

DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-160-12-51-57

Особенности фекальной микробиоты при *Clostridioides difficile*-ассоциированной инфекции

Сухина М. А.¹, Шельгин Ю. А.^{1,2}, Лягина И. А.¹, Фролов С. А.¹¹ ФГБУ «ГНЦК им. А. Н. Рыжих» Минздрава России, 123423, Москва, Россия, ул. Саляма Адиля, 2² ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, 125993, г. Москва, Россия, ул. Баррикадная, д. 3/4, стр. 1

Features of fecal microbiotes of *Clostridioides difficile*-associated infection

M. A. Sukhina¹, Yu. A. Shelygin^{1,2}, I. A. Lyagina¹, S. A. Frolov¹¹ State Scientific Center of Coloproctology, 123423 Moscow, Russia, st. Salam Adil 2² Federal state budgetary educational institution additional professional education Ministry of Health of Russia, 125993, Moscow, Russia, st. Barrikadnaya, d. 3/4, p. 1

Для цитирования: Сухина М. А., Шельгин Ю. А., Лягина И. А., Фролов С. А. Особенности фекальной микробиоты при *Clostridioides difficile*-ассоциированной инфекции. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2018;160(12): 51–57. DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-160-12-51-57

For citation: Sukhina M. A., Shelygin Yu. A., Lyagina I. A., Frolov S. A. Features of fecal microbiotes of *Clostridioides difficile*-associated infection. *Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2018;160(12): 51–57. (In Russ.) DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-160-12-51-57

Сухина Марина Алексеевна, кандидат биологических наук, руководитель отдела микробиологических и иммунологических исследований

Шельгин Юрий Анатольевич, д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН, директор

Лягина Ирина Анатольевна, заведующая микробиологической лабораторией с группой иммунологических исследований

Фролов Сергей Алексеевич, заместитель директора по научной работе

Marina A. Sukhina, PhD in Biological sciences, head of department of microbiological and immunological researches

Marina A. Sukhina, PhD, head of department of microbiological and immunological researches, Scopus Author ID 57192270856, 36622384800, ORCID <https://orcid.org/0000-0003-4795-0751>

Yury A. Shelygin, MD, professor, corresponding member of the Russian Academy of Sciences, Director, Scopus Author ID 6602949973, ORCID <https://orcid.org/0000-0002-8480-9362>

Sergey A. Frolov, MD, deputy director for Science, Scopus Author ID 710906664

✉ Corresponding author:

Сухина Марина Алексеевна
Marina A. Sukhina
marinamari272015@gmail.com

Резюме

Цель. Изучение динамики изменения кишечной микробиоты пациентов с *Clostridioides difficile*-ассоциированной инфекцией.

Материалы и методы. В исследование включено 746 пациентов, находящихся на стационарном лечении. 502 пациента, обследованы на этапе поступления и выписки из стационара, и 305 пациентов с клинической картиной *Clostridioides difficile*-ассоциированной инфекцией (CDI), среди них 163 (46,6%) мужчины и 142 (53,4%) женщины. Возраст пациентов составлял 48–67 лет. Исследовали качественный и количественный состав просветных фекалий.

Результаты. Анализ изучения качественного и количественного состава фекальной микробиоты пациентов, находящихся на лечении в колопроктологическом стационаре и пациентов с клинической картиной *Clostridioides difficile*-ассоциированной инфекцией показал динамику изменений толстокишечной микробиоты у пациентов при поступлении в стационар и развитии клинической картины антибиотикоассоциированной диареи. При поступлении в стационар, у пациентов с заболеваниями толстой кишки наблюдалось снижение титра лактобацилл (медиана 10*5 КОЕ/г., диапазон колебаний 10*4 КОЕ/г.; 10*6 КОЕ/г.). При колите, вызванном как *Clostridioides difficile* так и другими представителями рода *Clostridium spp.*, наблюдалось достоверное снижения количества лактобацилл в просветных фекалиях ($p < 0,01$).

Не было выявлено достоверных различий уровня обсемененности просветных фекалий энтеробактериями у всех групп обследованных пациентов.

Заключение. Развитие CDI характеризуется выраженным снижением аутохтонной микрофлоры, особенно лактобацилл. Степень изменений микробиоты у пациентов с CDI неоднозначна для каждого члена микробного сообщества толстокишечного микробиоценоза.

Ключевые слова: *Clostridioides difficile*, антибиотик-ассоциированная диарея, фекальная микробиота, *Clostridioides difficile*-ассоциированной инфекцией

Summary

Aim. Study of the dynamics of changes in the intestinal microbiota of patients with *Clostridioides difficile*-associated infection.

