



DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-160-12-70-79

## Механизмы антибактериальной резистентности *Clostridium (clostridioides) difficile*

Сухина М. А.<sup>1</sup>, Макешова А. Б.<sup>2,3</sup>, Шельгин Ю. А.<sup>1,4</sup>, Кашников В. Н.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБУ «ГНЦК им. А.Н. Рыжих» Минздрава России, 123423 Москва, Россия, ул. Саляма Адила, 2

<sup>2</sup> Факультет повышения квалификации медицинских работников Российский университет дружбы народов, 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 21, корпус 3

<sup>3</sup> ГБУЗ городская поликлиника № 218 ДЗМ, филиал № 3 в Лосиноостровском районе, 1-я Напрудная улица, 15

<sup>4</sup> ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, 125993, г. Москва, Россия, ул. Баррикадная, д. 7/4, стр. 1

## Mechanisms of antibacterial resistance of *Clostridium (clostridioides) difficile* (review)

M. A. Sukhina<sup>1</sup>, A. B. Makesheva<sup>2,3</sup>, Yu. A. Shelygin<sup>1,4</sup>, V. N. Kashnikov<sup>1</sup>

<sup>1</sup> State Scientific Center of Coloproctology, 123423 Moscow, Russia, st. Salam Adil 2

<sup>2</sup> Faculty of advanced training of medical workers Peoples' Friendship University of Russia, 117198, Moscow, st. Miklukho-Maklaya, 21, 3

<sup>3</sup> City Polyclinic № 218 DZM, branch number 3 in Losinoostrovsky district, 1-ya Naprudnaya street, 15

<sup>4</sup> Federal state budgetary educational institution additional professional education Ministry of Health of Russia, 125993, Moscow, Russia, st. Barrikadnaya, d. 7/4, p. 1

**Для цитирования:** Сухина М. А., Макешова А. Б., Шельгин Ю. А., Кашников В. Н. Механизмы антибактериальной резистентности *Clostridium (clostridioides) difficile*. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2018;160(12): 70–79. DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-160-12-70-79

**For citation:** Sukhina M. A., Makesheva A. B., Shelygin Yu. A., Kashnikov V. N. Mechanisms of antibacterial resistance of *Clostridium (clostridioides) difficile* (review). *Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2018;160(12): 70–79. (In Russ.) DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-160-12-70-79

✉ **Corresponding author:**

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

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

**Макешова Айнура Бекболотовна**, главный гематолог ДЗ СВАО г. Москвы, врач-гематолог

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

**Кашников Владимир Николаевич**, заместитель директора по лечебной работе

**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*

**Ainura B. Makesheva**, MD, chief hematologist Department of Health of the North-Eastern District of Moscow, hematologist

**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*

**Vladimir N. Kashnikov**, MD, deputy director for clinical work, *Scopus Author ID 6506942235*

### Резюме

**Цель.** Изучить и объединить в одном обзоре современные данные о механизмах антибактериальной резистентности *Clostridium (Clostridioides) difficile*.

Существуют объективные данные о распространении резистентных к антибактериальным препаратам штаммов *Clostridium (Clostridioides) difficile*. Описаны механизмы резистентности бактерии, которые детерминируются генами резистентности, содержащимися в бактериальной хромосоме и/или метаболических путях. Распространение резистентности среди клинических штаммов *C. difficile* усугубляется способностью бактерий образовывать биопленки. Кроме того, являясь спорообразующей бактерией, *C. difficile* в споровой форме способна выдерживать

действие антибактериальных препаратов, а после прекращения антибактериальной терапии переходить в вегетативную форму, тем самым вызывая рецидив заболевания. Понимание механизмов резистентности *C. difficile* один из ключевых моментов в стратегии предотвращения развития заболевания. Помимо рационального использования антимикробных препаратов, необходим мониторинг распространения резистентности среди *C. difficile*. По нашему мнению, необходимо продолжать исследования, направленные на изучение механизмов резистентности к антибактериальным препаратам у *C. difficile* и разработку новых противомикробных средств, эффективных против этого патогена.

**Ключевые слова.** *Clostridium (Clostridioides) difficile*, *C. difficile*-ассоциированная инфекция, антибиотикорезистентность, механизмы резистентности к антибактериальным препаратам.

## Summary

**Aim of the review.** To study and consolidate recent data on *Clostridium (Clostridioides) difficile* antibacterial resistance mechanisms.

**Key points.** There is objective data about the spread of antimicrobial resistant *Clostridium (Clostridioides) difficile* strains. Mechanisms of antimicrobial resistance in bacteria determined by genetic resistance or metabolic pathways are described. Spread of antimicrobial resistance in clinically relevant *C. difficile* is aggravated by its ability to form biofilms. Moreover, being a spore-forming bacterium, *C. difficile* can resist microbicidal action staying in the form of spore. After antibiotic cessation *C. difficile* returns to vegetative state and causes recurrence of the disease. Understanding of *C. difficile* antibacterial resistance mechanisms is one of the key points in disease prevention strategy. Besides antibiotic stewardship, monitoring for the *C. difficile* antibacterial resistance spread is needed. We argue that the research on *C. difficile* antibacterial resistance and on the development of novel antibacterial agents effective against *C. difficile* must be continued.

**Key words:** *Clostridium (Clostridioides) difficile*, *C. difficile*-associated infection, antibiotic resistance, mechanisms of antibacterial resistance

## Введение

Ежегодно в Соединенных Штатах Америки регистрируется около 29000 смертей на 453000 заболевших *Clostridium difficile* – ассоциированной инфекцией (СДИ). Немногочисленные публикации по этой проблеме в России подтверждают ведущее значение *Clostridium (Clostridioides) difficile* в развитии антибиотикассоциированных диарей. По результатам локальных исследований проведенных в нашей стране частота встречаемости инфекции, обусловленной *C. difficile*, в многопрофильном стационаре города Иркутск за период 2008–2011 гг. по данным иммунохроматографического экспресс теста составила 28,7% [1]. А по результатам, многоцентрового проспективного исследования проведенного в 2017 году, распространенность СДИ среди пациентов в стационаре, составила 21,7% (скорректированный 95% доверительный интервал: 14,8%, 28,7%). При этом наблюдались выраженные различия между стационарами и группами пациентов, распределённых в соответствии с видом и профилем оказываемой медицинской помощи [2, 3]. Пациенты, с заболеваниями кишечника, а также онкологические, гематологические больные, в силу длительного нахождения в госпитальных условиях, имеющие нарушения целостности слизистой оболочки кишки относятся к группе риска по развитию клостридиальной инфекции. Проведение высокодозных курсов химиотерапии, трансплантации костного мозга, сопроводительная антибиотическая терапия, способствуют попаданию спор токсигенных

штаммов *C. difficile* на поврежденную слизистую оболочку кишечника и развитию клиники СДИ. Клиническая ситуация, у данной категории больных, осложняется развитием миелотоксических нейтропений, при которых клинические проявления инфицирования стерты. Следует отметить, что инфекционные осложнения у онкологических больных требуют частого назначения антибиотиков резерва (цефалоспорины III и IV поколений, фторхинолонов, ванкомицина и метронидазола), а при развитии диарейного синдрома изолируются штаммы *C. difficile* резистентные к применяемым антибактериальным препаратам. В данном обзоре мы постарались описать механизмы резистентности *C. difficile* к антибиотикам.

