотиков (А.В. Горелов и соавт., 2008).

В качестве основных критериев профилактической эффективности сравниваемых препаратов рассматривались следующие показатели: развитие антибиотико-ассоциированной диареи (не менее трех эпизодов жидкого стула в течение дня либо более трех эпизодов нормального стула в сутки), появление боли в животе, изменение характера стула – жидкий или разжиженный стул, менее трех эпизодов в день (спонтанно прекратившийся).

Как свидетельствуют результаты исследования, развитие диареи на фоне приема антибиотиков достоверно реже наблюдалось в группе детей, получавших линекс (16,7%), чем в группе сравнения (37,5%) ($\chi^2 = 0,035$). При этом средние сроки формирования антибиотико-ассоциированной диареи на фоне проведения антибактериальной терапии достоверно не различались между группами: $3 \pm 0,8$ суток в основной и $3,3 \pm 1,1$ суток в группе сравнения ($P < 0,05$). При анализе частоты формирования антибиотико-ассоциированной диареи в зависимости от проводимой антибактериальной терапии выявлена меньшая ее частота в основной группе на фоне лечения оральными пенициллинами или цефалоспоринами (12,5%), чем в группе сравнения (33,3%). Всем пациентам группы сравнения при установлении диагноза антибиотико-ассоциированной диареи проводилась коррекция терапии: назначались энтеросорбенты (смекта), пробиотики (энтерол, аципол) (А.В. Горелов и соавт., 2008).

Энзимотерапия. Для коррекции симптомов пищеварительной недостаточности у больных антибиотико-ассоциированной диареей наиболее патогенетически обосновано применение панкреатических ферментов, которые способны регулировать функцию не только поджелудочной железы, но и желчевыделительной системы, нормализуют всасывание в тонкой и толстой кишках, улучшают биоценоз кишечника.

При этом, для оптимального выполнения своей функции препараты заместительной энзимотерапии при антибиотико-ассоциированной диареи должны соответствовать следующим требованиям:

- **Высокая активность липазы.** Требование объясняется тем, что все липополитические ферменты исключительно панкреатического происхождения, их активность при нарушениях пищеварения снижается в первую очередь. Кроме того, липазы наиболее чувствительны к изменениям pH и быстро теряют свою активность уже при небольших отклонениях от оптимальных величин. В соответствии с этим требованием предпочтение отдается препаратам животного происхождения, т.к. растительные и бактериальные липазы обладают значительно меньшей активностью.
- **Умеренная активность протеаз.** Протеазы способны «переваривать» (инактивировать) липазы.
- **Соотношение липаза/колипаза > 1.** Такое соотношение обеспечивает оптимальную активацию липаз. Высоким содержанием колипазы отличаются препараты, изготовленные из поджелудочных желез свиней.

Важной характеристикой современного ферментного препарата является форма выпуска, к которой также предъявляются определенные требования:

- Наличие кислотоустойчивой оболочки.** Это требование связано с тем, что составляющие ферментных препаратов теряют активность в кислой среде: липаза при pH менее 4, трипсин при pH ниже 3. До попадания препарата в 12-перстную кишку может разрушаться до 92% липазы.
- Растворимость, обеспечивающая быстрое высвобождение ферментов в верхних отделах тонкой кишки.** Оптимально высвобождение панкреатических энзимов в течение 30-60 минут после поступления в тонкий кишечник.
- Маленький размер частицы ферментного препарата (микрогранулы и микросфера).** Известно, что из желудка одновременно с пищей могут эвакуироваться твердые частицы, диаметр которых составляет не более 2 мм. Более крупные частицы, в частности таблетированные ферментные препараты, эвакуируются в межпищеварительный период, когда пищевой химус отсутствует в двенадцатиперстной кишке. В результате препараты не смешиваются с пищей и недостаточно активно участвуют в процессах пищеварения.

Таким образом, при антибиотико-ассоциированной диареи следует воздержаться от применения препаратов, содержащих желчь и гемигеллюлазу, и отдать предпочтение чистым панкреатическим энзимам, к которым относятся, прежде всего, препарат панкреатин и его препараты (пангрол, мезим форте). Указанные препараты относятся к пищеварительным ферментным средствам, которые восполняют дефицит ферментов поджелудочной железы (табл.4), оказывают протеолитическое, амилолитическое и липолитическое действие. Входящие в состав панкреатические ферменты (липаза, альфа-амилаза, трипсин, химотрипсин) способствуют расщеплению белков до аминокислот, жиров - до глицерина и жирных кислот, крахмала - до декстринов и моносахаридов, улучшает функциональное состояние ЖКТ, нормализует процессы пищеварения. Трипсин подавляет стимулированную секрецию поджелудочной железы, оказывая анальгезирующее действие. Панкреатические ферменты высвобождаются из лекарственной формы в щелочной среде тонкого кишечника, т.к. защищены от действия желудочного сока оболочкой. Максимальная ферментативная активность препарата отмечается через 30-45 мин после перорального приема.