Materials and methods. The study included 746 patients in inpatient treatment. 502 patients were examined at the stage of admission and discharge from the hospital, and 305 patients with the clinical picture of *Clostridioides difficile*-associated infection (CDI), among them 163 (46.6%) men and 142 (53.4%) women. The age of the patients was 48–67 years. The qualitative and quantitative composition of translucent feces was investigated.

Results. Analysis of the study of the qualitative and quantitative composition of the fecal microbiota of patients treated in a coloproctology hospital and patients with a clinical picture of *Clostridioides difficile*-associated infection showed the dynamics of changes in the colonic microbiota in patients upon admission to hospital and the development of the clinical picture of antibiotic-associated diarrhea. Upon admission to the hospital, patients with diseases of the colon showed a decrease in the titer of lactobacilli (median 10×5 CFU / g., Fluctuation range 10×4 CFU / g; 10×6 CFU / g). With colitis caused by *Clostridioides difficile* and other members of the genus *Clostridium* spp., A significant decrease in the amount of lactobacillus in the luminal feces was observed ($p < 0.01$).

There were no significant differences in the level of contamination of the luminal feces with enterobacteria in all groups of patients examined.

Conclusions. Development of CDI is characterized by a pronounced decrease autochthonous microflora, especially lactobacilli. The degree of microbiota changes in patients with CDI is ambiguous for each member of the microbial community of colonic microbiocenosis.

Key words: *Clostridioides difficile*, antibiotic-associated diarrhea, fecal microbiota, *Clostridioides difficile*-associated infection

Введение

Аутохтонная микробиота кишечника обеспечивает колонизационную резистентность макроорганизма, ее нарушение приводит к дисбиозу, который характеризуется изменением качественного и количественного составов. Способность аутохтонной микробиоты сдерживать рост патогенных бактерий обусловлена конкурентной борьбой за место обитания и питательные вещества в кишечнике, а также синтезом специфических веществ, ингибирующих рост бактериальных популяций [1]. Заселение кишечника токсигенными штаммами *Clostridioides difficile*, их пролиферация приводит к развитию *Clostridioides difficile* – ассоциированной инфекции (CDI). Морфологические изменения в стенке кишки, обусловленные бактерией, характеризуются поверхностным некрозом слизистой оболочки толстой кишки с образованием «псевдомембран» – эксудативных бляшек. При отсутствии эффективной специфической антибактериальной терапии, направленной против *C. difficile*, инфекция способна прогрессировать и вызывать обширные воспалительные изменения в стенке кишки [2]. Клостридиальный колит развивается при попадании токсигенных штаммов *C. difficile* в организм из окружающей среды. Однако клиническая картина заболевания разворачивается не всегда. Причиной тому являются не только защитные свойства нормальной микробиоты кишечника, но и реализация антитело-опосредованного ответа. При нарушении баланса микроорганизмов и повреждении слизистой оболочки толстой кишки *C. difficile* колонизируют кишечник, образуют вегетативные формы, секретирующие токсины. Их синтез кодируется соответствующими генами, что лежит в основе молекулярно-биологических

методов диагностики *C. difficile* [3]. CDI сопровождается интенсивным воспалительным процессом и повреждением тканей, что приводит к развитию псевдомембранозного колита (ПК), следствием которого может быть формирование токсического мегаколona, перфорация кишечника, сепсис [4]; и является основной причиной нозокомиальной диареи. Развитие CDI провоцируется многими факторами, среди которых первое место занимает прием антибактериальных препаратов или других лекарственных средств [5]. Существует множество факторов, оказывающих влияние на микробиоту кишки. Так, в послеоперационном периоде у колопроктологических пациентов часто возникает необходимость назначения антисекреторных препаратов для профилактики стрессовых язв. Использование ингибиторов протонной помпы (ИПП) увеличивает вероятность возникновения CDI. В ретроспективном фармакоэпидемиологическом исследовании в США на основании базы данных, включающей 35312 пациентов, находящихся на искусственной вентиляции легких, было оценено влияние ИПП на частоту развития осложнений, в том числе CDI. В 1 группе 13439 (38,1%) больных получали H₂-блокаторы. Во 2-й 21873 (61,9%) пациентам назначались ИПП в качестве профилактической противоязвенной терапии. CDI развивалась у 2,2% и 3,8% пациентов в 1 и во 2 группе, соответственно ($p=0,001$). Исследователи пришли к выводу, что применение ИПП статистически значимо сопряжено с большим риском возникновения CDI, чем при использовании H₂-блокаторов [6]. Широкое применение антибактериальных препаратов в клинической практике с профилактической и лечебной целью у пациентов с вмешательствами