В последние годы в странах, где проводится мониторинг за СДИ, отмечается большая распространенность вспышек заболевания, высокая смертность среди таких пациентов и, как следствие, резкое увеличение расходов на лечение. Такое течение инфекции ассоциировано с *C. difficile* риботипа 027 [4, 5]. В настоящее время в отечественной клинической практике предпринимаются попытки профилактики развития СДИ различными группами антибактериальных препаратов. Однако результаты подобных протоколов сомнительны [6]. Чаще всего для лечения применяют метронидазол и ванкомицин. В зарубежной клинической практике для борьбы с этой инфекцией используется еще фидаксомицин, который в настоящее время недоступен для российских пациентов [7, 8, 9].

## Мониторинг резистентности к антибактериальным препаратам штаммов *C. difficile*

Антибиотикорезистентность *C. difficile* приводит к рецидивам инфекции и неудачам в лечении. Всемирная организация здравоохранения последнее десятилетие обеспокоена появлением панрезистентных штаммов *C. difficile* [10, 11, 12], определив для *C. difficile* высокий уровень опасности развития резистентности к антибиотикам [13–16]. Статистические данные мониторинга чувствительности *C. difficile* к антибактериальным препаратам за период с 2012 по 2015 годы, основанные на 30 исследованиях, демонстрируют высокий уровень резистентности к клиндамицину (от 8,3% до 100%), цефалоспорином (51%), эритромицину (от 13% до 100%) и фторхинолоном (47%) [13]. Среди цефалоспоринов особенно распространена резистентность к цефалоспорином второго (79%) (цефотетан, цефокситин) и третьего (38%) (цефтриаксон, цефотаксим) поколений. Среди фторхинолонов 99% резистентны к ципрофлоксацину и 34% штаммов к широкому спектру фторхинолонов (моксифлоксацин, гатифлоксацин) [13, 17]. За последние 15 лет в Северной Америке, Европе и Азии проводились многочисленные исследования по изучению резистентности к антибиотикам клинических изолятов *C. difficile*, в которых определялся широкий диапазон варьирования уровня резистентности к антибиотикам среди изолятов бактерий. Например, к моксифлоксацину резистентными были от 2% до 87%, а к клиндамицину от 15% до 97% штаммов *C. difficile* [18]. С частым использованием фторхинолонов связывают появление и глобальное распространение гипервирулентного штамма *C. difficile* 027/BI/NAPI [19, 13]. Другой гипервирулентный штамм *C. difficile* риботита 078, выделенный в Нидерландах от поросят и людей с клинической картиной СДИ был резистентен к ципрофлоксацину, эритромицину, имипенему и моксифлоксацину [20].

Метронидазол и ванкомицин остаются первой линией антибиотиков, используемых для лечения СДИ [21] и единственными препаратами, доступными в настоящее время на территории нашей страны. Последнее время появляются все больше сообщений о снижении чувствительности к этим антибиотикам в разных регионах мира [22, 23]. По данным общеевропейского исследования по изучению распространения резистентности к антибиотикам среди разных риботипов *C. difficile* 0,11% были резистентны к метронидазолу (с минимальной ингибирующей концентрацией (МИК) 8 г/мл) [24]. Данные мониторинга распространения резистентных к метронидазолу штаммов *C. difficile* в разных странах демонстрирует увеличение встречаемости таких изолятов. Так в Иране 5,3%, от тестированных в период с ноября 2010 года по октябрь 2011 года [22]; в Китае в период с июня 2012 года по сентябрь 2015 года выявили 15,6% штаммов *C. difficile*, и один нетоксичный изолят

имел МИК 256 г/мл [25]; в Израиле определено 18,3% (38/208) штаммов резистентных к метронидазолу (МИК 2 г/мл) [23], в США, за 2011 год, таких изолятов было 3,6% [15]. Исследования, проведенные в университетской больнице Мадрида, показали гетерорезистентность популяции *C. difficile* и наличие корреляции между гетерорезистентностью *C. difficile* и плохим клиническим исходом у пациентов [26]. Moura I. с соавторами обнаружили, что субингибирующие концентрации метронидазола можно использовать для отбора и культивирования токсигенных штаммов *C. difficile* [27].

Имеются сообщения и о *C. difficile* резистентных к ванкомицину. В исследовании Goudarzi M. с соавторами было выявлено 8,0% таких клинических изолятов [28]. А по данным исследований, проведенных в Израиле частота резистентных к ванкомицину штаммов *C. difficile* достигла 47%, среди которых 57 изолятов риботипа 027 [23]. Исследование по эпиднадзору проведенное в Европе показало, что 2,29% штаммов *C. difficile* имели промежуточную чувствительность к ванкомицину согласно критериям EUCAST с МИК 4 мг/л в Чешской Республике, Ирландии, Латвии и Польше; 0,87% штаммов с МИК 8 мг/л в Италии и Испании [24], в США было обнаружено 17,9% изолятов *C. difficile* устойчивых к ванкомицину [15]. Помимо метронидазола и ванкомицина *C. difficile* формирует устойчивость к другим антибиотикам: рифамицину, фидаксомицину, тетрациклину и хлорамфениколу. В пан-европейском исследовании резистентности *C. difficile* к антибактериальным препаратам были выявлены резистентные к рифампину штаммы клинических изолятов *C. difficile*, в 17-ти из 22-х участвующих в исследовании стран процент резистентных штаммов составил более 57% (МИК 16 г/мл) [24], резистентные к рифампину штаммы определялись и на территории Азии [29, 30]. Проблема резистентности к рифампину менее выражена в Северной Америке, только 7,9% из 316 тестированных клинических изолятов *C. difficile* были резистентны к рифампину (МИК  $\geq 32$  г/мл) [18]. Несмотря на то, что в мире еще не обнаружены штаммы *C. difficile* резистентные к фидаксомицину, повсеместное и частое использование этого препарата может привести к появлению резистентных мутантов [31]. Имеются данные только об одном штамме *C. difficile*, изолированном из фекалий от пациента с рецидивом СДИ, резистентном к фидаксомицину (МИК 16 г/мл) [32]. Все чаще появляются сообщения об устойчивых к тетрациклину штаммах *C. difficile* (от 2,4% до 41,67%) [12], что ограничивает возможность использования тигециклина в качестве альтернативного антибиотика для лечения тяжелой и рецидивирующей СДИ [33]. Крайне редко в Европе встречаются изоляты *C. difficile* резистентные к хлорамфениколу (3,7%) (МИК 32 г/мл) [24].

## Механизмы резистентности *Clostridium difficile*

В ходе эволюции *C. difficile* выработала множество механизмов резистентности к антибактериальным препаратам, которые детерминируются генами резистентности, содержащимися в бактериальной хромосоме и /или метаболическими путями *C. difficile*, а также способностью бактерии образовывать биопленки.

