

***Clostridium difficile* инфекции у пациентов детского онкологического стационара: проблемы культивирования анаэробной кишечной флоры и лечения**

М. Г. Швыдкая^{1*} , Д. Т. Джандарова² , С. Д. Митрохин³ 

¹ Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г. Н. Габричевского, 10, ул. Адмирала Макарова, Москва, 125212, Россия

² Диагностический клинический центр № 1, 29, к. 2, ул. Миклухо-Маклая, Москва, 117485, Россия

³ Городская клиническая больница № 67 им. Л. А. Ворохобова, 2/44, ул. Саяма Адиля, Москва, 123423, Россия

АННОТАЦИЯ

В последние годы в мире наблюдается рост числа инфекционных заболеваний, вызванных *Clostridium difficile* со значительным увеличением рецидивов и смертности, в том числе среди онкологических больных – пациентов стационаров. Отмечается также рост резистентности *Clostridium difficile* к препаратам первой линии терапии, а именно к метронидазолу и ванкомицину, что делает актуальным поиск новых методов лечения и профилактики данной инфекции. Мы проанализировали данные последних лет по методам культивирования *Clostridium difficile*, связанные с получением чистой культуры *Clostridium difficile* и других анаэробных энтеропатогенов при энтероколитах у детей с онкопатологией на фоне приема антимикробных препаратов, а также современные подходы к терапии данной инфекции.

Ключевые слова: детская онкология, *Clostridium difficile* инфекция, анаэробные бактерии

* Для корреспонденции: Швыдкая Мария Геннадьевна, Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г. Н. Габричевского, 10, ул. Адмирала Макарова, Москва, 125212, Россия, e-mail: mshvidkaya@mail.ru

Цитирование: Швыдкая МГ, Джандарова ДТ, Митрохин СД. *Clostridium difficile* инфекции у пациентов детского онкологического стационара: проблемы культивирования анаэробной кишечной флоры и лечения. MIR J. 2021; 8(1), 10-17. doi: 10.18527/2500-2236-2021-8-1-10-17.

Получена: 24 декабря 2020

Принята к печати: 18 января 2021

Опубликована: 14 марта 2021

Авторские права: © 2021 Швыдкая. Эта статья публикуется в свободном доступе в соответствии с лицензией Creative Commons AttributionNonCommercial-ShareAlike 4.0 International Public License (CC BY-NC-SA), которая позволяет неограниченное использование, распространение и воспроизведение на любых носителях при условии, что указываются автор и источник публикации, а материал не используется в коммерческих целях.



Конфликт интересов: Авторы не преследуют коммерческих или финансовых интересов.

***Clostridium difficile* infection in pediatric patients of oncological hospital: cultivation of anaerobic intestinal flora and treatment**

Mariya G. Shvydkaya^{1*} , Dzhamilya T. Dzhandarova² , Sergey D. Mitrokhin³ 

¹ G. N. Gabrichevsky research institute for epidemiology and microbiology, 10, Admiral Makarov str., Moscow, 125212, Russia

² Diagnostic Clinical Center No. 1, 29, k. 2, Miklukho-Maklaya str., Moscow, 117485, Russia

³ City Clinical Hospital No. 67 named after L. A. Vorokhobov, 2/44, Salyama Adilya str., Moscow, 123423, Russia

ABSTRACT

In recent years, the number of infectious diseases caused by *Clostridium difficile* in the world has grown with a significant increase in relapses and mortality in patients, particularly among the cancer patients in hospitals. There is also observed an increase in

the resistance of *Clostridium difficile* to the first-line drugs, namely metronidazole and vancomycin, which makes the search for new methods of treatment and prevention of this infection even more urgent. In this review, we analyze the recent data on the methods of cultivation and isolation of the pure bacterial culture of *Clostridium difficile* and other anaerobic enteropathogens over the course of enterocolitis treatment with antimicrobial drugs in pediatric patients with oncopathology. Novel approaches to the therapy of this infection are discussed.

Keywords: pediatric oncology, *Clostridium difficile* infection, anaerobic bacteria

For correspondence: Maria G. Shvydkaya G. N. Gabrichevsky research institute for epidemiology and microbiology, 10, Admiral Makarov str., Moscow, 125212, Russia, e-mail: mshvidkaya@mail.ru

Citation: Shvydkaya MG, Dzhandarova TG, Mitrokhin SD. *Clostridium difficile* infection in pediatric patients of oncological hospital: cultivation of anaerobic intestinal flora and treatment. *MIR J* 2021; 8(1), 10-17. doi: 10.18527/2500-2236-2021-8-1-10-17.

