

Важность своевременной и быстрой диагностики *C. difficile* в условиях ограниченных ресурсов

М. Холланд

Термо Фишер Сайентифик, Базингсток, Великобритания

Учитывая постоянную угрозу госпитальных инфекций, таких как *C. difficile*, не находимся ли мы перед лицом опасности роста числа вспышек инфекций в условиях ограниченных ресурсов для проведения эффективных мероприятий по инфекционному контролю? В статье рассматривается важность быстрой диагностики инфекции

C. difficile как для пациентов, так и для наиболее адекватного распределения затрат на диагностику.

Ключевые слова: *C. difficile*, антибиотик-ассоциированная диарея, псевдомембранозный колит, диагностика.

Importance of Appropriate Rapid Diagnosis of *C. difficile* in Limited Resource Settings

M. Holland

ThermoFisherScientific, Basingstoke, UK

With the ever present threat of healthcare-associated infections such as *C. difficile*, are we at increased risk of outbreaks whilst resources to decontaminate wards and isolate patients are? Article explores the importance of

rapid diagnosis of *C. difficile* infection as an aid to patient prioritization and appropriate resource allocation.

Key words: *C. difficile*, antibiotic-associated diarrhea, pseudomembranous colitis, diagnostics.

Несмотря на усилия, затрачиваемые для контроля инфекционных заболеваний, больницы остаются идеальным местом для размножения многих бактерий, грибов и вирусов. Замкнутые пространства при большом скоплении людей с различными факторами риска упрощают передачу инфекционных заболеваний контактным способом через руки, поверхности, медицинское оборудование.

Все больше пациентов и посетителей больниц понимают необходимость использования спиртосодержащего геля для рук. Несмотря на то что спирт-

содержащие гели помогают бороться с возбудителями таких заболеваний, как грипп и многие другие, в том числе вызванных метициллинорезистентными штаммами золотистого стафилококка, к сожалению, они не могут заменить мытье рук, которое относительно эффективно для удаления с кожи спор *Clostridium difficile*.

Инфекция *C. difficile* (CDI) многими больницами до сих пор не рассматривается как серьезная проблема. Это в немалой степени связано с тем, что многие случаи CDI остаются не диагностированными. Однако, если своевременно не выявить данную инфекцию, может произойти быстрое распространение спор данного возбудителя буквально по всему стационару и число случаев данного забо-

Контактный адрес:

Michelle Holland

Эл. почта: michelle.holland@thermofisher.com

левания будет увеличиваться в геометрической прогрессии. Поэтому пациенты, инфицированные *C. difficile*, как и другими опасными и полирезистентными возбудителями, должны быть изолированы. А при расширении доступных площадей в стационаре основной акцент смещается в сторону оптимизации стратегии выявления, лечения и изоляции заболевших и инфицированных.

Важность правильного выбора пациента и вида образцов для анализа CDI

Первым шагом оптимальной стратегии контроля CDI является надлежащий отбор пациентов для проведения микробиологического исследования и правильного выбора типа образцов и методов исследования. Стандарты *Агентства по здравоохранению Великобритании* (HRA) и рекомендации *Европейского общества по клинической микробиологии и инфекционным заболеваниям* (ESCMID) еще раз указывают на отсутствие необходимости проведения тестов для выявления *C. difficile* у пациентов с нормальным (оформленным) стулом. Все образцы оформленного стула следует исключать из анализа, указывая в отчете причину отказа [1, 2]. Основным проявлением CDI является диарея, вызываемая токсинами, продуцируемыми *C. difficile*. Нет токсинов – нет повреждения эпителия кишечника, а следовательно и диареи, поэтому анализ на *C. difficile* у пациентов с нормальным стулом – пустая трата времени и ресурсов.

Инфицирование *C. difficile* связано с рядом факторов риска:

- пожилой возраст;
- тяжелые сопутствующие заболевания;
- манипуляции на желудочно-кишечном тракте (гастроскопия, колоноскопия и др.);
- наличие назогастрального зонда;
- антисекреторные препараты;
- пребывание в отделении интенсивной терапии;
- длительная госпитализация;
- длительная антибиотикотерапия.