на толстой кишке в периоперативном периоде также увеличивает вероятность возникновения CDI. Так, в многоцентровом исследовании, проведенном в Нидерландах в период с 2006 по 2009 годы, исследовалась частота развития CDI у больных, получавших антибактериальные препараты из группы цефалоспоринов и пенициллинов. Было выделено 3 группы пациентов: I – 337 больных с клиникой диареи и положительным тестом на токсин А и В *C. difficile*; II – 337 больных без диареи; III – 227 пациентов с диареей, не связанной с CDI. Исследователи установили период повышенного риска возникновения CDI после антибиотикотерапии. Так, имелось 10-кратное увеличение риска возникновения клостридиальной инфекции во время использования антибиотиков ОШ=(6,7–10,4). Он значительно снижался в период до 3 месяцев после отмены препарата ОР=2,7. Анализ результатов исследования показал, что риск возникновения CDI при использовании цефалоспоринов второго (ОШ=3,47; ДИ95%: 1,95–6,16) и третьего поколения (ОШ=5,53; ДИ95%: 3,39–9,01), карбапенемов (ОШ=4,5; ДИ95% 1,52–13,3) был значительно выше. Противоречивые и интересные, но в то же время трудные для интерпретации данные, получены по приему метронидазола. В исследовании было показано, что он увеличивает риск возникновения CDI более, чем в 3 раза (ОШ=3,31; ДИ95%: 1,78–6,15), хотя известно, что метронидазол может применяться для ее лечения [2]. Воздействие каждого из перечисленных факторов нарушает равновесное состояние кишечной микробиоты, угнетает её ауhtonную часть, которая обеспечивает колонизационную резистентность макроорганизма [7]. В свою очередь, заселение кишечника токсигенными штаммами *Clostridioides difficile*, их пролиферация приводит к развитию CDI [8]. Во многих странах отчетность по заболеваемости антибиотикоассоциированной диареей является обязательной. В некоторых регионах Северной Америки частота встречаемости *C. difficile*-ассоциированной инфекцией достигает до 100 случаев на 100000 населения [4]. Статистически достоверных данных по распространению этой инфекции

в России на сегодняшний день нет. Но данные многочисленных локальных наблюдений за уровнем распространения инфекции свидетельствуют о высокой частоте встречаемости *C. difficile* – ассоциированной диареи. Одной из основных причин развития инфекции является широкое и часто необоснованное применение антибактериальных препаратов, что оказывает влияние на равновесное состояние кишечной микробиоты. Нормальная микробиота кишечника представляет собой неспецифический барьер и оказывает важное влияние на защитные и обменно-трофические адаптационные механизмы организма человека. Одной из ключевых функций индигенной микрофлоры желудочно-кишечного тракта является формирование и поддержание колонизационной резистентности, что препятствует размножению патогенных и условно-патогенных бактерий в кишечнике. Микробиота толстой кишки представлена пятью основными группами: *Bacteroidales*, *Clostridiales*, *Actinobacteria*, *Proteobacteria* и *Archaea* [9]. Доминирующее положение в пристеночной микрофлоре принадлежит *Bacteroides* и *Clostridium* [10], в значимых количествах содержатся молочно-кислые бактерии *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus*, *Oenococcus*, *Weissella*, а так же *Fusobacterium prausnitzii*, *Peptostreptococcus products u Clostridium clostridiiforme*, *Bacteroides thetaiotaomicron*, *Bacteroides vulgaris*, *Eubacterium limosum* *Escherichia coli*, *Bifidobacterium adolescentis*, *Bifidobacterium longum*, *Lactobacillus acidophilus*. Применение антибактериальных препаратов приводит к дисбиотическим изменениям микробиоценоза кишечника. Кроме изменения численности микроорганизмов антибактериальные средства изменяют соотношения и количества метаболитов, а также увеличивают количество антибиотикорезистентных штаммов условно-патогенной микрофлоры.

Целью настоящего исследования являлось изучение динамики изменения кишечной микробиоты пациентов с *Clostridioides difficile* – ассоциированной инфекцией.

Материалы и методы

В настоящее одноцентровое проспективное исследование включено 746 пациентов, которые находились на стационарном лечении в ФГБУ «ГНЦК им. А. Н. Рыжих» Минздрава России. 502 пациента, обследованы на этапе поступления и выписки из стационара, и 305 пациентов с клинической картиной *Clostridioides difficile* – ассоциированной инфекцией (CDI), среди них 163 (46,6%) мужчины и 142 (53,4%) женщины. Возраст пациентов составлял 48–67 лет.

Критериями включения пациентов в исследование являлись:

- возраст старше 18 лет;
- подписанное информированное согласие на участие в исследовании;
- возникновение нозокомиальной диареи;
- поступление в стационар.

Критериями исключения были:

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

В ходе работы у всех пациентов были исследованы просветные фекалии при поступлении в стационар, при выписке из стационара и в случае возникновения клинической картины CDI. Исследовали качественный и количественный состав просветных фекалий.