Received: December 24, 2020

Accepted: January 18, 2021

Published: March 14, 2021

Copyright: © 2021 Shvydkaya et al. This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International Public License (CC BYNC-SA), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, as long as the material is not used for commercial purposes, provided that the original author and source are cited.



Conflict of interest: The authors declare no commercial or financial conflicts of interests.

Актуальность проблемы

В последние годы в мире наблюдается рост числа инфекционных заболеваний, а также рецидивов и смертности, вызванных *Clostridium difficile* (*Clostridium difficile* infection, CDI), среди онкологических больных, поступающих в стационары [1]. В России повышение актуальности выявления клостридий связано с выявлением случаев тяжелого течения *Clostridium difficile* (*C. difficile*) диареи с гемоколитом [2] и отнесением пациентов с иммуносупрессией к группе риска развития тяжелых форм CDI [3]. Заболеваемость CDI среди детей растет [4] и составляет уже 25% [5]. В многопрофильном стационаре в России в 2016 г. частота выявления токсинов *C. difficile* у детей составила 37.4% [6]. Особенно важную роль штаммы *C. difficile* играют в развитии диареи у онкологических пациентов [7]. Как известно, CDI развивается прежде всего у лиц из групп высокого риска, с иммунодефицитными состояниями и находящихся в условиях госпитализации или в закрытых учреждениях долгосрочного ухода [8]. Пациенты детского онкологического стационара совмещают в себе несколько факторов риска развития CDI: лейкоз как основное заболевание, лечение иммунодепрессантами и/или цитостатиками и лечение антибиотиками [9].

Для диагностики CDI инфекции рекомендован двухступенчатый подход [10]. Золотым стандартом диагностики является культивирование токсигенных штаммов. Проблемы культивирования анаэробной флоры связаны с ростом резистентности штаммов

C. difficile к антибактериальным препаратам [11]. Для постановки теста на чувствительность к антибактериальным препаратам необходимо предварительно получить чистую культуру *C. difficile*. Совершенствование методов культивирования позволит упростить высеив токсигенных штаммов *C. difficile* и сделать его рутинным и доступным в бактериологической лаборатории.

Большой процент диарей неустановленной этиологии указывает на необходимость усовершенствования лабораторной диагностики данной группы заболеваний [12]. Особенно это актуально для детей, проходящих лечение в онкостационаре, так как лечение сопутствующего заболевания нарушает слизистый слой кишечника и может привести к сепсису [13], а в России не существует протокола выявления условно-патогенной анаэробной кишечной флоры в условиях онкологического стационара. Бактериологический метод позволяет охватить широкий спектр условно-патогенной флоры, являющейся этиологически значимой в структуре диарей у детей в онкологическом стационаре.

В клинических рекомендациях РФ указаны два зарегистрированных препарата для лечения CDI – метронидазол и ванкомицин [10]. Метронидазол предписан для лечения неосложненных форм течения заболевания, в то время как ванкомицин является препаратом выбора для лечения тяжелых форм и рецидивов CDI. Вместе с тем при использовании

ванкомицина частота рецидивов CDI выше, чем при лечении фидаксомицином, который в настоящее время не зарегистрирован в РФ [14]. При анализе данных отмечается рост резистентности к препаратам первой линии терапии CDI [11], что делает актуальным вопрос поиска новых методов лечения и профилактики этой инфекции.

Культивирование токсигенных штаммов *C. difficile*

Выбор диагностических тестов для подтверждения CDI вызывает разногласия из-за наличия разнообразных лабораторных методов, используемых в различных учреждениях, и отсутствия единого стандартного протокола. Различия в чувствительности и специфичности, длительности и стоимости методов диагностики привели к тому, что лаборатории используют разные алгоритмы для подтверждения диагноза CDI. Оптимальный подход в лабораторной диагностике CDI остается открытым вопросом [15].

Европейским обществом по клинической микробиологии и инфекционным болезням (European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, ESCMID) рекомендовано использование двухступенчатого алгоритма диагностики антибиотико-ассоциированной диареи [15]. М. А. Сухина с соавторами рекомендуют использование трехступенчатого алгоритма, основанного на использовании иммунологических, бактериологических и молекулярно-биологических методов. Это обеспечивает своевременную постановку диагноза, локальный микробиологический мониторинг и эпидемиологический надзор за *C. difficile*-ассоциированной инфекцией [16]. При этом культивирование токсигенных штаммов в диагностических целях рекомендовано в спорных случаях, когда остальные тесты показывают противоречивые результаты. Таким образом, нет единого подхода в диагностике CDI, и каждая лаборатория должна проводить оценку и определять необходимый многоэтапный алгоритм, подходящий для конкретной популяции пациентов [15]. К сожалению, в рутинной практике в России это затруднительно из-за недостатка финансирования и нехватки оборудования, поэтому зачастую используется один метод, что значительно снижает результативность.