К пациентам с максимальным риском развития заболевания относятся престарелые люди (более 80% случаев CDI регистрируется среди пациентов старше 65 лет) с тяжелыми сопутствующими патологиями, получавшие длительные курсы антибиотикотерапии. Подавляющее большинство CDI отмечается в больницах и домах престарелых, однако CDI также встречается и в амбулаторных условиях [3–4].

Понятно, что подходы к диагностике *C. difficile* в различных учреждениях могут различаться, однако общим принципом однозначно является то, что все госпитализированные пациенты 65 лет и старше с

диареей должны скринироваться на наличие данного возбудителя. В то же время вопрос о проведении исследования на *C. difficile* у пациентов моложе 65 лет должен решаться согласно клиническим показаниям [4]. Образцы стула должны отбираться и тестироваться на наличие токсинов А и В *C. difficile* в течение 18 часов от начала диареи или в течение 18 часов после поступления в стационар пациента с характерными симптомами [5].

Пациенты, проходящие курс лечения антибиотиками широкого спектра действия, особенно восприимчивы к инфицированию *C. difficile* и развитию CDI [2]. В одной из недавно описанных крупных вспышек CDI пациенты, которые получали антибиотикотерапию и по мнению врачей должны были вскоре полностью выздороветь, были инфицированы *C. difficile*, что в конечном итоге привело к целому ряду смертей [6]. И именно риск развития CDI является одной из важнейших причин, почему антибиотики следует назначать только при наличии на то очевидных показаний. Кроме того, предпочтительнее назначать антибиотики узкого спектра действия, направленного на конкретного возбудителя инфекции у пациента, а не «универсальные» антибиотики широкого спектра [7].

Диагностика

Современные рекомендации описывают различные варианты выбора, когда и какие тесты для выявления *C. difficile* могут быть использованы. Однако при всем многообразии доступных тестов в настоящее время очевидно, что ни один из них в отдельности не может дать достаточно надежный результат [2].

Предполагается, что использование методов с повышенной чувствительностью, таких как ПЦР или определение *глутамат-дегидрогеназы* (ГДГ), повысит регистрируемую частоту заболевания. Сейчас в условиях постоянного административного давления, направленного, с одной стороны, на снижение показателей заболеваемости, а с другой – на сокращение расходов, лаборатории поставлены перед выбором: либо использовать наиболее чувствительные, но не самые специфичные методы анализа, таким образом завышая показатели по уровню распространения заболевания, либо использовать оптимальные комбинации тестов для максимально быстрой и точной диагностики, не оставляя сомнений по поводу выбора лечения у каждого конкретного пациента и сокращая риск вспышек заболевания. Понятно, что второй вариант выглядит привлекательнее. Однако он сопряжен с повышением стоимости лабораторной диагностики.

Существующие в настоящее время варианты тестов

Анализ на наличие цитотоксинов *C. difficile* (СТА) до сих пор считается золотым стандартом при диагностике CDI, несмотря на введение более чувствительных методов анализа. СТА определяет цитотоксическую активность токсинов А и В с использованием культуры клеток. При наличии токсина в образце культура без нейтрализации антител проявляет цитопатогенный эффект, в то время как культура с добавлением нейтрализующих антител сохраняет неповрежденный клеточный монослой. Длительное время анализа (положительные результаты – в течение 24 часов, отрицательные результаты – в течение 48–72 часов) и трудоемкость не позволят большинству лабораторий взять этот метод на вооружение в рутинной клинической практике. Более того, сама по себе длительность исследования тормозит достижение одной из основных целей диагностики CDI – принятие своевременного решения по изолированию пациента и проведению дезинфекции.

Альтернативный широко используемый способ – выявление *C. difficile* культуральным методом. При этом образцы стула культивируются в течение минимум 48 часов в анаэробных условиях на дифференциальной селективной среде, такой как агар *Clostridium difficile* (Oxoid) с селективной добавкой *Clostridium difficile* (Oxoid или Oxoid C.D.M.N.). Предварительная идентификация проводится на основе исследования морфологии колоний, характерного запаха, окраски по Граму и желто-зеленой флуоресценции под УФ лучами (360 нм). Подтверждение видовой принадлежности выделенного штамма может проводиться с помощью биохимических тестов (например RapID™ ANA II Panel) или методом латекс-агглютинации. Метод отличается высокой чувствительностью, однако до 25% изолятов *C. difficile*, выделенных из образцов человеческого стула, не вырабатывают токсины и, следовательно, не патогенны. В связи с этим для повышения специфичности исследования возможно проведение СТА, но это еще дополнительные 48–72 часа.