Проведенный анализ генома 630 штаммов *C. difficile* выявили гены, кодирующие β-лактамаз-подобные белки и пенициллин-связывающие белки (РВР), оба из которых определяют устойчивость к лактамным антибиотикам, таким как пенициллин и цефалоспорины [13]. Конъюгация, трансдукция и/или трансформация мобильных генетических элементов (МГЕ), особенно транспозонов среди *C. difficile*, а также между ней и другими бактериальными видами, являются важным механизмом приобретения генов устойчивости к противомикробным препаратам [13]. Большая часть генома *C. difficile* (приблизительно 11%) состоит из МГЕ. Устойчивость к антибиотикам группы MLSB (макролид-линкозамид-стрептомицин В) у *C. difficile* опосредуется по меньшей мере четырьмя видами транспозонов, включая Tn5398, Tn5398-подобные производные, Tn6194 и Tn6215. Транспозоны могут быть посредниками в передаче гена ermB, который кодирует 23S РНК-метилазу и индуцирует устойчивость к семейству антибиотиков MLSB, включая клиндамицин и эритромицин. Tn5398 и Tn6215 может интегрировать геном *C. difficile* через обмен больших геномных фрагментов [13, 34], а Tn5398 интегрируется в реципиентную хромосому либо путем гомологичной рекомбинации или с использованием специфичной для сайта рекомбинации реципиента. В различных исследованиях было показано, что этот элемент способен переходить от *C. difficile* к *Staphylococcus aureus* и к *Bacillus subtilis*. Tn6215 может быть перенесен в клетки-реципиента с помощью конъюгационно-подобного механизма, но также может быть трансдуцирован фагом phiC2. Tn6194, вероятно, интегрируется в геном *C. difficile* на разных участках и способен передаваться между штаммами *C. difficile* и от них к *Enterococcus faecalis* [35, 36]. Помимо этих четырех транспозонов, новый T-916-подобный транспозон, аналогичный Tn6218, также задействован в резистентности к антибиотикам MLSB *C. difficile*, он участвует в переносе гена устойчивости к хлорамфениколу-фторфениколу (cfr) [11], который кодирует РНК-метилтрансферазы, описана их роль в формировании резистентности к антибиотикам MLSB, при отсутствии гена erm [13]. Кроме того, cfr обеспечивает устойчивость к линезолиду, линкозамидам, оксазолидинонам [37].

Считается, что устойчивость к тетрациклину у *C. difficile* связана с транспозонами Tn5397, Tn6164, Tn916 или Tn916-подобным семейством. Эти элементы используются бактерией для переноса tet-класса генов, включая tet (M), tet (44) и tet (W) [13]. Предполагается, что *C. difficile* приобретает

ген tet (M) посредством генетического переноса от некоторых других бактерий, содержащих tet (M), таких как *Bifidobacterium longum* [38]. Наличие Tn6164, вероятно, коррелирует с более высокой вирулентностью у штаммов RT078 [13]. Транспозоны также участвуют в устойчивости к хлорамфениколу. Два мобильных транспозона Tn4453a и Tn4453b переносят ген catP, кодирующий фермент хлорамфениколацетилтрансферазу, ответственную за резистентность к хлорамфениколу [24, 39].

Изменения в мишенях антибиотиков и / или в метаболических путях у *C. difficile* представляют собой еще один механизм, опосредующий устойчивость к антибактериальным препаратам. Необходимо отметить, что этот механизм, как предполагают, отвечает за устойчивость к метронидазолу и ванкомицину у *C. difficile*, хотя точный механизм его до настоящего времени полностью не описан [13, 40]. Накопленные данные свидетельствуют о том, что резистентность к метронидазолу, вероятно, определяется еще и изменениями в метаболических путях связанных с активностью нитроредуктаз, поглощением железа и восстановлением ДНК [41, 42], тогда как устойчивость к ванкомицину определяется изменениями аминокислот белков связанных с биосинтезом пептидогликана, таких как MurG [31]. Помимо генетических детерминант резистентности, крайне важная роль принадлежит селективному воздействию антибиотиков на бактерию. Так, селективное воздействие *in vivo* при использовании рифамицина в виде альтернативных методов лечения СДИ способно опосредовать мутации в субъединице гена groB, который кодирует бактериальную РНК-полимеразу [34], что приводит к развитию резистентности *C. difficile* к фидаксомицину [31]. Аналогичный механизм обеспечивает развитие резистентности к фузидиновой кислоте, устойчивые штаммы *C. difficile* несут мутации fusA. Воздействие *in vivo* стимулирует формирование устойчивости к фторхинолонам, если концентрация фторхинолонов не способна ингибировать рост *C. difficile*, патоген может приобретать аминокислотные замены, находящиеся в двух субъединицах ДНК-гиразы, GyrA и/или GyrB [13].

Формирование биопленки бактериями еще один важный фактор, способствующий развитию резистентности к антибиотикам у *C. difficile* [43]. Образование биопленки *C. difficile* в основном обусловлено внутренними механизмами, такими как Cwp84, жгутики и LuxS, а присутствие антибиотиков в окружающей среде оказывает стимулирующее действие на образование биопленки и повышает устойчивость к антибиотикам от 10 до 1000 раз по сравнению с планктонной формой [43, 44]. Механизмы резистентности и мишени воздействия антибиотика на бактериальную клетку представлены в таблице 1. Остановимся более подробно на механизмах резистентности *C. difficile* к группам антибактериальных препаратов значимых для терапии СДИ.

### Метронидазол

Метронидазол является давно признанным эффективным противомикробным средством против многих анаэробных бактериальных патогенов. Препарат проникает в клетку в качестве пролекарства пассивной диффузией и активируется в цитоплазме бактерий. Молекула метронидазола преобразуется в токсичный короткоживущий нитрозо-свободный радикал путем внутриклеточного восстановления, который включает перенос электрона на нитрогруппу препарата. Фактический механизм действия не полностью выяснен, но включает торможение синтеза ДНК и его повреждения путем окисления, вызывая разрывы, которые приводят к деградации ДНК и гибели клеток [30]. Существует несколько важных восстановительных систем для активации метронидазола, наиболее важная система пируват-ферредоксин /

флаводоксин-оксидоредуктаза (PFOP) [10]. У резистентных штаммов *C. difficile* не был описан ген *nimA-J* [27, 45], который кодирует восстановление нитрогруппы нитроимидазолов в малоактивную аминогруппу [46]. Были описаны мутации в регуляторе поглощения железа (*mex*), мутации в предполагаемом нитроредуктазном гене (штамм RT027), мутации в корпорационогене III оксидазы (*hemN*) [10]. В последующих исследованиях RT027 не было получено доказательств участия мутаций в системе PFOP [47], не было обнаружено никаких мутаций в *hemN*, *fur* или *nim*, но наблюдалось отсутствие ферритина у резистентного изолята при воздействии на него метронидазолом. В результате авторами было высказано предположение о дефицитном хранилище железа [27].

### Ванкомицин

Ванкомицин вызывает ингибирование синтеза клеточной стенки. Он связывается с C-концевым дипептидом, D-аланил-D-аланином, NAM-пентапептидом предшественниками пептидогликана (PG) во время синтеза PG, предотвращая транспептидирующие (сшивающие) реакции между соседними пептидными боковыми цепями пептидогликана смежных штаммов. Приобретенная устойчивость к ванкомицину хорошо изучена у *Staphylococcus aureus* и *Enterococcus spp.* и является результатом экспрессии одного из 9 кластеров *van*-генов, которые кодируют ферменты лигазы, модифицирующие терминальный D-ala-D-ala предшественник PG. Устойчивость к ванкомицину контролируется 2-х компонентной

регуляторной системой (*VanSR*). В результате многих исследований было показано, что *C. difficile* обладает гомогеном *vanG* [47, 42, 48] в своем геноме (*vanGCd*), ответственном за устойчивость к ванкомицину, при этом индуцируется ванкомицином, но не способствует устойчивости *C. difficile* к ванкомицину. Когда *vanGCd* клонировали у штамма *Escherichia coli*, чувствительного к ванкомицину, он приобрел устойчивость, в этом исследовании было доказано, что существует некоторый механизм у *C. difficile*, который предотвращает экспрессию устойчивости к ванкомицину. Практически все штаммы *C. difficile* чувствительны к ванкомицину, хотя в последние годы стали появляться сообщения об изолятах, резистентных к ванкомицину [47].