Культуральный метод характеризуется высокой чувствительностью и специфичностью и в сочетании с другими методиками позволяет определять резистентность к антибактериальным препаратам. Его применение затрудняется необходимостью использования специального оборудования, однако совсем отказаться от этого метода не представляется

возможным [10]. Для того чтобы назначать адекватную и эффективную терапию клостридиальной инфекции, необходимо достоверно идентифицировать вид выделенного возбудителя и получить антибиотикограмму, поскольку разные виды *Clostridium* значительно различаются по своей чувствительности к антимикробным препаратам [17]. Все это выдвигает на первый план необходимость модификации и упрощения методики культивирования.

Предварительная обработка нативного материала способствует получению спор и инактивации сопутствующей флоры. Так, при использовании метода теплового шока для нативных фекалий в материале остаются только споры и исключается рост сопутствующей микрофлоры [18]. Однако наилучшие результаты были достигнуты при последующем внесении обработанных таким методом образцов в накопительный бульон. В то же время предварительная обработка материала методом алкогольного шока показала наивысший процент получения чистой культуры при непосредственном высеве на селективный агар без предварительного внесения в накопительный бульон [19]. Использование селективных сред, основанных на цефокситине и циклосерине, сдерживает рост других видов *Clostridium* [18]. А обогащение среды сердечно-мозговым бульоном с добавлением 0.5% дрожжевого экстракта, 0.1% l-цистеина, циклосеринцефокситина и 0.1% таурохолата натрия с последующим культивированием на агаре, содержащем 7% дефибринированной лошадиной сыворотки и 0.1% таурохолата, обеспечивает более чувствительную и селективную комбинацию для обнаружения низкой концентрации *C. difficile* в образцах [20]. Самыми чувствительными и удобными в использовании считаются хромогенные циклосерин-цефокситиновые среды. Однако на данный момент не существует метода культивирования, дающего стопроцентную высеваемость.

Описаны алгоритмы для сокращения многоэтапного процесса культивирования. Так, использование ChromID *C. difficile* агара (CDIF, bioMérieux, Франция), диска PRO (PRO disc K1532B, Key Scientific Products, США) для необработанных образцов стула в сочетании с окрашиванием по Граму, позволяет изолировать и идентифицировать штаммы *C. difficile* в 98.3% случаев [21]. Среды накопления можно комбинировать с другими методами, так как повышение бактериальной концентрации увеличивает чувствительность глутаматдегидрогеназного теста [16]. Использование накопительного бульона перед проведением непрямой реакции нейтрализации цитотоксина приводит к повышению чувствительности обнаружения токсигенных штаммов *C. difficile* [22].

C. difficile обнаруживается также в стуле детей с диареей, вызванной другими патогенами [23]. В структуре диарей в детском онкологическом стационаре этиологическим фактором диареи могут быть не только токсигенные штаммы *C. difficile*, но и другие анаэробные микроорганизмы, которые способны вызывать инфекционный процесс различной локализации [24]. Известно, что анаэробные микроорганизмы могут вызывать тяжелые госпитальные инфекции. Особенно это актуально для детей с иммуносупрессией, так как флора из желудочно-кишечного тракта может проникать в кровоток через нарушенные кишечные барьеры вследствие лечения основного заболевания, при этом микробная транслокация из кишечника может привести к системному заболеванию [25].

Обращает на себя внимание тот факт, что проблема дисбиоза при злокачественных новообразованиях недостаточно изучена – исследуемые популяции неоднородны и, кроме того, методология исследования неоднозначна. Более того, лишь несколько исследований были посвящены микробиологическим и клиническим изменениям микрофлоры у детей с онкологическими заболеваниями [25].

Спектр анаэробной кишечной флоры для пациентов детского онкологического стационара в России остается малоизученным. В последние годы в мировой литературе описаны случаи диареи, этиологическим фактором которых выступают такие анаэробные микроорганизмы, как *Bacteroides* sp. [26], *Clostridium perfringens* [27], *Clostridium butyricum* [28]. Camorlinga et al. [29] показали, что нетоксигенные штаммы *C. difficile* могут обладать цитотоксичностью. При этом в лаборатории для диагностики каждой нозологии необходимо использовать специфичные среды или тест-системы. Проблема современной диагностики CDI состоит в том, что в настоящее время методы культивирования не позволяют в рутинной практике высевать любую анаэробную условно-патогенную кишечную флору с помощью одной универсальной методики. В онкологическом стационаре каждый пациент до начала терапии основного заболевания проходит скрининговые тесты на ряд инфекций, в том числе на CDI, но при этом остается без внимания другая анаэробная флора. Наличие в кишечнике анаэробной условно-патогенной флоры в условиях детского стационара может привести к инфицированию других пациентов с иммуносупрессией, что в свою очередь может вызвать тяжелые последствия.