Выделение и идентификация микроорганизмов проводилось общепринятыми бактериологическими методами. Алгоритм исследования соответствовал варианту 1, описанному в клинических рекомендациях по диагностике, лечению и профилактике

C. difficile-ассоциированной диареи [11]. Все этапы микробиологических исследований проводились в условиях строгой бескислородной атмосферы с использованием анаэробной рабочей станции Bactron (Sheldon Manufacturing Inc., США). Для выделения штаммов *C. difficile* использовались следующие питательные среды: Columbia agar, Brusella agar, Chadlera agar, Сердечно-мозговой бульон, тиаглицоловый бульон, с добавлением 7%

дифибринированной крови барана. Для выделения других микроорганизмов использовались питательные среды, обеспечивающие рост каждого вида, выделение микроаэрофильных бактерий проводили с использованием CO₂-инкубатора (Sheldon Manufacturing Inc., США). Идентификацию микроорганизмов осуществляли на времяпролетном масс-спектрометре с матричной лазерной десорбцией/ионизацией (MALDI-TOF) (Bruker, США).

Результаты и обсуждение

Среди пациентов, поступающих в колопроктологический стационар в 50,2% случаев была изолирована токсинпродуцирующая *C. difficile*. Изучение качественного и количественного состава аутохтонной микробиоты позволило выявить динамику изменений толстокишечной микробиоты у пациентов при поступлении в стационар и развитии клинической картины антибиотик-ассоциированной диареи.

Бифидобактерии и лактобациллы: в процессе нахождения в стационаре у пациентов без развития CDI не было выявлено достоверных отличий в количественном составе бифидобактерий. Так при поступлении в стационар у пациентов с заболеваниями толстой кишки уровень обсемененности бифидобактериями просветных фекалий находился в пределах 10⁵ КОЕ/г – 10⁸ КОЕ/г., при выписке из стационара в просветных фекалиях пациентов не наблюдались достоверные отличия в количественном составе бифидобактерий (титр бифидобактерий 10⁶ КОЕ/г – 10⁷ КОЕ/г.) Медиана содержания бифидобактерий в просветных фекалиях у пациентов колопроктологического стационара во время прохождения лечения и пребывания в стационаре составила 10⁶ КОЕ/г.

Лактобациллы были изолированы из просветных фекалий пациентов с заболеваниями кишки при поступлении в колопроктологический стационар в 96,2% случаев, в то время как бифидобактерии присутствовали в кишечной микробиоте у всех пациентов. Средняя обсемененность лактобацилл и бифидобактерий составляла на этапе поступления, соответственно, 10⁵–10⁶ КОЕ/г. (рисунок 1). У пациентов при развитии CDI продолжали изолироваться лактобациллы и бифидобактерии с такой же частотой – составило 93,6% для лактобактерий и 100% для бифидобактерий. Но титр этих микроорганизмов в просветных фекалиях у этих пациентов диагностически снизился 10⁴ КОЕ/г. для лактобацилл и практически не отразился на титре бифидобактерий (10⁵ КОЕ/г.). Во многих публикациях описано использование пробиотических препаратов, включающих *Lactobacillus spp.* для лечения и профилактики развития псевдомембранозного колита [12, 13, 14, 15, 16]. Мы изучили содержание микроорганизмов этого рода в просветных фекалиях пациентов, включенных в исследование. Так, при поступлении пациентов в стационар медиана титра лактобацилл составляла 10⁵ КОЕ/г. (10⁴ КОЕ/г.; 10⁶ КОЕ/г.), что значительно ниже, чем у здоровых людей (общепринятая условная норма от 10⁷ КОЕ/г. до 10⁹ КОЕ/г.), у пациентов, не страдающих антибиотик-ассоциированной

диареей, при выписке из стационара медиана количества лактобацилл определялась 10⁵ КОЕ/г. (10⁴ КОЕ/г.; 10⁶ КОЕ/г.). При колите, вызванном как *Clostridioides difficile* так и другими представителями рода *Clostridium spp.*, медиана обсемененности лактобактерий просветных фекалий находилась на уровне 10⁵ КОЕ/г. (10⁴ КОЕ/г., 10⁵ КОЕ/г.). Таким образом, статистически достоверно происходило уменьшение их количества при развитии CDI ($p < 0,01$; при расчете достоверности сравнивались показатели содержания *Lactobacillus spp.* при поступлении у всех пациентов и при развитии клостридиального колита, обусловленного *C. difficile* и другими микроорганизмами *Clostridium spp.*).