### Эритромицин

Ингибирует синтез белка у бактерий путем связывания 50S-рибосомной субъединицы и ухудшает цикл удлинения, предотвращая движение рибосомы вдоль мРНК. *C. difficile* может быть устойчива к эритромицину через экспрессию *erm* (B) [42, 47] или *erm* (FS) [47], метилирование 23S рРНК (*erm* (B),

мутации в 23S рДНК. У *C. difficile* имеется 17 различных генетических организаций *erm* (B) (E1-E17) [16]. Определенная роль в развитии резистентности отводится и обратному эффлюксу [49]. Подобно клиндамицину, резистентность к эритромицину характеризуется МИК  $\geq 8$  мг/л (CLSI).

### Клиндамицин

Клиндамицин-резистентная *C. difficile* (МИК от 16 до  $> 256$  мг/л) часто содержит эритромицин рибосомную метилазу B, кодируемую *erm* (B), которая располагается на мобильных генетических элементах. Ген *erm* (B) обеспечивает устойчивость к клиндамицину посредством метилирования бактериальной 23S-рРНК и, следовательно, предотвращает связывание с лекарственным препаратом и ингибирует его активность. Однако есть сообщения

о клиндамицин-резистентных штаммах, не содержащих *erm* (B) и чувствительных к клиндамицину изолятах *C. difficile*, содержащих *erm* (B) [47]. Таким образом, у *C. difficile* могут присутствовать альтернативные механизмы устойчивости, такие как *erm* (B) – зависимое метилирование 23S рРНК [16], или другие неидентифицированные механизмы резистентности [25].

### Тетрациклин

Это семейство противомикробных препаратов считается низким риском для возникновения СДИ, несмотря на их широкие спектры активности в отношении грампозитивных, грамотрицательных и антианаэробных микроорганизмов. Действие тетрациклина направлено на ингибирование синтеза белка, предотвращение присоединения аминоацил-тРНК к сайту рибосомного акцептора [50]. Тетрациклиновая резистентность у *C. difficile* была

зарегистрирована более 30 лет назад [50, 51], так же как и у других видов бактерий [52]. Согласно критериям по интерпретации результатов тестирования микроорганизмов к антибиотикам института клинических и лабораторных стандартов (Clinical and Laboratory Standards Institute – CLSI) эпидемиологическая точка устойчивости к тетрациклину составляет  $\geq 16$  мг/л, а получение окончательных МИК зависит от используемых методов

тестирования антибиотикорезистентности. У *C. difficile* устойчивость к тетрациклину чаще всего проявляется в результате активации *tetM*, но может быть обусловлено и *tetW* [53, 54]. Оба *tetM* и *tetW* представляют собой цитоплазматические белки с гомологией к факторам удлинения (EF-Tu and EF-G), которые защищают рибосомы от действия

### Рифамицины

Рифамицины (рифампицин и рифаксимин) были использованы для лечения СДИ из-за очень низких МИК для *C. difficile*. Препараты действуют на бактериальную ДНК-зависимую РНК-полимеразу. В исследовании 80 клинических изолятов *C. difficile* O'Connor J.R. с соавторами наблюдали семь замещений про (В) (14 штаммов *C. difficile*): Arg505-Lys, His502-Asn, -Tyr, -Arg, Ser488-Thr, Asp492-Asn и Iso548-Met; некоторые из них осуществлялись в одном и том же месте, и были связаны с МИК > 256 мг/л [57]. Существует бимодальное распределение МИК рифампицина у *C. difficile*, как правило, с результатами ≤ 0.016 мг/л и > 256 мг/л [58].

### Линезолид

Является оксазолидиноном, который активен против грамположительных бактерий за счет ингибирования синтеза белка путем воздействия на бактериальную 23S рРНК [60]. Линезолид в настоящее время не используется для лечения СДИ, хотя и обладает хорошей активностью против *C. difficile* [61–63] и ингибирует продукцию цитотоксина в комплексе *in vitro* моделей СДИ [61]. Хотя большинство штаммов *C. difficile* ингибируются линезолидом при низких концентрациях (> 4 мг/л), имеются сообщения о спорадических изолятах

### Фторхинолоны

Синтетические производные налиптиновой молекулы налидиксовой кислоты были разработаны для увеличения ингибирования молекул-мишеней и расширения спектра противомикробных препаратов [47]. Устойчивость к фторхинолонам хорошо изучена для *C. difficile*, и опосредуется как правило, изменениями в структуре мишени посредством нуклеотидных замещений (*gyrA* и / или *gyrB*) [16, 65–69] в области определения резистентности к хинолону (QRDR) субъединиц ДНК-гиразы, а роль эффлюкса для резистентности *C. difficile* неясна [16]. Замена Thr82-Ile *gyrA* у клинических штаммов была приобретена в 1990–2000-е годы, когда использование фторхинолона было повсеместным [70]. Получение устойчивости к фторхинолонам было определяющим моментом эволюции и распространения двух линий штамма RT027 [47]. Резистентные к моксифлоксацину изоляты имеют мутации, приводящие к замещению аминокислоты в *gyrA* and/or *gyrB*. Кроме того, резистентные к моксифлоксацину

### Фидаксимицин

Это 18-членный макроциклический антибиотик, с узким спектром действия, направленным на грампозитивные бактерии, включая *C. difficile*, механизм действия которого осуществляется путем ингибирования синтеза бактериальных белков через торможение транскрипции, которая опирается на

тетрациклинов за счет снижения их чувствительности к антимикробным препаратам [52]. Гены *tetC. difficile* переносятся на транспозоны, связанные с Tn916 [52, 50], Tn5397 [55, 56], Tn6190 [56], Tn6235 [53]. Все штаммы, устойчивые к тетрациклину, содержали T-916-подобный транспозон, несущий ген *tet (M)* [25, 47].

В работах Spigaglia P. с соавторами [13] наблюдались мутации в β-субъединице РНК-полимеразы, кодируемые про (В) (1 или 2 замены); в частности His502-Asn и Arg505-Lys (92% устойчивых штаммов), только Arg505-Lys (6% устойчивых изолятов) или His502-Asn (2% изолятов) [16]. Мутации в гене про (В) между положениями 488–548 могут либо нарушать прямое взаимодействие между рифамицинами и RpoB, либо модифицировать плазмиды, связывающие рифамицин, и, следовательно, уменьшать сродство мишени к антимикробным препаратам [16, 59, 47].