Новые методы лечения CDI

Терапия CD-инфекции в детской онкологии представляет собой классический подход – использование

антибиотиков, таких как метронидазол и ванкомицин [30]. Указанные антибиотики зарегистрированы в России для лечения CDI и рекомендованы национальной ассоциацией специалистов по контролю инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи [10]. Однако появление штаммов *C. difficile*, резистентных к названным антибиотикам, требует поиска новых подходов к лечению данной нозологии. Например, для лечения CDI, в том числе у детей, используется препарат узкого спектра действия фидаксомин – антибиотик класса макролидов [31]. Однако в настоящее время этот препарат не зарегистрирован в РФ.

В дополнение к стандартным методам лечения существует несколько альтернативных и нетрадиционных антимикробных препаратов для лечения CDI, находящихся на различных этапах тестирования. К ним относятся следующие:

- тейкопланин, антибиотик класса гликопептидов, снижает частоту рецидивов по сравнению с ванкомицином [32];
- тигециклин, потенциальный антибиотик для лечения CDI, особенно в тяжелых случаях [33];
- ридинилазол, антибактериальный препарат, обладает не меньшей эффективностью, чем ванкомицин, показывает хорошие результаты при лечении начальной стадии CDI и обеспечивает устойчивый эффект за счет уменьшения рецидивов заболевания [34];
- рамоплин, противомикробный липогликопептид, проходящий 2-ю фазу испытаний для лечения CDI;
- рибаксамаза (SYN-004), β-лактамаза, может предотвратить инфекцию, вызванную *C. difficile*, у пациентов, получающих внутривенное введение β-лактамов антибиотиков, не нарушая кишечного микробиома [35].

Однако данные клинических испытаний по эффективности перечисленных препаратов противоречивы, и пока эти препараты могут рассматриваться как дополнение к основному традиционному лечению CDI [36, 37, 38].

Известны препараты, успешно прошедшие клинические испытания фазы 2, но не показавшие значительных результатов в 3-й фазе. Так, суротомин, липопептидный антибиотик, продемонстрировал хорошую эффективность, но не показал превосходства по сравнению с ванкомицином при лечении CDI [39]. Кадазолид, оксазолидинон-фторхинолон, продемонстрировавший хорошую активность против *C. difficile*, по результатам последнего исследования также не показал лучшей эффективности по сравнению

с ванкомицином [40]. Возможно, это в большей степени связано с несовершенным дизайном исследования, чем с неэффективностью самих препаратов. Однако данное исследование подтверждает, что положительные результаты промежуточных исследований не всегда совпадают с конечным результатом.

Подход в лечении «без антибиотиков» включает в себя понимание механизмов взаимодействия штаммов и токсинов *C. difficile* с микробиотой и иммунной системой человека. Подавление образования спор – одно из направлений, вызывающих интерес в качестве терапевтической стратегии для CDI. Howerton et al. продемонстрировали, что аналог соли желчных кислот CamSA ингибирует прорастание спор *C. difficile* у мышей [41]. Однако еще предстоит выяснить, можно ли использовать CamSA в качестве действенного средства против спор в лечении человека. Использование другого аналога желчных кислот – этаверина, одобренного в европейских странах, – в широкой терапевтической практике ограничено, поскольку механизм его действия направлен на связывание TcdB токсина *C. difficile*, а не TcdA [42] и не на споруляцию. Применение непосредственно солей желчных кислот, таких как таурохолат, толевамер, холестирамина и колестипол, рекомендуется для лечения CDI, но следует учитывать, что механизмы их взаимодействия со штаммами *C. difficile* и влияние на микробиом в целом изучены недостаточно. Известны исследования, продемонстрировавшие проблемы использования солей желчных кислот в терапевтической практике [43]. Результаты исследования Ueda et al. [44] показали, что производные тетрамовой кислоты, продуцируемые *Ps. aeruginosa*, проявляют высокую активность против *C. difficile*. Но данное наблюдение не было подтверждено клинически и требует дальнейших исследований. Причина неудачи может состоять в недостаточной изученности микробиома, его изменений и взаимодействии микроорганизмов при развитии той или иной инфекции.

