



Межрегиональная ассоциация по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии

Научно-исследовательский институт антимикробной химиотерапии ФГБОУ ВО СГМУ Минздрава России

Учредитель

Межрегиональная ассоциация по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии

Издатель

Межрегиональная ассоциация по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии
www.iacmac.ru

Журнал зарегистрирован Комитетом РФ по печати 30.09.1999 г. (№019273) Тираж 3000 экз.

Подписка на сайте издателя
<https://service.iacmac.ru>

Адрес для корреспонденции
214019, г. Смоленск, а/я 5.
Тел./факс: (4812)45 06 02

Электронная почта:
cmac@antibiotic.ru

Электронная версия журнала:
<https://cmac-journal.ru>

Журнал входит в Перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук

Присланные в редакцию статьи проходят рецензирование

Мнение редакции может не совпадать с точкой зрения авторов публикуемых материалов

Ответственность за достоверность рекламных публикаций несут рекламодатели

При перепечатке ссылка на журнал обязательна

© Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия, 2021.

Содержание

Болезни и возбудители

- Баранцевич Н.Е., Леванова В.В., Баранцевич Е.П.
117 Региональные особенности распространения *Candida auris*
- Козлов Р.С., Муравьев А.А., Чагарян А.Н., Иванчик Н.В., Куркова А.А., Кузьменков А.Ю., Трушин И.В., Сухорукова М.В. и исследовательская группа «SPECTRUM»
127 Эпидемиология и антибиотикорезистентность серотипов *S. pneumoniae*, циркулирующих во взрослой популяции на территории Российской Федерации (исследование «SPECTRUM»)
- Демин М.В., Тихомиров Д.С., Бидерман Б.В., Глинщикова О.А., Дроков М.Ю., Судариков А.Б., Туполева Т.А., Паровичникова Е.Н., Филатов Ф.П.
138 Цитомегаловирус после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток: реактивация или реинфекция новым штаммом?
- Гавриленко Д.И., Силивончик Н.Н.
147 Транслокация кишечной микрофлоры при циррозе печени: механизм, клиническое значение, маркеры
- 161** Резолюция по итогам совещания экспертов Российской Федерации по вопросам вакцинопрофилактики пневмококковых инфекций у взрослых

Антимикробные препараты

- Петровская Т.А., Тапальский Д.В.
166 Влияние антибиотиков разных групп на возникновение мутационной устойчивости к колистину у *Klebsiella pneumoniae*
- Стецюк О.У., Андреева И.В., Лекманов А.У., Хайкина Е.В.
173 Цефтазидим-авибактам в педиатрии – «портрет» пациента: кому и когда?
- Зигангирова Н.А., Лубенец Н.Л., Зайцев А.В., Пушкарь Д.Ю.
184 Антибактериальные препараты, снижающие риск развития резистентности
- 195** Резолюция совета экспертов по вопросу использования тиамфеникола глицинат ацетилцистеината в лечении внебольничных респираторных инфекций

Антибиотикорезистентность

- Кузьменков А.Ю., Виноградова А.Г., Трушин И.В., Эйдельштейн М.В., Авраменко А.А., Дехнич А.В., Козлов Р.С.
198 AMRmap – система мониторинга антибиотикорезистентности в России

Опыт работы

- Ваганова А.Н., Борисенко С.В., Нестерова Е.В., Трофимова Н.Н., Литвиненко И.В., Петунова Я.Г., Рока В.В., Вербов В.Н.
205 Инокулюм-эффект к цефазолину среди чувствительных к метициллину изолятов *Staphylococcus aureus*, выделенных от пациентов с заболеваниями кожи
- Швыдкая М.Г., Затевалов А.М., Митрохин С.Д., Джандарова Д.Т.
212 Сравнительная характеристика методов культивирования штаммов *Clostridioides difficile* и другой анаэробной флоры из образцов кала в рутинной практике бактериологической лаборатории

Сравнительная характеристика методов культивирования штаммов *Clostridioides difficile* и другой анаэробной флоры из образцов кала в рутинной практике бактериологической лаборатории

Швыдкая М.Г.¹, Затевалов А.М.¹, Митрохин С.Д.², Джандарова Д.Т.³

¹ ФБУН «Московский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Роспотребнадзора, Москва, Россия

² Городская клиническая больница № 67 им. Л.А. Ворохобова, Москва, Россия

³ Диагностический клинический центр № 1, Москва, Россия

Контактный адрес:

Мария Геннадьевна Швыдкая
Эл. почта: mshvidkaya@mail.ru

Ключевые слова: культивирование, жидкая среда, образцы кала, *Clostridioides difficile*, анаэробы.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

Внешнее финансирование: исследование проведено без внешнего финансирования.