с МИК 8–16 мг/л [61, 64]. Vaines и коллеги наблюдали два штамма *C. difficile* (RT023 и RT067) с МИК 8 мг/л при исследовании 118 изолятов *C. difficile* [61]. В исследовании 891 клинического изолята токсигенной *C. difficile* получили 9 изолятов с повышенными МИК (6–16 мг/л, RT001 (2/9), RT017 (6/9) и RT078 (1/9)) у 7 изолятах был идентифицирован ген *cfg* на Tn6218, который кодирует rRNA метилтрансферазу, но у двух изолятов RT001 ген *cfg* отсутствовал [64, 47].

штаммы *C. difficile* могут обладать двумя одновременными заменами в гене *gyrA* или с одновременной мутацией как в *gyrA*, так и *gyrB* [71, 42], но нет сообщений о множественных одновременных мутациях в обоих генах субъединицы гиразы. Thr82-Ile является наиболее распространенной заменой *gyrA*, но были зарегистрированы и мутации Asp71-Glu, Pro116-Ala, Ala118-Ser и Thr82-Ala [16, 54, 71–74]. Мутации в *gyrB* могут включать Asp426-Val, Asp426-Asn, Glu466-Val, Ser366-Ala, Leu444-Phe [71, 75, 16, 66, 72]. Концентрация антибиотика для резистентных штаммов *C. difficile* составляет МИК ≥8 мг/л (EUCAST). Повышенная устойчивость к моксифлоксацину обычно характеризуется МИК ≥32 мг/л, с более низким уровнем резистентности (МИК 8–16 мг/л); доказана связь специфических мутаций в субъединицах ДНК-гиразы с уровнем резистентности [72]collecting 411 isolates. Eighty-three of these isolates, showing resistance or intermediate resistance to moxifloxacin (MX).

сигму субъединицы РНК-полимеразы. Фидаксимицин обладает бактерицидным действием, плохо абсорбируется после перорального введения и нацелен на бактериальную РНК-полимеразу на участке, отличном от действия рифамицинов [45]. Фидаксимицин очень активен против *C. difficile*,

**Таблица 1.**  
Используемые антибактериальные препараты и новые антибиотики для лечения пациентов с *C. difficile* – ассоциированной инфекцией

Антибиотик	Мишень	Предполагаемый механизм сопротивления	Ссылки
Метронидазол	Бактериальная ДНК, вызывает разрушение ДНК и дестабилизацию спирали ДНК	Изменения в некоторых метаболических путях, формирование биопленки	[18, 41, 78, 79, 80, 81]
Ванкомицин	D-Ala-D-Ala субъединицы предшественника UDP-N-ацетилмурамил пентапептид пептидогликана	Мутации в пептидогликане необходимые для биосинтеза белка, формирование биопленки	[31]
Фидаксомицин	Бактериальная РНК-полимераза	Мутации в groV	[31]
Рифамицины	$\beta$ -субъединица ДНК-зависимой РНК-полимеразы	Мутации в groV	[57]
Рамопланин	Ингибирование биосинтеза пептидогликана	Нет сообщений	
Фузидиновая кислота	Ингибирование синтеза белка путем связывания фактора удлинения G на рибосоме	Мутации в fusA	[82, 47]
Нитазоксанид	Пируват, ферредоксин-оксидоредуктаза	Нет сообщений	Нет
Тигициклин	30S рибосомная субъединица	Нет сообщений	Нет
Кадазолид	Синтез бактериального белка и синтез ДНК	Ингибирует трансляцию <i>in vitro</i> в CFTA. Ингибирует продукцию токсинов даже при более низкой концентрации (0,25xMIC) и максимальной эффективности при концентрации 1x и 4xMIC	[47]
Surotomycin	Нарушение мембранного потенциала	Нет сообщений	Нет
Ridinilazole (SMT19969)	Ингибирует синтез ДНК	Нет сообщений	Нет
CRS3123 (REP3123)	Ингибитор метионил-тРНК-синтазы (MetRS)	Нет сообщений	Нет

при этом МИК обычно составляет 0,02–0,25 мг/л [76, 32]. В мире встречаются редкие сообщения о снижении чувствительности штаммов *C. difficile* к фидаксомицину (МИК 2–4 мг/л) или появлении резистентных изолятов (МИК 16 мг/л) [32]. В исследованиях по изучению действия субингибирующих концентраций фидаксомицина в более чем 10-ти последовательных разведениях *C. difficile* для характеристики механизмов резистентности, было продемонстрировано замещение нуклеотида Glu-Arg в положении 1073 в gro (B) или мутация

в CD22120 (a marR гомолог), в результате определена МИК фидаксомицина 4 мг/л [32, 76]. Значения МИК<sub>90</sub> для клинических изолятов *C. difficile* обычно находятся в диапазоне 0,008–0,25 мг/л, что на три порядка ниже, чем концентрация в кишечнике человека. Кроме того, фидаксомицин является бактерицидным для *C. difficile*, через 24 часа уменьшает количество жизнеспособных клеток с 3 log<sub>10</sub>, а также имеет длительный (24 ч) пост-антибактериальный эффект, не оказывает негативного влияния на ауhtonную микробиоту кишечника [47, 77, 45].

## Заключение

Использование противомикробных средств – это обоюдоострый меч с точки зрения возникновения СДИ. Инфекции, вызванные *C. difficile*, уникальны так как их заболеваемость увеличивается с ростом использования определенных антибиотиков; но для терапии этой инфекции применяются другие антибактериальные препараты, активные против *C. difficile*. В данный момент доступные антибиотики для лечения СДИ становятся ограниченными из-за роста устойчивости среди *C. difficile*. Понимание

механизмов резистентности *C. difficile* один из ключевых моментов в стратегии предотвращения развития заболевания. В дополнение к рациональному использованию антимикробных препаратов, необходимо контролировать уровень резистентных штаммов *C. difficile*. Необходимо продолжать исследования по изучению механизмов резистентности к антибактериальным препаратам у *C. difficile* наряду с разработкой новых противомикробных средства, эффективных против этого патогена.

## Литература | References

1. Муляр, Н. Ф., Верещагина, С. А., Fadeeva, T. V. и соавт. Clostridium difficile-ассоциированные диареи в многопрофильном стационаре //Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра Сибирского отделения Российской академии медицинских наук.– 2012.– № 5–1 (87).– 72–75.

- Mulyar N. F., Vereschagina S. A., Fadeeva T. V., et al. Clostridium difficile associated diarrhea in multidisciplinary hospital. Acta biomedica scientifica. 2012, no. 5–1 (87), pp. 72–75.