Одним из ведущих методов терапии при неосложненных формах CDI является использование пробиотиков, таких как *Saccharomyces boulardii* [7], но для пациентов с иммуносупрессией препараты, содержащие живые микроорганизмы, имеют противопоказания. Вследствие этого использование трансплантации фекалий (кишечное введение донорской флоры, полученной из фекалий), а также бактериофагов [45] в условиях детского онкологического стационара ограничено. По той же причине не подходит использование нетоксигенных штаммов *C. difficile* для

профилактики или лечения CDI. Данный подход сопряжен также с риском горизонтального переноса генов из локуса патогенности бактерий и превращения нетоксигенных штаммов *C. difficile* в токсигенные [46].

Ряд исследователей предлагают внутривенное использование иммуноглобулинов, моноклональных антител, а также вакцинацию в целях профилактики и снижения риска развития CDI, но достаточные данные для рекомендации перечисленных методов при лечении CDI у детей, проходящих лечение в онкологическом стационаре, в настоящее время отсутствуют [47].

К многообещающим препаратам, которые требуют дальнейшего изучения в качестве вариантов лечения CDI, относятся:

- ауранофин, эффективен против *C. difficile* M7404 *in vitro* и может стать идеальным терапевтическим препаратом для лечения CDI [48];
- ингибитор GyrB, DS-2969b, показавший активность против *C. difficile in vitro* и *in vivo*, не нарушает микробиом, характеризуется низкой частотой возникновения резистентности [49];
- антибиотики класса ацилдепептидов, механизм их действия изучен еще недостаточно [50];
- родомиртон, биоактивное соединение, полученное из листьев мирта розового (*Rhodomyrtus tomentosa*), вызывает лизис вегетативных клеток *C. difficile* и предотвращает разрастание спор более эффективно, чем ванкомицин [51];
- эбселен, обладает бактерицидной активностью в отношении *C. difficile*, ингибирует выработку токсинов и споруляцию [52].

По сравнению с классическими методами лечения CDI упомянутые новые препараты имеют ряд преимуществ, однако, поскольку они находятся на ранней стадии разработки, до завершения клинических испытаний нельзя сделать окончательных выводов.

Таким образом, микробиологический метод до сих пор остается актуальным в детской онкологии, хотя и не ведущим методом диагностики CDI. Основными приоритетами в поиске новых препаратов для лечения и профилактики CDI являются быстрое действие, низкая частота рецидивов, сохранение кишечного микробиома, отсутствие резистентности к действующему веществу штаммов *C. difficile*. Дети в онкологическом стационаре представляют собой популяцию, требующую особого подхода в лечении CDI. На сегодняшний день эффективный алгоритм лечения CD-инфекции в условиях детского онкологического стационара не разработан.