Цель. Усовершенствовать методику посева кала при бактериологическом анализе по выделению чистых культур анаэробной флоры, в том числе *Clostridioides difficile*, в рутинной практике микробиологической лаборатории детского онкологического стационара.

Материалы и методы. Всего было исследовано 517 образцов кала, взятого однократно у пациентов ФНКЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева с 2013 по 2015 г. Все образцы были исследованы методом иммуноферментного анализа (ИФА) на наличие токсинов *C. difficile* и бактериологическим методом по 5 специально разработанным схемам для выделения анаэробных микроорганизмов, включая *C. difficile*. Статистическую значимость различий в частоте высеваемости штаммов в исследуемых группах (схемах посева) оценивали по критерию χ^2 .

Результаты. Высеваемость токсигенных штаммов *C. difficile* при использовании схемы посева в печеночный бульон с наложением технического агара с последующим посевом на анаэробный агар составила 100%. Данная схема также подходит для выделения сопутствующей анаэробной кишечной флоры: нетоксигенных штаммов *C. difficile*, *Clostridium perfringens*, других клостридий, *Bacteroides fragilis* и других бактероидов.

Выводы. Использование жидкой среды накопления и наложение технического агара позволяет выделить анаэробную флору из кала, а также увеличивает высеваемость токсигенных штаммов *C. difficile* до 100% от положительных результатов ИФА на клостридиальный токсин.

Original Article

Comparison of culture and isolation methods for *Clostridioides difficile* and other anaerobes from stool samples in a routine microbiological laboratory practice

Shvydkaya M.G.¹, Zatevalov A.M.¹, Mitrokhin S.D.², Dzhandarova D.T.³

¹ G.N. Gabrichevsky Research Institute for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia

² City Clinical Hospital #67 named after L.A. Vorokhobov, Moscow, Russia

³ Diagnostic Clinical Center #1, Moscow, Russia

Contacts:

Maria G. Shvydkaya
E-mail: mshvidkaya@mail.ru

Key words: culture, liquid medium, stool samples, *Clostridium difficile*, anaerobes.

Conflicts of interest: all authors report no conflicts of interest relevant to this article.

External funding source: no external funding received.

Objective. To improve stool sample culture and isolation of anaerobic flora, including *Clostridioides difficile* in the routine microbiological laboratory practice at the children's oncology hospital.

Materials and methods. A total of 517 stool samples collected from patients in children's oncology hospital from 2013 to 2015 were studied. All samples were analyzed by ELISA for *C. difficile* toxins and by culture according to dedicated 5 schemes for isolation of anaerobic bacteria, including *C. difficile*. Statistical significance of differences in isolation rates between the studied groups (culture schemes) was assessed by Pearson test.

Results. Culture in liver broth and covering with technical agar followed by culture on anaerobic agar yielded 100% isolation rate of toxigenic *C. difficile* strains. This culture scheme is also suitable for isolating concomitant anaerobic flora: non-toxigenic *C. difficile* strains, *Clostridium perfringens*, other *Clostridium* spp. and *Bacteroides* spp.

Conclusions. Use of the liquid accumulation medium and covering with technical agar make it possible to isolate anaerobic flora from stool samples and increase an isolation rate of toxigenic *C. difficile* strains to 100% of ELISA-positive samples.

Введение

При лечении основного заболевания у пациентов детского онкологического стационара развивается иммуносупрессия, которая провоцирует осложнения в виде колитов. В большинстве случаев колит вызывает токсигенный штамм *Clostridioides difficile*, который можно выявить с помощью иммуноферментного анализа (ИФА) по наличию клостридиального токсина А/В в кале [1]. ИФА у пациентов с иммуносупрессией и лейкопенией обладает низкой чувствительностью, не дает информации об интенсивности бактериальной колонизации, чувствительности микроорганизма к антибиотикам и не учитывает нетоксигенные штаммы *C. difficile*, которые также могут быть возбудителем колита [2, 3]. Кроме ИФА на токсины *C. difficile* используются полимеразная цепная реакция (ПЦР), глутаматдегидрогеназный тест и ряд других тестов, указывающих на присутствии *C. difficile* в кале. Для обеспечения метода ПЦР необходимо иметь специально оборудованные помещения, дорогостоящее оборудование и подготовленных специалистов. Известны случаи гипердиагностики, что связано с высокой чувствительностью метода ПЦР [5]. Методика определения глутаматдегидрогеназы в кале имеет преимущество в скорости выдачи ответа, но получаемый результат имеет сложную интерпретацию [4]. Однако большинство вышеперечисленных тестов только косвенно указывают на присутствие возбудителя и дают неполную информацию, необходимую для выбора терапии. Поэтому эталонным стандартом является бактериологический анализ кала, позволяющий культуральным методом выделить токсигенные штаммы *C. difficile*.