Также в нашей работе мы попытались определить связь титра *C. difficile* в просветных фекалиях с количеством *Lactobacillus spp.* Проведенный корреляционный анализ показал, что количество микроорганизмов *Lactobacillus spp.* не влияет на численность *C. difficile* и связь отсутствует ($r = 0,06$). По-видимому, эффект от терапии CDI пробиотическими препаратами связан не только с восстановлением численности лактобактерий, но и с активностью каждого конкретного штамма *Lactobacillus spp.*

Клостридии: содержание клостридий (кроме *C. difficile*) сохраняется неизменным в процессе госпитализации. При поступлении обсемененность клостридиями лежит в пределах 10⁴ КОЕ/г. – 10⁷ КОЕ/г., медиана – 10⁵ КОЕ/г.; при развитии CDI уровень обсемененности просветных фекалий клостридиями возрастает до 10⁵ КОЕ/г. – 10⁷ КОЕ/г., медиана 10⁶ КОЕ/г. При выписке из стационара у пациентов, не страдающих антибиотик-ассоциированной диареей уровень обсемененности просветных фекалий спорообразующими облигатно анаэробными бактериями, остается таким же, как и при поступлении в стационар.

***Clostridioides difficile*:** содержание *C. difficile* в просветных фекалиях у пациентов колопроктологического профиля исходно характеризуется высокой дисперсией и находится в диапазоне 0–10⁶ КОЕ/г. (медиана – 10³ КОЕ/г.). Развитие клинически значимой симптоматики CDI сопровождается достоверным ($p < 0.01$) возрастанием обсемененности *C. difficile* до 10⁵ КОЕ/г. – 10⁸ КОЕ/г. (медиана – 10⁶ КОЕ/г.). Разрешение симптоматики при выписке ассоциировано с клиренсом возбудителя и снижением его содержания до 10³ КОЕ/г. – 10⁶ КОЕ/г. (медиана – 10⁵ КОЕ/г.) (рисунок 2). Перед выпиской пациентов высеваемость *C. difficile* снижалась до 65,8%.

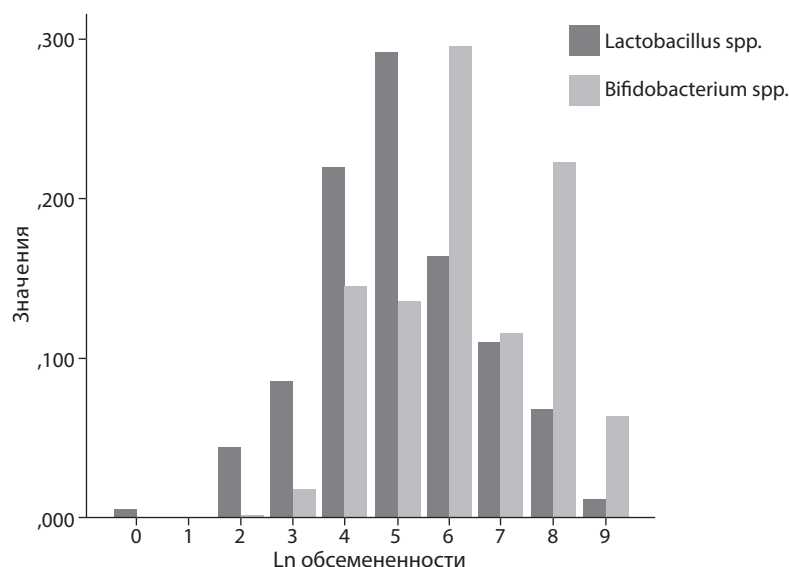


Рисунок 1. Распределение обсеменённости лактобацилл и бифидобактерий у пациентов колопроктологического профиля при поступлении в стационар.

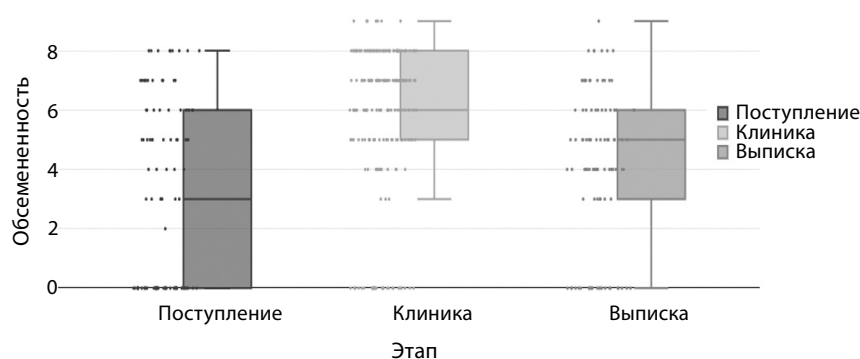


Рисунок 2. Содержание *C. difficile* в просветных фекалиях у пациентов на различных этапах госпитализации и при развитии клинической картины CDI.