Таблица 4

Состав некоторых панкреатических ферментов

Название препарата	Липаза, ЕД FIP	Амилаза, ЕД FIP	Протеаза, ЕД FIP
Мезим форте	3500	4200	250
Мезим форте 10 000	10 000	7500	375
Пангрол	10 000	9000	500

Детям в возрасте до 1,5 лет препараты пангрол 10 000 и мезим форте назначают в суточной дозе 50 тыс.ЕД; старше 1,5 лет - 100 тыс.ЕД/сут. Продолжительность лечения может варьировать от нескольких дней (при нарушении пищеварения, погрешности в диете) до нескольких месяцев и даже лет (при необходимости постоянной заместительной терапии).

Недавно было проведено исследование, в котором пациенты, страдающие антибиотико-ассоциированной диареей, были распределены на две группы. В основной группе (32 больных) дополнительно к базисной терапии назначали пробиотики и препарат пангрол 10 000 перорально во время основного приема пищи 3 раза в сутки в суточной дозировке 500 МЕ/кг по липазе в течение 10 дней. Контрольная группа состояла из 20 человек, получавших базисную терапию и пробиотики. Обе группы были сопоставимы по возрасту и соотношению полов.

Выбор препарата панкреатина был обусловлен следующими причинами:

- капсульная форма, содержащая микротаблетки, обеспечивает высокую степень активности исходного субстрата (панкреатин), равномерное перемешивание с желудочным содержимым и синхронное прохождение в двенадцатiperстную кишку за счет небольшого размера;
- pH-чувствительная оболочка защищает фермент от разрушения в желудке и высвобождает его в двенадцатiperстной кишке;
- в составе препарата отсутствуют желчные кислоты;
- препарат не угнетает экзокринную функцию поджелудочной железы;
- форма выпуска позволяет при использовании у маленьких детей вскрывать капсулу и принимать, не разжевывая, с небольшим количеством воды или сока, смешивать с пищей.

Следует отметить, что дополнительное включение в схему лечения препарата пангрол позволило достичь более быстрых позитивных сдвигов в клинической симптоматике ААД. Так, на 3-и сутки наблюдения диарея сохранялась у 4% детей основной и у 8% — контрольной группы ($p <0,05$), хотя интенсивность синдрома достоверно снижалась у детей в обеих группах наблюдения (М.Е. Маменко и соавт., 2012). Препарат также положительно влиял на динамику проявлений диспептического синдрома: срыгивание, тошнота отмечены на 3-и сутки терапии у 5% детей основной и у 9% — контрольной группы ($p <0,05$). Жалобы на периодические боли в животе на момент первого контрольного обследования предъявляли соответственно 3% и 5% детей. Достоверно реже беспокоил детей, получавших пангрол, метеоризм: 2% и 7% соответственно ($p <0,05$) (М.Е. Маменко и соавт., 2012).