2. Дмитриева Н. В., Клясова Г. А., Бакулина Н. В., и соавт. Распространенность *Clostridium difficile*-ассоциированной диареи у госпитализированных больных (Результаты Российского проспективного многоцентрового исследования). //Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия.– 2017.– Т. 19.– № 4.– С. 268–274.  
*Dmitrieva N. V., Klyasova G. A., Bakulina N. V., et al.* A prevalence of *Clostridium difficile*-associated diarrhea in hospitalized patients (results of a Russian prospective multicenter study). *Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy (СМАС)*. 2017;19(4):268–274.
3. Сафин А. Л., Ачкасов С. И., Сухина М. А., Сушков О. И. Факторы риска развития диареи, ассоциированной с *Clostridium difficile*, у колопроктологических больных (обзор литературы) //Колопроктология.– 2017.– № 1.– С. 59–67.  
*Safin A. L., Achkasov S. I., Sukhina M. A., Sushkov O. I.* Risk factors for diarrhea associated with *clostridium difficile*, in coloproctological patients (review). *Kolo-proktologia*. 2017, no. 1, pp. 59–67.
4. Kwon J. H., Olsen M. A., Dubberke E. R. The morbidity, mortality, and costs associated with *Clostridium difficile* infection //Infectious disease clinics of North America.– 2015.– Т. 29.– № 1.– С. 123–134.
5. McGlone, S. M., Bailey, R. R., Zimmer, S. et al. The economic burden of *Clostridium difficile* //Clinical Microbiology and Infection.– 2012.– Т. 18.– № 3.– С. 282–289.
6. Киргизов К. И., Шульга С. Ю., Пристанскова Е. А. и соавт. Энтероколит, связанный с *Clostridium difficile*, в детской гематологии-онкологии-решенная проблема? Обзор литературы и собственный опыт // Российский журнал детской гематологии и онкологии.– 2014.– № 1.  
*Kirgizov K. I., Shulga S. Y., Pristanskova Y. A., Konstantinova V. V., Gerasimova Y. V., Sidorova N. V., Blagoravova O. L., Fedorova N. I., Skorobogatova Y. V.* Is *Clostridium difficile*-associated enterocolitis in pediatric hematology/oncology a solved problem? A review of literature and the authors' experience. *Russian Journal of Pediatric Hematology and Oncology*. 2014;(1):25–31. (In Russ.) <https://doi.org/10.17650/2311-1267-2014-0-1-25-31>
7. O'Connor, J. R., Galang, M. A., Sambol, S. P. et al. Rifampin and rifaximin resistance in clinical isolates of *Clostridium difficile* //Antimicrobial agents and chemotherapy.– 2008.– Т. 52.– № 8.– С. 2813–2817.
8. Bagdasarian N., Rao K., Malani P. N. Diagnosis and treatment of *Clostridium difficile* in adults: a systematic review //Jama.– 2015.– Т. 313.– № 4.– С. 398–408.
9. Spigaglia, P., Barbanti, F., Mastrantonio, P. et al. Multi-drug resistance in European *Clostridium difficile* clinical isolates //Journal of antimicrobial chemotherapy.– 2011.– Т. 66.– № 10.– С. 2227–2234.
10. Lynch, T., Chong, P., Zhang, J. et al. Characterization of a stable, metronidazole-resistant *Clostridium difficile* clinical isolate //PLoS One.– 2013.– Т. 8.– № 1.– С. e53757.
11. Dingle, K. E., Elliott, B., Robinson, E. et al. Evolutionary history of the *Clostridium difficile* pathogenicity locus // Genome biology and evolution.– 2013.– Т. 6.– № 1.– С. 36–52.
12. Linkevicius M., Sandegren L., Andersson D. I. Potential of tetracycline resistance proteins to evolve tigecycline resistance //Antimicrobial agents and chemotherapy.– 2016.– Т. 60.– № 2.– С. 789–796.
13. Spigaglia, P., Barbanti, F., Mastrantonio, P. et al. Fluoroquinolone resistance in *Clostridium difficile* isolates from a prospective study of *C. difficile* infections in Europe //Journal of medical microbiology.– 2008.– Т. 57.– № 6.– С. 784–789.
14. Freeman, J., Baines, S. D., Jabes, D. et al. Comparison of the efficacy of ramoplanin and vancomycin in both in vitro and in vivo models of clindamycin-induced *Clostridium difficile* infection //Journal of Antimicrobial Chemotherapy.– 2005.– Т. 56.– № 4.– С. 717–725.
15. Shen J., Wang Y., Schwarz S. Presence and dissemination of the multiresistance gene *cfr* in Gram-positive and Gram-negative bacteria //Journal of Antimicrobial Chemotherapy.– 2013.– Т. 68.– № 8.– С. 1697–1706.
16. Snyderman, D. R., McDermott, L. A., Jacobus, N. V. et al. US-based national sentinel surveillance study for the epidemiology of *Clostridium difficile*-associated diarrheal isolates and their susceptibility to fidaxomicin // Antimicrobial agents and chemotherapy.– 2015.– Т. 59.– № 10.– С. 6437–6443.
17. Peltier, J., Courtin, P., El Meouche, I. et al. Genomic and expression analysis of the *vanG*-like gene cluster of *Clostridium difficile* //Microbiology.– 2013.– Т. 159.– № 7.– С. 1510–1520.
18. Spigaglia P. Recent advances in the understanding of antibiotic resistance in *Clostridium difficile* infection // Therapeutic advances in infectious disease.– 2016.– Т. 3.– № 1.– С. 23–42.
19. He, M., Miyajima, F., Roberts, P. et al. Emergence and global spread of epidemic healthcare-associated *Clostridium difficile* //Nature genetics.– 2013.– Т. 45.– № 1.– С. 109.
20. Keessen, E. C., Hensgens, M. P., Spigaglia, P. et al. Antimicrobial susceptibility profiles of human and piglet *Clostridium difficile* PCR-ribotype 078 //Antimicrobial resistance and infection control.– 2013.– Т. 2.– № 1.– С. 14.
21. Cohen, S. H., Gerding, D. N., Johnson, S. et al. Clinical practice guidelines for *Clostridium difficile* infection in adults: 2010 update by the society for healthcare epidemiology of America (SHEA) and the infectious diseases society of America (IDSA) //Infection Control & Hospital Epidemiology.– 2010.– Т. 31.– № 5.– С. 431–455.
22. Goudarzi, M., Goudarzi, H., Alebouyeh, M. et al. Antimicrobial susceptibility of *Clostridium difficile* clinical isolates in Iran //Iranian Red Crescent Medical Journal.– 2013.– Т. 15.– № 8.– С. 704.
23. Adler, A., Miller-Roll, T., Bradenstein, R et al. A national survey of the molecular epidemiology of *Clostridium difficile* in Israel: the dissemination of the ribotype 027 strain with reduced susceptibility to vancomycin and metronidazole //Diagnostic microbiology and infectious disease.– 2015.– Т. 83.– № 1.– С. 21–24.
24. Freeman, J., Vernon, J., Morris, K. et al. Pan-European longitudinal surveillance of antibiotic resistance among prevalent *Clostridium difficile* ribotypes //Clinical Microbiology and Infection.– 2015.– Т. 21.– № 3.– С. 248.e9–248.e16.
25. Jin, D., Luo, Y., Huang, C. et al. Molecular epidemiology of *Clostridium difficile* infection in hospitalized patients in Eastern China //Journal of clinical microbiology.– 2017.– Т. 55.– № 3.– С. 801–810.
26. Ofosu A. *Clostridium difficile* infection: a review of current and emerging therapies //Annals of Gastroenterology: Quarterly Publication of the Hellenic Society of Gastroenterology.– 2016.– Т. 29.– № 2.– С. 147.
27. Moura, I., Spigaglia, P., Barbanti, F., Mastrantonio, P. Analysis of metronidazole susceptibility in different *Clostridium difficile* PCR ribotypes //Journal of