Культуральный метод имеет ряд ограничений, среди которых длительный срок выдачи ответа, необходимость использования дорогостоящих сред и оборудования для анаэробного культивирования [3–5]. Тем не менее, согласно российским [6, 7] и зарубежным рекомендациям [8], культуральный метод утвержден для диагностики клостридиальной инфекции. В вышеперечисленных методических рекомендациях не указывается алгоритм посева и среда для культивирования, что позволяет каждой лаборатории самостоятельно определять эти параметры.

Согласно результатам сравнительных исследований, наибольшую чувствительность и специфичность при культивировании *C. difficile* показывает циклосерин-цефокситиновый хромогенный агар [6]. Использование этой среды в рутинной практике детского онкологического стационара ограничено его высокой стоимостью. Кроме токсигенных штаммов *C. difficile*, возбудителями колита также могут быть нетоксигенные штаммы *C. difficile*, *Clostridium innocuum*, *Clostridium perfringens*, *Bacteroides fragilis* и *Bacteroides vulgatus* [9–12]. Стоит отметить, что все вышеперечисленные анаэробные микроорганизмы могут иметь внекишечную локализацию и способны вызывать заболевания различных органов и систем [13–21], поэтому в практической работе микробиологической ла-

боратории детского онкологического стационара принята своя методика исследования и определенный набор сред для культивирования анаэробной флоры. Данная методика обеспечивает оптимальное соотношение цены и качества исследования, но может быть усовершенствована без увеличения стоимости и трудозатрат.

Цель исследования – усовершенствовать методику посева кала при бактериологическом анализе по выделению чистых культур анаэробной флоры, в том числе *C. difficile*, в рутинной практике микробиологической лаборатории детского онкологического стационара.

Материалы и методы

В работе было исследовано 517 образцов кала, взятого однократно у пациентов ФНКЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева в период с 2013 по 2015 г. Были выделены 5 групп в зависимости от схемы посева и типа применяемых сред.

1 группа – посев проводился на агар Шедлер, бульон не использовался;

2 группа – посев проводился на агар Шедлер, использовался печеночный бульон;

3 группа – посев проводился на агар Шедлер, использовался печеночный бульон с наслоением технического агара;

4 группа – посев проводился на анаэробный агар, использовался анаэробный бульон с наслоением технического агара;

5 группа – посев проводился на анаэробный агар, использовался печеночный бульон с наслоением технического агара.

Наличие в кале клостридиального токсина А/В определяли методом ИФА (R-Biopharm, Германия). Для выделения и идентификации штаммов анаэробной флоры использовали культуральный метод, который выполнялся по следующей схеме: посев на жидкую питательную среду – наслаивание технического агара для 3–5 группы (инкубация 24 ч. в анаэро-стате) – посев на твердую питательную среду (инкубация 24–48 ч. в анаэро-стате) – идентификация колоний.

Посев был выполнен следующим образом: кал вносился в анаэробный бульон (Oxoid, Великобритания) и печеночный бульон (Oxoid, Великобритания) микробиологической петлей (10 мкл). Поверх бульона наслаивали 2 мл технического агара (Oxoid, Великобритания), нагретого до 37°C. Далее материал инкубировался в анаэро-стате с использованием газпакетов (Oxoid, Великобритания). Затем 0,5 мл осадка петлей наносили на зону сброса в чашке Петри с анаэробным агаром (Oxoid, Великобритания) с добавкой нитроцефина (Oxoid, Великобритания) или с агаром Шедлер (Oxoid, Великобритания) с добавкой нитроцефина и рассеивали петлей 1 мкл. Инкубация осуществлялась в анаэро-стате указанным выше способом. Последующая идентификация колоний до вида проводилась с помощью MALDI-

TOF масс-спектрометрии по протоколу компании-производителя (Bruker Daltonic, Германия).

Сбор и обработку данных проводили с использованием лабораторно-информационной системы (SGM Analytix, Швеция) и программы QlikView Personal Edition (SGM Analytix Explorer, Швеция).