Таким образом, широкое применение в клинической практике антибиотиков у детей способствует дисбиотическим процессам и приводит нередко к развитию *Clostridium difficile* инфекции, которая требует адекватной профилактики и терапии.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бельмер С.В., Щиголева Н.Е., Хавкин А.И. и др. Пробиотическая коррекция антибиотик-ассоциированного дисбактериоза кишечника у детей. Вопр. современ. педиатр. 2007; 6(3): 38-42.
2. Бондаренко В.М. Молекулярно-клеточные механизмы терапевтического действия пробиотических препаратов. Фарматека. 2010; 2:26-32.
3. Бондаренко В.М., Мацелевич Т.В. Дисбактериоз кишечника как клинико-лабораторный синдром: современное состояние проблемы.- М.: ГЭОТАР-Медиа, 2007.- 304 с.
4. Бондаренко В.М., Чупринина Р.П., Аладышева Ж.И., Мацелевич Т.В. Пробиотики и механизмы их лечебного действия. Эксперим. и клин. гастроэнтерол. 2004, 3:83-87.
5. Булатова Е.М., Богданова Н.М., Лобанова Е.А., Габрусская Т.В. Пробиотики: Клинические и диетологические аспекты применения. Педиатрия. 2010; 89(3):84-90.
6. Бурков С.Г., Егорова Н.В., Аронова О.В.и др. Клиническая эффективность пробиотика Лактив-ратиофарм в купировании симптомов кишечной диспепсии. Фарматека. 2010; 10 (204):76-79.
7. Гасилина Т.В., Бельмер С.В. Клинические аспекты применения *Lactobacillus rhamnosus GG*. Вопросы детской диетологии 2009; 7 (2): 30-35.
8. Горелов А.В., Усенко Д.В. Влияние пробиотического продукта «Актимел» на состояние здоровья детей. Вопр. соврем. педиатр. 2003; 2(4):87-90.
9. Горелов А.В., Усенко Д.В. Оценка влияния пробиотического продукта Актимел на состояние здоровья детей. Леч. врач. 2003; 9: 26-29.
10. Горелов А.В., Усенко Д.В., Мельникова Г.В. Актимел в комплексной терапии острых кишечных инфекций у детей. Вопр. соврем. педиатр. 2002; 4: 78–80.
11. Горелов А.В., Усенко Д.В., Трефилова И.Ш. Профилактика антибиотико-ассоциированной диареи у детей, больных острыми респираторными заболеваниями. Инфекционные болезни. 2008; 6(1):69-71.
12. Денисова М.Ф., Музыка Н.Н., Лысяная Т.А. Применение пробиотика лактив-ратиофарм в комплексном лечении хронических вирусных гепатитов у детей. Современная педиатрия. 2009; 6(28):111-114.
13. Дубровская М.И., Мухина Ю.Г., Кафарская Л.И., Шумилов П.В. Современные представления о механизмах формирования иммунного ответа слизистой оболочки кишечника у детей раннего возраста. Трудный пациент. 2006; 4(6):9-14.
14. Ерюхин И.А., Шляпников С.А., Лебедев В.Ф., Иванов Г.А. Псевдомембранный колит и «кишечный сепсис» - следствие дисбактериоза, вызванного антибиотиками. Вестник хирургии им. И.И. Грекова. 1997; 156(2): 108-111.
15. Заварзин ГЛ. Развитие микробных сообществ в истории Земли. Проблемы доантропогенной эволюции биосферы. М.: Наука, 1993.- С. 212-222.
16. Заварзин ГЛ. Смена парадигмы в биологии. Вест. РАН. 1995; 65: 8-17.
17. Заплатников А.Л., Захарова И.Н., Коровина Н.А. *Clostridium difficile*-инфекция у детей. Русск. мед. журн. Болезни органов пищеварения. 2004; 12(5):373-376.
18. Запруднов А.М., Мазанкова Л.Н. Микробная флора кишечника и пробиотики. Приложение к журналу «Педиатрия». М., 1999.- 48 с.