Полимеразная цепная реакция (ПЦР) может заменить СТА и культуральное исследование. В настоящее время доступны тесты, которые определяют наличие *C. difficile* через выявление генов токсинов А и В, и, в некоторых случаях, генов бинарных токсинов. Данный метод обладает очень высокой чувствительностью. Однако здесь существует опасность ложноположительных результатов в связи с относительно невысокой специфичностью.

Также этот метод требует специализированного оборудования и достаточно дорог. Таким образом, в большинстве случаев до сих пор референтными методами диагностики CDI остаются СТА и культуральное исследование.

В иммуноферментном анализе (например ProSpecT® *C. difficile* Toxin A/B или Тест Хрест® *Clostridium difficile* Toxin A/B) используют антитела, специфичные для токсинов А и В *C. difficile*, что позволяет проводить экспресс-диагностику, используя непосредственно образец стула. Результаты данных тестов можно получить уже в течение от 15 минут до 2 часов. Быстрая диагностика позволяет своевременно назначить пациенту лечение, изолировать его, дезинфицировать окружающие предметы и минимизировать возможные последствия распространения инфекции в больнице. Последние обсуждения этого вопроса коснулись вопроса чувствительности и специфичности некоторых иммуноферментных тестов. Комбинация данных тестов с более чувствительными методами, такими как СТА или ПЦР, позволит лабораториям подтверждать результаты иммуноферментных тест-систем как истинно положительные образцы.

К самым последним новинкам в области иммуноферментного анализа относится тест для определения ГДГ. Глютамат-дегидрогеназа – достаточно распространенный фермент, в большом количестве вырабатываемый именно *C. difficile*, в связи с чем положительный результат указывает на вероятное наличие данного микроорганизма. Как и культивирование, метод не является безусловным индикатором заболевания, так как нетоксигенные штаммы *C. difficile* также будут давать положительный результат.

В медицинских учреждениях недостаточно ресурсов, чтобы изолировать пациентов в качестве предупредительных мер, тем самым, встает вопрос о том, насколько этично держать пациентов с положительными результатами исследования стула на *C. difficile*, но без наличия клинических проявлений инфекции, в одних палатах с другими пациентами, и насколько велик риск инфицирования. В целом же нужно признать, что пока у нас нет четкого ответа на вопрос, как эффективно идентифицировать пациентов, колонизированных нетоксигенными штаммами *C. difficile*, и что с ними делать, массовое использование тестов, основанных на детекции ГДГ, является недостаточно обоснованным.

Оптимальный алгоритм диагностики CDI каждое лечебное учреждение должно выбирать само, опираясь на имеющиеся возможности, однако наиболее эффективным представляется применение иммуноферментных тест-систем для выявления

токсинов *C. difficile*, с последующим подтверждением цитотоксического эффекта или ПЦР. Эта стратегия позволяет определять CDI на ранней стадии,

быстро назначать правильное лечение и соблюдать надлежащие процедуры инфекционного контроля.

Литература

1. National Standard Method: BSOP 10. Processing of faeces for *Clostridium difficile*.
2. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID): Data review and recommendations for diagnosing *Clostridium difficile*-infection (CDI). M.J.T. Crobach, O.M. Dekkers, M.H. Wilcox and E.J. Kuijper *Clin Microbiol Infect* 2009; 15:1053-66.
3. HPA (2007) Surveillance of Healthcare Associated Infections Report 2007.
4. Department of Health (2008) Letter from the Chief Medical Officer and Chief Nursing Officer, January 2008. PL/CMO/2008/1 PL/CNO/2008/1.
5. HPA Regional Microbiological Network (2007) A good practice guide to control *Clostridium difficile*.
6. Department of Health. A simple guide to *C. difficile*. www.clean-safe-care.nhs.uk
7. Department of Health (2007) Saving Lives: reducing infection, delivering clean and safe care. High Impact Intervention No 7: care bundle to reduce the risk from *Clostridium difficile*. www.clean-safe-care.nhs.uk.