Статистическую значимость различий в частоте высеваемости штаммов в исследуемых группах оценивали по критерию χ^2 .

Результаты

Результаты исследования нативных фекалий методом ИФА на наличие клостридиального токсина А/В и частота высеваемости штаммов в зависимости от схемы посева представлены в Таблице 1.

Из 517 образцов наибольшее количество посевов было выполнено по схемам 3, 4 и 5. Наличие токсина А/В *C. difficile* с помощью ИФА было выявлено в 61 (11,8%) образце.

Анаэробные представители микрофлоры кишечника при использовании схемы 1 не были выделены, несмотря на то что 1 образец был положительным в ИФА на клостридиальный токсин. Использование схемы 2 статистически значимо увеличило высеваемость токсигенных штаммов *C. difficile*, но результат остается на очень низком уровне – 25%. Более высокую высеваемость штаммов показало применение схем 3 и 4 – 61,5% и 68,2% соответственно. Наиболее высокий результат наблюдается при применении схемы 5 – 100%. Таким образом, можно утверждать, что использование жидкой накопительной среды и «пробки» из технического агара значительно повышает высеваемость анаэробной флоры.

Обсуждение

В большинстве лабораторий, в которых занимаются выделением, идентификацией и исследованием штаммов *C. difficile*, применяют анаэробный агар или агар Шедлер с использованием добавок, заявленных производителем, при этом частота высеваемости *C. difficile* составляет 68–94% [23]. Использование хромогенных сред ограничено их высокой стоимостью и узким спектром определяемых штаммов. Одним из важных условий культивирования *C. difficile* является своевременное прекращение доступа кислорода, которое обеспечивается наложением технического агара. В Таблице 1 показано, что применение данного технического приема в нашем исследовании позволило повысить высеваемость токсигенных штаммов *C. difficile* до 100%, тогда как другие схемы продемонстрировали существенно худшие результаты. Увеличилось количество штаммов анаэробной флоры, а именно нетоксигенных клостридий и бактериоидов. Сравнение с результатами, полученными в других исследованиях на хромогенной среде, показало, что затраты по времени для хромогенной среды – 24 ч., при использовании схемы 5 – 72 ч. По сравнению с хромогенным агаром увеличена высеваемость токсигенных штаммов до 100% (в то время как хромогенный агар – 94%) и спектр высеваемых культур. Последний факт имеет важное значение, так как, по данным Bauer M. и соавт., нетоксигенные штаммы не вызывают заболевания, а колонизация кишечника нетоксигенными штаммами *C. difficile* может защитить от колонизации токсигенными штаммами [24]. Также имеются сообщения о том, что нетоксигенные штаммы *C. difficile* могут быть связаны с некоторыми случаями внутриболь-

Таблица 1. Сравнение схем посева кала на микробиологические среды и частоты высеваемости анаэробной микрофлоры из кала у пациентов детского онкологического стационара

	Схемы посева кала на микробиологические среды				
	1	2	3	4	5
Бульон	-	Печеночный	Печеночный	Анаэробный	Печеночный
Твердая среда	Агар Шедлер	Агар Шедлер	Агар Шедлер	Анаэробный агар	Анаэробный агар
Технический агар	-	-	+	+	+
Всего образцов, n	10	18	179	180	130
Токсин(+) ИФА	1	4	13	22	21
<i>C. difficile</i> tox(+) из токсин(+) ИФА	0%	25,0% ¹	61,5% ^{1,2}	68,2% ^{1,2}	100% ^{1,2,3,4}
<i>C. difficile</i> tox(+)	0 (0%)	1 (5,6%)	8 (4,5%)	15 (8,3%)	21 (16,2%)
<i>C. difficile</i> tox(-)	0 (0%)	0 (0%)	16 (8,9%)	50 (27,8%)	69 (53,1%)
<i>C. perfringens</i>	0 (0%)	1 (5,6%)	23 (12,8%)	46 (25,6%)	30 (23,1%)
Другие клостридии	0 (0%)	5 (27,8%)	38 (21,2%)	90 (50,0%)	101 (77,7%)
<i>B. fragilis</i>	0 (0%)	0 (0%)	7 (3,9%)	12 (6,7%)	15 (11,5%)
Другие бактериоиды	0 (0%)	1 (5,6%)	11 (6,1%)	21 (11,7%)	25 (19,2%)

Значение в верхнем индексе в строке «*C. difficile* tox(+) из токсин(+) ИФА» указывает на номер схемы посева, с которой имеются статистически значимые различия ($p < 0,05$).

tox(+) – токсигенные штаммы *C. difficile*; tox(-) – нетоксигенные штаммы *C. difficile*.