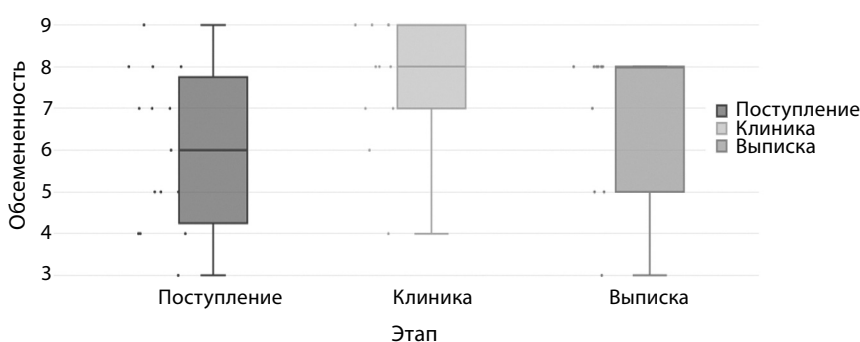


Рисунок 3. Содержание *Pseudomonas aeruginosa* в просветных фекалиях у пациентов на различных этапах госпитализации и при развитии клинической картины CDI.

Неспоробразующие облигатно анаэробные бактерии: содержание бациллоидов при развитии клинической картины CDI не изменяется и составляет 10^6 КОЕ/г. – 10^8 КОЕ/г., медиана – 10^7 КОЕ/г. При выписке показатель незначительно возрастает до 10^6 КОЕ/г. – 10^9 КОЕ/г., медиана 10^8 КОЕ/г.

Энтеробактерии: не была выявлена взаимосвязь развития CDI и уровнем *Escherichia coli* в просветных фекалиях пациентов с заболеваниями толстой кишки на разных этапах исследования. При поступлении титр обсемененности варьирует в диапазоне 10^6 КОЕ/г. – 10^8 КОЕ/г. (медиана 10^7 КОЕ/г.); при развитии CDI и при выписке обсеменённость *E. coli* составляет 10^5 КОЕ/г. – 10^8 КОЕ/г., медиана 10^7 КОЕ/г. Развитие CDI не влияет на уровень обсемененности просветных фекалий *Escherichia*

coli, продуцирующей гемолизина. Уровень титра находился в интервале 10^5 КОЕ/г. – 10^8 КОЕ/г. на всех этапах исследования.

Proteus: не выявлена связь между CDI и уровнем содержания различных видов протея. При поступлении в стационар уровень обсеменённости просветных фекалий пациентов составил 10^4 КОЕ/г. – 10^7 КОЕ/г.; в просветных фекалиях пациентов с антибиотико-ассоциированной диареей, и пациентов выписывающихся из стационара, не имеющих клинической картины CDI различные виды протея присутствовали в титре 10^4 КОЕ/г. – 10^8 КОЕ/г. Медиана составляет 10^5 КОЕ/г.

Klebsiella pneumoniae: титр обсемененности *Klebsiella pneumoniae* в просветных фекалиях пациентов с заболеваниями толстой кишки достоверно

не изменялся во время нахождения в стационаре, независимо от наличия клинической картины антибиотико-ассоциированной диареи. При поступлении титр обсемененности *Klebsiella pneumoniae* просветных фекалий составлял 10^4 КОЕ/г. – 10^6 КОЕ/г., а при развитии клинической картины CDI и при выписке из стационара 10^4 КОЕ/г. – 10^7 КОЕ/г. Медиана титра обсемененности *Klebsiella pneumoniae* просветных фекалий у пациентов с заболеваниями толстой кишки составляет 10^5 КОЕ/г.

Уровень и частота выявления других представителей порядка *Enterobacteriales* у всех обследованных пациентов на этапе поступления в стационар, выписке из него и при развитии клинической картины антибиотик-ассоциированной диареи составлял 10^5 КОЕ/г.

Грамнегативные неферментирующие бактерии: развитие CDI ассоциировано с увеличением титра обсемененности просветных фекалий *Pseudomonas aeruginosa* с 10^4 КОЕ/г. – 10^8 КОЕ/г. (медиана 10^6 КОЕ/г.) при поступлении в колопроктологический стационар, до 10^7 КОЕ/г. – 10^9 КОЕ/г. (медиана 10^8 КОЕ/г.). При выписке значение показателя находится в диапазоне 10^5 КОЕ/г. – 10^8 КОЕ/г. (медиана 10^8 КОЕ/г.) (рисунок 3).

Кокковая микрофлора: уровень обсемененности стафилококками, стрептококками и энтерококками просветных фекалий у пациентов с заболеваниями толстой кишки оставался неизменным на всех этапах пребывания в колопроктологическом стационаре и в случае развития антибиотик-ассоциированной диареи.