19. Запруднов А.М., Мазанкова Л.Н. Микробная флора кишечника и пробиотики (методическое пособие).- М., 2001. – 32 с.
20. Захарченко М.М., Суворов А.Н. Диагностика дисбиоза кишечника/Дисбиоз кишечника. Руководство по диагностике и лечению/ Под ред. Е.И. Ткаченко и А.Н. Суворова.- СПб.: СпецЛит, 2007.- С.57-62.
21. Ильина Т.С., Романова Ю.М. Гинцбург А.Л. Биопленки как способ существования бактерий в окружающей среде и организме хозяина: феномен, генетический контроль и системы регуляции их развития. Генетика. 2004; 40:1445-1456.
22. Какорина Е.П., Максимова М.В., Мишнев О.Д. и др. Использование Международной статистической классификации болезней и проблем, связанных со здоровьем, десятого пересмотра (МКБ-10) в практике отечественной медицины (Методическое пособие).-М., 2002.- 38 с.
23. Кельмансон И.А. Принципы доказательной педиатрии.- СПб.: ООО «Издательство Фолиант», 2004.- 240 с.
24. Кешишян Е.С. Коррекция нарушений микробной колонизации кишечника у детей первого года жизни. Лекция для врачей.- М., 2007.-18 с.
25. Корниенко Е.А. Современные принципы выбора пробиотиков. Детские инфекции. 2007; 3:64-69.
26. Лобзин Ю.В., Захаренко С.М., Иванов Г.А. Современные представления об инфекции *Clostridium difficile*. Клин. микробиол. и антимикроб. терапия. 2002; 4(3):201-232.
27. Маев И.В., Самсонов А.А. Терапевтическая тактика при синдроме избыточного бактериального роста в тонкой кишке. Consilium Medicum. 2007; 9(7): 30-34.
28. Мазанкова Л.Н., Курохтина И.С. Перспективы применения споровых пробиотиков при заболеваниях желудочно-кишечного тракта у детей. Педиатрия. 2002; 4:56-61.
29. Майданник В.Г. Болезни органов пищеварения у детей. –К: СП «Інтертехнодрук», 2010.- 1157 с.
30. Майданник В.Г. Антибиотико-ассоциированная диарея у детей.– К:ВБ «Авантост-Прим», 2011.- 250 с.
31. Майданник В.Г. Можливості терапевтичного застосування пробіотиків у дієтотерапії дітей, хворих на антибіотико-асоційовану діарею. Педіатр., акуш. та гінекол. 2010; 72(5):51-61.
32. Майданник В.Г., Майданник И.В. Справочник современных лекарственных средств.- М.:ACT, 2005.-1024 с.
33. Майданник В.Г., Хайтович М.В., Боярська Л.М. та ін. Ефективність та безпечність застосування лацидофілу у дітей з антибіотико-асоційованою діареєю, що пов’язана з *Clostridium difficile*. Педіатр., акуш. та гінекол. 2010;72(3):53-57.
34. Майданник В.Г., Хайтович М.В., Сосновська Т.Є., Кириченко І.В. Профілактика та лікування антибіотико-асоційованої діареї у дітей. Педіатр., акуш. та гінекол. 2008; 1:63-65.
35. Майданник В.Г., Юхименко Г.Г. Застосування лінексу в комплексній терапії гострих кишкових інфекцій у дітей. Педіатр., акуш. та гінекол. 2007; (5): 55-58.
36. Малов В.А., Гюлазян Н.М. Микробиоценоз желудочно-кишечного тракта: современное состояние проблемы. Лечащий врач. 2007; 6:10-14.
37. Маменко М.Е., Ерохина О.И., Гейвах В.С. Применение ферментных препаратов в лечении

- детей с идиопатической антибиотикассоциированной диареей. Сучасна гастроентерологія. 2012; 5 (67): 108-115.
38. Наумова Т.В. Доказательства клинической эффективности *Lactobacillus rhamnosus* GG. Вопросы практической педиатрии 2010; 5 (2): 115-118.
39. Нетребенко О.К. Питание грудного ребенка и кишечная микрофлора. Педиатрия. 2005;3:54-57.
40. Нетребенко О.К. Пробиотики и пребиотики в питании детей грудного возраста. Педиатрия. 2007; 86(1):80-87.
41. Николаев Ю.А., Плакунов В.К. Биопленка – «город микробов» или аналог многоклеточного организма? Микробиология. 2007; 76(2):149-163.
42. Омельяновский В.В., Попова Ю.В. Антибиотики в стационаре – проблемы и пути решения. Педиатрия 2001;(1): 52-56.
43. Отт В.Д. , Мисник В.П. Пробиотическая эффективность кисломолочного продукта «Актимелъ» в питании детей дошкольного возраста. Здоровье Украины. 2004; 92
44. Пикина А.П., Постникова Е.А., Сафонова А.И., Ефимов Б.А. Сравнительный анализ качественного и количественного состава микрофлоры кишечника у клинически здоровых детей раннего возраста, проживающих в домашних условиях и в домах ребенка. Вестник РГМУ. 2003; 4:46-52.
45. Похilenko В.Д., Перелыгин В.В. Пробиотики на основе спорообразующих бактерий и их безопасность. Химическая и биологическая безопасность. 2007; 2-3:32-33.
46. Усенко Д.В. Применение пробиотического продукта, содержащего *Lactobacillus casei imunitass*, в клинической практике. Вопр.соврем. педиатр. 2007; 6(2):54-56.
47. Усенко Д.В., Горелов А.В., Шабалина С.В. Опыт применения кисломолочного пробиотического продукта в лечении острых кишечных инфекций у детей с атопическим дерматитом. Педиатрия. 2008; 87(4):85-90.
48. Хавкин А.И., Жихарева Н.С. Терапия антибиотик-ассоциированного дисбактериоза. Рус. мед. журн. 2006; 14 (19): 3-7.
49. Хомерики С.Г. Патогенетические особенности и морфологические проявления целиакии. Consilium Medicum. Заболевания кишечника. 2007; 9(1):34-37.
50. Хромова С.С., Шкопоров А.Н., Ефимов Б.А. и др. Микрофлора кишечника и механизмы иммунорегуляции. Вопр. детск. диетол. 2005; 3 (1): 92–96.
51. Шендеров Б.А. Медицинская микробная экология и функциональное питание. – М.: Грант, 1998. – Т 1. – 286 с. – Т 2. – 412 с.
52. Шульпекова Ю.О. Антибиотикоассоциированная диарея. Русск. мед. журн. 2007;15(6):1-6.
53. Щербаков П.Л., Нижевич А.А., Амирова В.Р. Антибиотик-ассоциированная диарея у детей: особенности коррекции микрофлоры. Вопр. практич. педіатр. 2010; 5 (5): 44-51.