- Antimicrobial Chemotherapy.– 2012.– Т. 68.– № 2.– С. 362–365.
28. Goudarzi, M., Goudarzi, H., Alebouyeh, M. et al. Antimicrobial susceptibility of *Clostridium difficile* clinical isolates in Iran //Iranian Red Crescent Medical Journal.– 2013.– Т. 15.– № 8.– С. 704.
  29. Peng, Z., Jin, D., Kim, H. B. et al. Update on antimicrobial resistance in *Clostridium difficile*: resistance mechanisms and antimicrobial susceptibility testing // Journal of clinical microbiology.– 2017.– Т. 55.– № 7.– С. 1998–2008.
  30. Cheng, J. W., Xiao, M., Kudinha, T., et al. Molecular epidemiology and antimicrobial susceptibility of *Clostridium difficile* isolates from a university teaching hospital in China //Frontiers in microbiology.– 2016.– Т. 7.– С. 1621.
  31. Leeds, J. A., Sachdeva, M., Mullin, S. et al. In vitro selection, via serial passage, of *Clostridium difficile* mutants with reduced susceptibility to fidaxomicin or vancomycin //Journal of Antimicrobial Chemotherapy.– 2013.– Т. 69.– № 1.– С. 41–44.
  32. Goldstein E. J. C., Babakhani F., Citron D. M. Antimicrobial activities of fidaxomicin //Clinical infectious diseases.– 2012.– Т. 55.– № suppl\_2.– С. S143–S148.
  33. Kelly C. P., LaMont J. T. *Clostridium difficile* infection // Annual review of medicine.– 1998.– Т. 49.– № 1.– С. 375–390.
  34. Cohen, S. H., Gerding, D. N., Johnson, S. et al. Clinical practice guidelines for *Clostridium difficile* infection in adults: 2010 update by the society for healthcare epidemiology of America (SHEA) and the infectious diseases society of America (IDSA) //Infection Control & Hospital Epidemiology.– 2010.– Т. 31.– № 5.– С. 431–455.
  35. Walkty, A., Boyd, D. A., Gravel, D. et al. Molecular characterization of moxifloxacin resistance from Canadian *Clostridium difficile* clinical isolates //Diagnostic microbiology and infectious disease.– 2010.– Т. 66.– № 4.– С. 419–424.
  36. Wasels, F., Spigaglia, P., Barbanti, F., & Mastrantonio, P. *Clostridium difficile* erm (B)-containing elements and the burden on the in vitro fitness //Journal of medical microbiology.– 2013.– Т. 62.– № 9.– С. 1461–1467.
  37. Rineh, A., Kelso, M. J., Vatanserver, F. et al. *Clostridium difficile* infection: molecular pathogenesis and novel therapeutics //Expert review of anti-infective therapy.– 2014.– Т. 12.– № 1.– С. 131–150.
  38. Fry P. R., Thakur S., Gebreyes W. A. Antimicrobial resistance, toxinotype and genotypic profiling of *Clostridium difficile* of swine origin //Journal of clinical microbiology.– 2012.– С. JCM. 06581–11.
  39. Kali A., Charles M. V. P., Srirangaraj S. Cadazolid: a new hope in the treatment of *Clostridium difficile* infection // The Australasian medical journal.– 2015.– Т. 8.– № 8.– С. 253.
  40. Norén, T., Alriksson, I., Åkerlund, T. et al. In vitro susceptibility to 17 antimicrobials of clinical *Clostridium difficile* isolates collected in 1993–2007 in Sweden // Clinical Microbiology and Infection.– 2010.– Т. 16.– № 8.– С. 1104–1110.
  41. Chong, P. M., Lynch, T., McCorrister, S. et al. Proteomic analysis of a NAP1 *Clostridium difficile* clinical isolate resistant to metronidazole //PloS one.– 2014.– Т. 9.– № 1.– С. e82622.
  42. Peng, Z., Addisu, A., Alrabaa, S., Sun, X. Antibiotic resistance and toxin production of *Clostridium difficile* isolates from the hospitalized patients in a large hospital in Florida //Frontiers in microbiology.– 2017.– Т. 8.
  43. Dapa, T., Leuzzi, R., Ng, Y. K. et al. Multiple factors modulate biofilm formation by the anaerobic pathogen *Clostridium difficile* //Journal of bacteriology.– 2013.– Т. 195.– № 3.– С. 545–555.
  44. Tyrrell, K. L., Citron, D. M., Warren, Y. A. et al. In vitro activities of daptomycin, vancomycin, and penicillin against *Clostridium difficile*, *C. perfringens*, *Finego-ldia magna*, and *Propionibacterium acnes* //Antimicrobial agents and chemotherapy.– 2006.– Т. 50.– № 8.– С. 2728–2731.
  45. Moura, I., Monot, M., Tani, C. et al. Multidisciplinary analysis of a nontoxigenic *Clostridium difficile* strain with stable resistance to metronidazole //Antimicrobial agents and chemotherapy.– 2014.– Т. 58.– № 8.– С. 4957–4960.
  46. Land K. M., Johnson P. J. Molecular basis of metronidazole resistance in pathogenic bacteria and protozoa //Drug Resistance Updates.– 1999.– Т. 2.– № 5.– С. 289–294.
  47. Baines S. D., Wilcox M. H. Antimicrobial resistance and reduced susceptibility in *Clostridium difficile*: potential consequences for induction, treatment, and recurrence of *C. difficile* infection //Antibiotics.– 2015.– Т. 4.– № 3.– С. 267–298.
  48. Peláez, T., Cercenado, E., Alcalá, L. et al. Metronidazole resistance in *Clostridium difficile* is heterogeneous // Journal of clinical microbiology.– 2008.– Т. 46.– № 9.– С. 3028–3032.
  49. Lebel S., Bouttier S., Lambert T. The *cme* gene of *Clostridium difficile* confers multidrug resistance in *Enterococcus faecalis* //FEMS microbiology letters.– 2004.– Т. 238.– № 1.– С. 93–100.
  50. Chopra I., Roberts M. Tetracycline antibiotics: mode of action, applications, molecular biology, and epidemiology of bacterial resistance //Microbiology and molecular biology reviews.– 2001.– Т. 65.– № 2.– С. 232–260.
  51. Saxton, K., Baines, S. D., Freeman, J. et al. Effects of exposure of *Clostridium difficile* PCR ribotypes 027 and 001 to fluoroquinolones in a human gut model // Antimicrobial agents and chemotherapy.– 2009.– Т. 53.– № 2.– С. 412–420.
  52. Jasni, A. S., Mullany, P., Hussain, H., Roberts, A. P. Demonstration of conjugative transposon (Tn5397)-mediated horizontal gene transfer between *Clostridium difficile* and *Enterococcus faecalis* //Antimicrobial agents and chemotherapy.– 2010.– Т. 54.– № 11.– С. 4924–4926.
  53. Knetsch, C. W., Connor, T. R., Mutreja, A. et al. Whole genome sequencing reveals potential spread of *Clostridium difficile* between humans and farm animals in the Netherlands, 2002 to 2011 //Euro surveillance: bulletin European sur les maladies transmissibles= European communicable disease bulletin.– 2014.– Т. 19.– № 45.– С. 20954.
  54. Kuwata, Y., Tanimoto, S., Sawabe, E. et al. Molecular epidemiology and antimicrobial susceptibility of *Clostridium difficile* isolated from a university teaching hospital in Japan //European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases.– 2015.– Т. 34.– № 4.– С. 763–772.
  55. Mullane K. Fidaxomicin in *Clostridium difficile* infection: latest evidence and clinical guidance //Therapeutic advances in chronic disease.– 2014.– Т. 5.– № 2.– С. 69–84.
  56. Hächler H., Berger-Bächli B., Kayser F. H. Genetic characterization of a *Clostridium difficile* erythromycin-clindamycin resistance determinant that is transferable to *Staphylococcus aureus* //Antimicrobial agents and chemotherapy.– 1987.– Т. 31.– № 7.– С. 1039–1045.