ЛИТЕРАТУРА

1. Delgado A, Reveles IA, Cabello FT, Reveles KR. Poorer outcomes among cancer patients diagnosed with *Clostridium difficile* infections in United States community hospitals. *BMC Infect Dis* 2017; 7(448), 1-7. doi: 10.1186/s12879-017-2553-z.
2. Молочкова ОВ, Ковалев ОБ, Россина АЛ, Шамшева ОВ, Корсунский АА, Кащенко ОА и др. Клинико-этиологическая характеристика Оки у госпитализированных детей города Москвы в 2015-2017 гг. *Детские инфекции* 2018; 17(3), 27-33. doi: 10.22627/2072-8107-2018-17-3-27-33.
3. Кокина КЮ, Малиновская ЮО, Сидоренко АБ, Мойсюк ЯГ. Тяжелое течение инфекции *Clostridium difficile* после трансплантации печени и почки. *Трансплантология* 2019; 11(4), 320-9. doi: 10.23873/2074-0506-2019-11-4-320-329.
4. Pant C, Deshpande A, Gilroy R, Olyaei M, Donskey CJ. Rising incidence of *Clostridium difficile* related discharges among hospitalized children in the United States. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2016; 37(1), 104-6. doi: 10.1017/ice.2015.234.
5. Ахмедова ИМ, Камилова АТ, Геллер СИ, Дустмухамедова ДХ, Султанходжаева ШС. Характеристика *Clostridium difficile* ассоциированной диареи у детей раннего возраста. Сборник тезисов Всероссийского конгресса «Боткинские чтения». Под ред. Мазурова В. И., Трофимова Е. А. 2018; 29-30.
6. Боронина ЛГ, Саматова ЕВ, Блинова СМ, Кукушкина МП, Устюгова СС, Панова СА. Лабораторная диагностика инфекции, вызванной *Clostridium difficile* у детей в многопрофильном стационаре. *Поликлиника* 2016; 4(1), 17-20.
7. Захарова ИН, Бережная ИВ, Зайденварг ГЕ, Плац-Колдобенко АН, Дараган АЮ. Что нового в диагностике и лечении антибиотикоассоциированных диарей у детей? *Consilium Medicum. Педиатрия (Прил.)* 2016; 2, 52-9.
8. Marsh JW, Arora R, Schlackman JL, Shutt KA. Association of relapse of *Clostridium difficile* disease with BI/NAP1/027. *Journal Clinical Microbiology* 2012; 50(12), 4078-82. doi: 10.1128/JCM.02291-12.
9. Predrag S, Kuijper EJ, Nikola S, Vendrik KEW, Niko R. Recurrent community-acquired *Clostridium*(*Clostridioides*)*difficile* infection in Serbian children. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2020; 39(3), 509-16. doi: 10.1007/s10096-019-03751-4.
10. Шельгин ЮА, Алёшкин ВА, Сухина МА, Мионов АЮ, Брико НИ, Козлов РС и др. Клинические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике *Clostridium difficile*-ассоциированной диареи (CDI). Москва: Изд-во «Ремедиум Приволжье», 2019. 32 с.
11. Banawas SS. *Clostridium difficile* Infections: A Global Overview of Drug Sensitivity and Resistance Mechanisms. *Biomed Res Int* 2018; 8414257. doi: 10.1155/2018/8414257.
12. Грижевская АН, Островская ОС, Ляховская НВ, Хныков АМ. Структура госпитализированных острых кишечных инфекций в 2015-2016 гг. В сборнике: Достижения фундаментальной клинической медицины и фармации. Материалы 72-й научной сессии сотрудников университета. Витебский государственный медицинский университет, 2017; 76-8.
13. Montassier E, Al-Ghalith GA, Ward T, Corvec S, Gastinne T, Potel G, et al. Pretreatment gut microbiome predicts chemotherapy-related bloodstream infection. *Genome Medicine* 2016; 8(1), 49. doi: 10.1186/s13073-016-0301-4.
14. Peng Z, Ling L, Stratton CW, Li C, Polage CR, Wu B, Tang YW. Advances in the diagnosis and treatment of *Clostridium difficile* infections. *Emerg Microbes Infect* 2018; 7(1), 15. doi: 10.1038/s41426-017-0019-4.
15. Stofkova Z, Novakova E, Sadloňová V. New Approaches to Diagnostics of *C. Difficile* Infection. *Acta Medica Martiniana* 2020; 20(1), 18-26. doi: 10.2478/acm-2020-0003.
16. Сухина МА, Образцов ИВ, Михалевская ВИ, Ачкасов СИ, Сафин АЛ, Шельгин ЮА. Алгоритм лабораторной диагностики *Clostridium difficile*-ассоциированной диареи. *Журн микробиол* 2018; 2, 45-53.
17. Шильникова ИИ, Дьякова СА, Кулага ЕВ, Соколова ЕН, Терещенко ИВ, Дмитриева НВ. Идентификация и чувствительность к антибиотикам клостридий, включая *Clostridium difficile*, выделенных при инфекционных осложнениях у онкологических больных. *Клиническая лабораторная диагностика* 2016; 61(7), 439-44. doi: 10.18821/0869-2084-2016-61-7-439-444.
18. UK Standards for Microbiology Investigations. Issued by the Standards Unit, Public Health England. *Bacteriology* 2018; 10(1.7), 1-24.
19. Lund BM, Peck MW. A Possible Route for Foodborne Transmission of *Clostridium difficile*. *Foodborne pathogens and disease* 2015; 12(3), 177-82. doi: 10.1089/fpd.2014.1842.
20. Dharmasena M, Jiang X. Improving culture media for the isolation of *Clostridium difficile* from