54. Щербаков П.Л., Цветков П.М., Нечаева Л.В. Профилактика диареи, связанной с приемом антибиотиков, у детей. Вопр. современной педиатрии. 2004; 3(2): 55-58.
55. Akira S. Pathogen recognition by innate immunity and its signaling. Proc. Jpn. Acad., Ser.B. 2009; 85(4): 143-156.
56. Akira S., Takeda K. Toll-like receptor signalling. Nat Rev Immunol 2004;4:499-511.
57. Alam S, Mushtaq M. Antibiotic Associated Diarrhea in Children. Indian Pediatr. 2009; 46(6):491-496.
58. Alam N.H, Ashraf H. Treatment of infectious diarrhea in children. Paediatr. Drugs. 2003; 5(3):151-165.
59. Armuzzi A, Cremonini F, Bartolozzi F. et al. The effect of oral administration of Lactobacillus GG on antibiotic-associated gastrointestinal side-effects during Helicobacter pylori eradication therapy. Aliment Pharmacol Ther 2001;15:163-169.
60. Arrow SA, Croese L, Bowman RA, et al. Evaluation of three commercial enzyme immunoassay kits for detecting faecal *Clostridium difficile* toxins. J Clin Pathol 1994;47:954-956.
61. Arvola T, Laiho K, Torkkeli S. et al. Prophylactic Lactobacillus GG reduces antibiotic-associated diarrhea in children with respiratory infections: a randomized study. Pediatrics 1999;104(5):e64.
62. Asahara T, Shimizu K, Nomoto K. et al. Probiotic bifidobacteria protect mice from lethal infection with Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157:H7. Infect Immun. 2004;72:2240 –2247.
63. Aslam S., Hamill R.J., Musher D.M. Treatment of *Clostridium difficile*-associated disease: old therapies and new strategies. Lancet Infect Dis 2005;5(9):549-557.
64. Barbut F, Decre D, Lalande V. et al. Clinical features of *Clostridium difficile*-associated diarrhoea due to binary toxin (actin-specific ADP-ribosyltransferase)-producing strains. J Med Microbiol. 2005;54:181–185.
65. Barbut F, Meynard J.L. Managing antibiotic associated diarrhea. Br Med J 2002; 324:1345-1346.
66. Bartlett J.G. The New Epidemic of *Clostridium difficile*-Associated Enteric Disease. Ann Intern Med 2006; 145: 758-764.
67. Bartlett J.G. Antibiotic-associated diarrhea. N Engl J Med 2002; 346(5):334-339.
68. Bartlett J.G. Historical perspectives on studies of *Clostridium difficile* and C. difficile infection. Clin Infect Dis 2008; 46(Suppl 1):S4-S11.
69. Bartlett J.G. New Antimicrobial Agents for Patients With *Clostridium difficile* Infections. Curr Infect Dis Rep. 2009;11(1):21-28.
70. Bartlett J.G., Chang T.W., Gurwith M. et al. Antibiotic-associated pseudomembranous colitis due to toxin-producing clostridia. N Engl J Med. 1978;298:531-534.
71. Bartlett J.G., Gerdling D.N. Clinical Recognition and Diagnosis of *Clostridium difficile* Infection. Clin Infect Dis. 2008; 46(Suppl 1):12–18.
72. Bartlett J.G., Perl T.M. The New *Clostridium difficile* — What Does It Mean? N Engl J Med. 2005; 353(23):2503-2505.