57. Norman, K. N., Scott, H. M., Harvey, R. B. et al. Comparison of antimicrobial susceptibility among *Clostridium difficile* isolated from an integrated human and swine population in Texas // Foodborne pathogens and disease. – 2014. – T. 11. – № 4. – С. 257–264.
58. Norén, T., Åkerlund, T., Wullt, M. et al. Mutations in *fusA* associated with posttherapy fusidic acid resistance in *Clostridium difficile* // Antimicrobial agents and chemotherapy. – 2007. – T. 51. – № 5. – С. 1840–1843.
59. Campbell, E. A., Korzheva, N., Mustaev, A., et al. Structural mechanism for rifampicin inhibition of bacterial RNA polymerase // Cell. – 2001. – T. 104. – № 6. – С. 901–912.
60. Aksoy D. Y., Unal S. New antimicrobial agents for the treatment of Gram-positive bacterial infections // Clinical Microbiology and Infection. – 2008. – T. 14. – № 5. – С. 411–420.
61. Baines, S. D., Noel, A. R., Huscroft, G. S. et al. Evaluation of linezolid for the treatment of *Clostridium difficile* infection caused by epidemic strains using an in vitro human gut model // Journal of antimicrobial chemotherapy. – 2011. – T. 66. – № 7. – С. 1537–1546.
62. Ackermann, G., Tang, Y. J., Rodloff, A. C., et al. In vitro activity of sitafloxacin against *Clostridium difficile* // Journal of Antimicrobial Chemotherapy. – 2001. – T. 47. – № 5. – С. 722–724.
63. Tenover F. C., Tickler I. A., Persing D. H. Antimicrobial-resistant strains of *Clostridium difficile* from North America // Antimicrobial agents and chemotherapy. – 2012. – T. 56. – № 6. – С. 2929–2932.
64. Marín, M., Martín, A., Alcalá, L. et al. *Clostridium difficile* isolates with high linezolid MICs harbor the multiresistance gene *cfr* // Antimicrobial agents and chemotherapy. – 2015. – T. 59. – № 1. – С. 586–589.
65. He, M., Miyajima, F., Roberts, P. et al. Emergence and global spread of epidemic healthcare-associated *Clostridium difficile* // Nature genetics. – 2013. – T. 45. – № 1. – С. 109.
66. Drudy, D., Quinn, T., O'mahony, R et al. High-level resistance to moxifloxacin and gatifloxacin associated with a novel mutation in *gyrB* in toxin-A-negative, toxin-B-positive *Clostridium difficile* // Journal of Antimicrobial Chemotherapy. – 2006. – T. 58. – № 6. – С. 1264–1267.
67. Dridi, L., Tankovic, J., Burghoffer, B. et al. *gyrA* and *gyrB* mutations are implicated in cross-resistance to ciprofloxacin and moxifloxacin in *Clostridium difficile* // Antimicrobial agents and chemotherapy. – 2002. – T. 46. – № 11. – С. 3418–3421.
68. Ackermann, G., Tang, Y. J., Kueper, R., et al. Resistance to Moxifloxacin in Toxigenic *Clostridium difficile* Isolates Is Associated with Mutations in *gyrA* // Antimicrobial agents and chemotherapy. – 2001. – T. 45. – № 8. – С. 2348–2353.
69. Putsathit, P., Maneerattanaporn, M., Piewngam, P. et al. Antimicrobial susceptibility of *Clostridium difficile* isolated in Thailand // Antimicrobial Resistance & Infection Control. – 2017. – T. 6. – № 1. – С. 58.
70. Linder, J. A., Huang, E. S., Steinman, M. A. et al. Fluoroquinolone prescribing in the United States: 1995 to 2002 // The American journal of medicine. – 2005. – T. 118. – № 3. – С. 259–268.
71. Vincent, Y., Manji, A., Gregory-Miller, K., Lee, C. A review of management of *Clostridium difficile* infection: Primary and recurrence // Antibiotics. – 2015. – T. 4. – № 4. – С. 411–423.
72. Smith C. J., Markowitz S. M., Macrina F. L. Transferable tetracycline resistance in *Clostridium difficile* // Antimicrobial agents and chemotherapy. – 1981. – T. 19. – № 6. – С. 997–1003.
73. Drudy, D., Kyne, L., O'Mahony, R. et al. *gyrA* mutations in fluoroquinolone-resistant *Clostridium difficile* PCR-027 // Emerging infectious diseases. – 2007. – T. 13. – № 3. – С. 504.
74. Mena, A., Riera, E., López-Causapé, C. et al. In vivo selection of moxifloxacin-resistant *Clostridium difficile* // Antimicrobial agents and chemotherapy. – 2012. – T. 56. – № 5. – С. 2788–2789.
75. Lee, J. H., Lee, Y., Lee, K. et al. The changes of PCR ribotype and antimicrobial resistance of *Clostridium difficile* in a tertiary care hospital over 10 years // Journal of medical microbiology. – 2014. – T. 63. – № 6. – С. 819–823.
76. Chaparro-Rojas F., Mullane K. M. Emerging therapies for *Clostridium difficile* infection—focus on fidaxomicin // Infection and drug resistance. – 2013. – T. 6. – С. 41.
77. Johnson A. P., Wilcox M. H. Fidaxomicin: a new option for the treatment of *Clostridium difficile* infection // Journal of antimicrobial chemotherapy. – 2012. – T. 67. – № 12. – С. 2788–2792.
78. Erikstrup, L. T., Danielsen, T. K. L., Hall, V. et al. Antimicrobial susceptibility testing of *Clostridium difficile* using EUCAST epidemiological cut-off values and disk diffusion correlates // Clinical Microbiology and Infection. – 2012. – T. 18. – № 8.
79. Pirš, T., Avberšek, J., Zdovc, I et al. Antimicrobial susceptibility of animal and human isolates of *Clostridium difficile* by broth microdilution // Journal of medical microbiology. – 2013. – T. 62. – № 9. – С. 1478–1485.
80. Wasels, F., Spigaglia, P., Barbanti, F. et al. Integration of *erm* (B)-containing elements through large chromosome fragment exchange in *Clostridium difficile* // Mobile genetic elements. – 2015. – T. 5. – № 1. – С. 12–16.
81. Fraga E. G., Nicodemo A. C., Sampaio J. L. M. Antimicrobial susceptibility of Brazilian *Clostridium difficile* strains determined by agar dilution and disk diffusion // Brazilian Journal of Infectious Diseases. – 2016. – T. 20. – № 5. – С. 476–481.
82. Mullany, P., Wilks, M., Lamb, I. et al. Genetic analysis of a tetracycline resistance element from *Clostridium difficile* and its conjugal transfer to and from *Bacillus subtilis* // Microbiology. – 1990. – T. 136. – № 7. – С. 1343–1349.