- compost. *Anaerobe* 2018; 51, 1-7. doi: 10.1016/j.anaerobe.2018.03.002.
21. Park KS, Ki CS, Lee NY. Isolation and Identification of *Clostridium difficile* Using ChromID C. *difficile* Medium Combined With Gram Staining and PRO Disc Testing: A Proposal for a Simple Culture Process. *Ann Lab Med* 2015; 35(4), 404-9. doi: 10.3343/alm.2015.35.4.404.
 22. Alfa MJ, Olson N. Fecal specimens for *Clostridium difficile* Diagnostic Testing are Stable for up to 72 hours at 4°C. *J Med Microb Diagn* 2014; 3(2), 1-3. doi: 10.4172/2161-0703.1000140.
 23. Lees EA, Miyajima F, Pirmohamed M, Carrol ED. The role of *Clostridium difficile* in the paediatric and neonatal gut — a narrative review. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2016; 35, 1047-57. doi: 10.1007/s10096-016-2639-3.
 24. Терещенко ИВ, Григорьевская ЗВ, Петухова ИН, Багирова НС, Винникова ВД, Вершинская ВА, Дмитриева НВ. Инфекционные осложнения, вызванные неспорообразующими анаэробными микроорганизмами, у онкологических больных. Актуальность проблемы. *Сибирский онкологический журнал* 2020; 19(4), 146-51. doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-4-146-151.
 25. Castagnola E, Ruberto E, Guarino A. Gastrointestinal and liver infections in children undergoing antineoplastic chemotherapy in the years 2000. *World J Gastroenterol* 2016; 22(25), 5853-66. doi: 10.3748/wjg.v22.i25.5853.
 26. Wick EC, Sears CL. *Bacteroides* spp. and diarrhea. *Current Opinion in Infectious Diseases* 2010; 23(5), 470-74 doi: 10.1097/QCO.0b013e32833da1eb.
 27. Azimirad M, Gholami F, Yadegar A, Knight DR, Shamloei S, Aghdaei HA, Zali MR. Prevalence and characterization of *Clostridium perfringens* toxinotypes among patients with antibiotic-associated diarrhea in Iran. *Sci Rep* 2019; 9, 7792. doi: 10.1038/s41598-019-44281-5.
 28. Cassir N, Benamar S, La Scola B. *Clostridium butyricum*: from beneficial to a new emerging pathogen. *Clinical Microbiology and Infection* 2016; 22(1), 37-45. doi: 10.1016/j.cmi.2015.10.014.
 29. Camorlinga M, Sanchez-Rojas M, Torres J, Romo-Castillo M. Phenotypic Characterization of Non-toxicogenic *Clostridioides difficile* Strains Isolated From Patients in Mexico. *Frontiers in Microbiology* 2019; 10(84), 1-10. doi: 10.3389/fmicb.2019.00084.
 30. McDonald LC, Gerding DN, Johnson S, Bakken JS, Carroll KC, Coffin SE, et al. Clinical Practice Guidelines for *Clostridium difficile* Infection in Adults and Children: 2017 Update by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and Society for Healthcare Epidemiology of America (SHEA). *Clin Infect Dis* 2018; 66(7), 987-94. doi: 10.1093/cid/ciy149.
 31. FDA Approves Merck's FIDICID (fidaxomicin) to Treat *Clostridioides difficile* in Children Aged 6 Months and Older [news release]. Available: <https://www.businesswire.com/news/home/20200127005296/en/FDA-Approves-Merck>
 32. Popovic N, Korac M, Nestic Z, Milosevic B, Urosevic A, Jevtovic D, et al. Oral teicoplanin versus oral vancomycin for the treatment of severe *Clostridium difficile* infection: a prospective observational study. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2018; 37(4), 745-54. doi: 10.1007/s10096-017-3169-3.
 33. Kechagias KS, Chorepsima S, Triarides NA, Falagas ME. Tigecycline for the treatment of patients with *Clostridium difficile* infection: an update of the clinical evidence. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2020; 39, 1053-8. doi: 10.1007/s10096-019-03756-z.
 34. Vickers RJ, Tillotson GS, Nathan R, Hazan S, Pullman J, Lucasti C, et al. Efficacy and safety of ridinilazole compared with vancomycin for the treatment of *Clostridium difficile* infection: a phase 2, randomised, double-blind, active-controlled, non-inferiority study. *Lancet Infect Dis* 2017; 17(7), 735-44. doi: 10.1016/S1473-3099(17)30235-9.
 35. Kokai-Kun JF, Roberts T, Coughlin O, Le C, Whalen H, Stevenson R, et al. Use of ribaxamase (SYN-004), a β -lactamase, to prevent *Clostridium difficile* infection in β -lactam-treated patients: a double-blind, phase 2b, randomised placebo-controlled trial. *Lancet Infect Dis* 2019; 19(5), 487-96. doi: 10.1016/S1473-3099(18)30731-X.
 36. Hesari NR. *Clostridium difficile* treatment. 2018. Available: <https://www.hcplive.com/view/exploring-nonconventional-antimicrobial-alternate-therapies-in-clostridium-difficile-treatment>
 37. Решетько ОВ, Якимова ЮН. Инновационные антибиотики для системного применения. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия* 2015; 17(4), 272-85.
 38. Fehér C, Soriano A, Mensa J. A Review of Experimental and Off-Label Therapies for *Clostridium difficile* Infection. *Infect Dis Ther* 2017; 6(1), 1-35. doi: 10.1007/s40121-016-0140-z.
 39. Petrosillo N, Granata G, Cataldo MA. Novel Antimicrobials for the Treatment of *Clostridium difficile* Infection. *Front Med* 2018; 5(96), 1-16. doi: 10.3389/fmed.2018.00096.
 40. Gerding DN, Cornely OA, Grill S, Kracker H, Marrast AC, Nord CE, et al. Cadazolid for the treatment of *Clostridium difficile* infection: results