Уровень обсемененности просветных фекалий *Staphylococcus aureus* при поступлении находится в диапазоне 10^3 КОЕ/г. – 10^5 КОЕ/г. (медиана 10^4 КОЕ/г.), у пациентов с клинической картиной CDI и у пациентов при выписке из колопроктологического стационара титр составил 10^4 КОЕ/г. – 10^5 КОЕ/г., медиана 10^5 КОЕ/г. Уровень обсемененности другими видами стафилококка находился в пределах 10^5 КОЕ/г. – 10^6 КОЕ/г. при поступлении; у пациентов при развитии CDI титр составил 10^4 КОЕ/г. – 10^6 КОЕ/г. Медиана оставалась

неизменной на всех этапах исследования и составляла 10^5 КОЕ/г.

Уровень содержания стрептококков в просветных фекалиях у пациентов при поступлении в стационар варьировал в диапазоне 10^4 КОЕ/г. – 10^8 КОЕ/г. (медиана 10^6 КОЕ/г.). При развитии клинической симптоматики обсемененность стрептококками составляла 10^5 КОЕ/г. – 10^8 КОЕ/г., наблюдалось незначимое увеличение медианы титра до 10^7 КОЕ/г. В просветных фекалиях пациентов при выписке из стационара титр присутствия стрептококков не отличался от титра в момент поступления пациентов в стационар и находился в пределах 10^5 КОЕ/г. – 10^8 КОЕ/г. (медиана 10^6 КОЕ/г.).

Уровень обсемененности фекалий энтерококками оставался неизменным на всех этапах исследования и составлял 10^6 КОЕ/г. – 10^9 КОЕ/г. (медиана 10^8 КОЕ/г.).

Дрожжеподобные грибы: медиана титра обсемененности просветных фекалий *Candida albicans* не изменялась у пациентов при поступлении и выписке из колопроктологического стационара (10^5 КОЕ/г.). Титр обсемененности просветных фекалий грибами при поступлении колебался в диапазоне 10^4 КОЕ/г. – 10^7 КОЕ/г.; при развитии клинической картины CDI титр составил 10^3 КОЕ/г. – 10^7 КОЕ/г.; при выписке – 10^4 КОЕ/г. – 10^8 КОЕ/г. У пациентов с клинической картиной CDI содержание *C. albicans* в просветных фекалиях был достоверно выше ($p < 0.05$) и колебался в пределах 10^4 КОЕ/г. – 10^7 КОЕ/г. (медиана 10^5 КОЕ/г.); титр обсемененности просветных фекалий пациентов не имеющих клиническую картину CDI варьировал в диапазоне 10^3 КОЕ/г. – 10^5 КОЕ/г. (медиана 10^4 КОЕ/г.). Содержание в просветных фекалиях обследованных пациентов остальных видов дрожжеподобных грибов было несколько ниже при поступлении (10^3 КОЕ/г. – 10^5 КОЕ/г.); у пациентов с CDI титр увеличился до 10^4 КОЕ/г. – 10^5 КОЕ/г.; но при выписке возвратился к исходному уровню. Медиана титра обсемененности дрожжеподобных грибов оставалась неизменной на всех этапах обследования (10^4 КОЕ/г.).

Заключение

Микрофлора пищеварительного тракта представляет собой сложную экологическую систему, ведущая роль которой состоит в защите организма от колонизации условно-патогенной и патогенной микрофлорой. Одной из функций нормальной кишечной микрофлоры является антагонистическая. Антагонистическая активность бактерий определяет выживание микроорганизмов при их взаимодействии в бактериальных ассоциациях, которые являются частью многокомпонентной системы – ассоциативного симбиоза. Обсуждая проблему микробиологического гомеостаза, следует подчеркнуть, что одним из его механизмов является антагонистическая активность ауhtonной микрофлоры толстой кишки. Бесконтрольное и нерациональное применение антибактериальных препаратов создает предпосылки к селективному отбору микроорганизмов,

росту их резистентности и появлению высоко-вирулентных штаммов, что неизбежно приводит к распространению и трудностям при лечении CDI. На современном этапе широкое применение антибактериальных препаратов, особенно цефалоспоринового ряда, стимулирует колонизацию кишечного биотопа *C. difficile* и угнетение ауhtonной микрофлоры. Уровень лактобацилл и бифидобактерий у пациентов с заболеваниями толстой кишки достоверно снижен в сравнении со здоровыми людьми. Развитие антибиотик-ассоциированной диареи характеризуется еще более выраженным снижением ауhtonной микрофлоры, особенно лактобацилл, что приводит к выраженному снижению колонизационной резистентности макроорганизма, развитию к CDI. Выраженность изменений микробиоты у пациентов с CDI неоднозначна для каждого члена микробного

сообщества в толстокишечном микробиоценозе. Развитие CDI ассоциировано со снижением титра лактобацилл, что определяет снижение

колонизационной резистентности макроорганизма и пролиферацию токсинпродуцирующих *Clostridioides difficile*.