- of two double-blind, placebo-controlled, non-inferiority, randomised phase 3 trials. *Lancet* 2019; 19(3), 265-74. doi: 10.1016/S1473-3099(18)30614-5.
41. Howerton A, Patra M, Abel-Santos E. A new strategy for the prevention of *Clostridium difficile* infection. *J Infect Dis* 2013; 207(10), 1498-504. doi: 10.1093/infdis/jit068.
 42. Tam J, Icho S, Utama E, Orrell KE, Gómez-Biagi RF, Theriot CM, et al. Intestinal bile acids directly modulate the structure and function of *C. difficile* TcdB toxin. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2020; 17(12), 6792-800. doi: 10.1073/pnas.1916965117.
 43. Dubois T, Tremblay YDN, Hamiot A, Martin-Verstraete I, Deschamps J, Monot M, et al. A microbiota-generated bile salt induces biofilm formation in *Clostridium difficile*. *npj Biofilms Microbiomes* 2019; 5(14), 1-12. doi: 10.1038/s41522-019-0087-4.
 44. Ueda C, Tateda K, Horikawa M, Kimura S, Ishii Y, Nomura K, et al. Anti-*Clostridium difficile* Potential of Tetramic Acid Derivatives from *Pseudomonas aeruginosa* Quorum-Sensing Autoinducers. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2010; 54(2), 683-8. doi: 10.1128/AAC.00702-09.
 45. Freige C, McCormack S. Bacteriophage Therapy for Treatment of *Clostridioides difficile*: Clinical Effectiveness and Guidelines. Ottawa: CADTH; 2019. (CADTH rapid response report: reference list).
 46. Brouwer MS, Roberts AP, Hussain H, Williams RJ, Allan E, Mullany P. Horizontal gene transfer converts non-toxigenic *Clostridium difficile* strains into toxin producers. *Nat Commun* 2013; 4(2601), 1-6. doi: 10.1038/ncomms3601.
 47. Diorio C, Robinson PD, Ammann RA, Castagnola E, Erickson K, Esbenschade A. Guideline for the Management of *Clostridium Difficile* Infection in Children and Adolescents With Cancer and Transplantation Recipients. *J Clin Oncol* 2018; 36(31), 3162-71. doi: 10.1200/JCO.18.00407.
 48. Roder C, Athan E. In Vitro Investigation of Auranofin as a Treatment for *Clostridium difficile* Infection. *Drugs in R&D* 2020; 20(3), 209-16. doi: 10.1007/s40268-020-00306-3.
 49. Mathur T, Barman TK, Kumar M, Singh D, Kumar R, Khera MK, et al. In Vitro and In Vivo Activities of DS-2969b, a Novel GyrB Inhibitor, against *Clostridium difficile*. *Antimicrob Agents Chemother* 2018; 62(4), e02157-17. doi: 10.1128/AAC.02157-17.
 50. Gil F, Paredes-Sabja D. Acyldepsipeptide antibiotics as a potential therapeutic agent against *Clostridium difficile* recurrent infections. *Future Microbiology* 2016; 11(9), 1179-89. doi: 10.2217/fmb-2016-0064.
 51. Srisuwan S, Mackin KE, Hocking D, Lyras D, Bennett-Wood V, Voravuthikunchai SP, Robins-Browne RM. Antibacterial activity of rhodomyltone on *Clostridium difficile* vegetative cells and spores in vitro. *Int J Antimicrob Agents* 2018; 52(5), 724-9. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2018.08.014.
 52. Marreddy RKR, Olaitan AO, May JN, Dong M, Hurdle JG. Ebselen Exhibits Antimicrobial Activity Against *Clostridioides difficile* By Disrupting Redox Associated Metabolism. *bioRxiv* 2020; 07(27), 224337. doi: 10.1101/2020.07.27.224337.