Литература | References

1. Larson H.E., Parry J. V, Price A. B. *et al.* Undescribed toxin in pseudomembranous colitis. // *BMJ*. 1977. № 6071 (1). P. 1246–1248.
2. Hensgens M.P.M., Goorhuis A., Dekkers O. M. *et al.* Time interval of increased risk for *Clostridium difficile* infection after exposure to antibiotics. // *The Journal of antimicrobial chemotherapy*. 2012. № 3 (67). P. 742–748.
3. Buonomo E.L., Petri W. A. The microbiota and immune response during *Clostridium difficile* infection // *Anaerobe*. 2016. (41). P. 79–84.
4. Dave M., Purohit T., Razonable R. *et al.* Opportunistic infections due to inflammatory bowel disease therapy // *Inflammatory Bowel Diseases*. 2014. № 1 (20). P. 196–212.
5. Пилиев Д.В., Ачкасов С.И., Корнева Т.К. и др. Антибиотико-ассоциированная диарея: современное состояние проблемы // *Российский Журнал Гастроэнтерологии Гепатологии Колопроктологии*. 2014. № 5. С. 54–61.
Piliyev D. V., Achkasov S. I., Korneva T. K., Sushkov O. I. Antibiotic-associated diarrhea: state-of-the-art. *Russian Journal of Gastroenterology, Hepatology, Coloproctology*. 2014, no.5, pp. 54–61.
6. MacLaren R., Reynolds P. M., Allen R. R. *et al.* Histamine-2 receptor antagonists vs proton pump Inhibitors on gastrointestinal tract hemorrhage and infectious complications in the intensive care unit // *JAMA Internal Medicine*. 2014. № 4 (174). P. 564–574.
7. Huang H., Wu S., Chen R. *et al.* Risk factors of *Clostridium difficile* infections among patients in a university hospital in Shanghai, China // *Anaerobe*. 2014. (30). P. 65–69.
8. Kato H., Kita H., Karasawa T. *et al.* Colonisation and transmission of *Clostridium difficile* in healthy individuals examined by PCR ribotyping and pulsed-field gel electrophoresis. // *Journal of medical microbiology*. 2001. № 8 (50). P. 720–727.
9. Perdigon G., Alvarez S. Probiotics and the immune state // *Probiotics*. Chapman and Hall / Ed. by R. Fuller. – London, 2003. – P. 146–176.
10. Perdigon G., Vintini E., Alvarez S. *et al.* Study of the possible mechanisms involved in the mucosal immune system activation by lactic acid bacteria // *J. Dairy Sci.* – 1999. – Vol. 82. – P. 1108–1114
11. Шелыгин Ю.А., Алёшкин В.А., Сухина М.А., Мионов А.Ю., Брико Н.И., Козлов Р.С., Зверев В.В., Ачкасов С.И., Ковалишина О.В., Селькова Е.П., Сафин А.Л., Гренкова Т.А., Халиф И.Л., Фролов С.А., Кашиников В.Н., Сушков О.И. Клинические рекомендации национальной Ассоциации специалистов по контролю инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, и общероссийской общественной некоммерческой организации «Ассоциация колопроктологов России» по диагностике, лечению и профилактике *Clostridium difficile*-ассоциированной диареи (CDI) // *Колопроктология*. 2018. № 3 (65). С. 7–23.
Shelygin Yu.A., Aleshkin V. A., Sukhina M. A. *et al.* Clinical recommendations of the national association of specialists for the healthcare-related infections control and the russian association of coloproctology on diagnosis, treatment and prophylaxis of *clostridium difficile*-associated diarrhea (cdi). *Koloproktologia*. 2018. № 3 (65). С. 7–23.
12. Clements A.C., Magalhães R. J.S., Tatem A. J. *et al.* *Clostridium difficile* PCR ribotype 027: assessing the risks of further worldwide spread // *The Lancet Infectious Diseases*. 2010. № 6 (10). P. 395–404.
13. Freeman J., Vernon J., Morris K. *et al.* Pan-European longitudinal surveillance of antibiotic resistance among prevalent *Clostridium difficile* ribotypes. // *Clinical microbiology and infection: the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 2015. № 3 (21). P. 248–256.
14. Guo S., Yan W., McDonough S.P. *et al.* The recombinant *Lactococcus lactis* oral vaccine induces protection against *C. difficile* spore challenge in a mouse model // *Vaccine*. 2015. № 13 (33). P. 1586–1595.
15. Rätsep M., Kõljalg S., Sepp E. *et al.* A combination of the probiotic and prebiotic product can prevent the germination of *Clostridium difficile* spores and infection // *Anaerobe*. 2017. (47). P. 94–103.
16. Surawicz C.M., Brandt L.J., Binion D. G. *et al.* Guidelines for diagnosis, treatment, and prevention of *Clostridium difficile* infections // *The American Journal of Gastroenterology*. 2013. № 4 (108). P. 478–498.