ничной диареи [9, 24, 25]. Данные о роли нетоксигенных штаммов *Clostridium spp.* довольно противоречивы. Так, Chia J. и соавт. указывают на то, что *C. innocuum* могут вызывать антибиотикоассоциированный колит, а, по данным Kiu R. и соавт., *C. perfringens* играет важную роль в патогенезе ряда важных кишечных заболеваний человека, включая некротический энтероколит [10, 11]. Имеются сведения о роли бактериоидов в патогенезе развития колита. По данным Yu L., *B. fragilis* вырабатывает энтеротоксин, а *B. vulgatus* способствует развитию колита [12]. Использование отдельных селективных сред для идентификации этих микроорганизмов значительно увеличивает трудозатраты и стоимость анализа [26–29]. Доступные тест-системы в рутинной практике для микробиологической лаборатории неудобны и имеют высокую стоимость [30, 31]. Данные, полученные в нашем исследовании, показывают, что все вышеперечисленные микроорганизмы можно выделять и идентифицировать, не используя отдельные селективные среды, а применяя только стандартные, доступные в рутинной практике среды для культивирования анаэробной флоры.

Литература

- Jain T., Crowell C., Urdy-Cornejo V., Awali R., Cutright J., Salimnia H., et al. *Clostridium difficile* colonization in hematopoietic stem cell transplant recipients: a prospective study of the epidemiology and outcomes involving toxigenic and nontoxigenic strains. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2016;22(1):157-163. DOI: 10.1016/j.bbmt.2015.07.020
- Al-Rawahi G.N., Al-Najjar A., McDonald R., Deyell R.J., Golding G.R., Brant R., et al. Pediatric oncology and stem cell transplant patients with healthcare-associated *Clostridium difficile* infection were already colonized on admission. *Pediatr Blood Cancer.* 2019;66(5):e27604. DOI: 10.1002/pbc.27604
- Erb S., Frei R., Strandén A.M., Dangel M., Schudin-Sutter S.T., Widmer A.F. Low sensitivity of fecal toxin A/B enzyme immunoassay for diagnosis of *Clostridium difficile* infection in immunocompromised patients. *Clin Microbiol Infect.* 2015;21(11):998.e9-998.e15. DOI: 10.1016/j.cmi.2015.07.016
- Stahlmann J., Schönberg M., Herrmann M., von Müller L. Detection of nosocomial *Clostridium difficile* infections with toxigenic strains despite negative toxin A and B testing on stool samples. *Research Note Epidemiology.* 2014;20(9):O590-O592. DOI: 10.1111/1469-0691.12558
- Origüen J., Corbella L., Orellana M.Á., Villa J., Delgado R., August A. Comparison of the clinical course of *Clostridium difficile* infection in glutamate dehydrogenase-positive toxin-negative patients diagnosed by PCR to those with a positive toxin test. *Clin Microbiol Infect.* 2018;24(4):414-421 DOI: 10.1016/j.cmi.2017.07.033
- Clostridium difficile*-associated diarrhea. National Association of Specialists in the Control of Infections Associated with the Provision of Medical Care (NP "NASCI"). Federal clinical guidelines, 2017. Russian. (*Clostridium difficile*-ассоциированная диарея. Национальная ассоциация специалистов по контролю инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (НП «НАСКИ»). Федеральные клинические рекомендации, 2017.)
- Shelygin Yu.A., Aleshkin V.A., Sukhina M.A., Mironov A.Yu., et al. Clinical recommendations of the National Association of Specialists in Control of Infections Associated with the Provision of Medical Assistance, and the All-Russian Public Non-Profit Organization Association of Coloproctologists of Russia for Diagnostics, treatment and prevention of *Clostridium difficile*-associated diarrhea (CDI). *Koloproktologiya.* 2018;3(65):7-23. Russian. (Шельгин Ю.А., Алешкин В.А., Сухина М.А., Миронов А.Ю. и соавт. 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):7-23.) DOI: 10.33878/2073-7556-2018-03-7-23
- Crobach M.J., Planché T., Eckert C., Barbut F., Terveer E.M., Dekkers O.M. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases: update of the diagnostic guidance document for *Clostridium difficile* infection. *Clin Microbiol Infect.* 2016;22:S63-S81. DOI: 10.1016/j.cmi.2016.03.010
- Camorlinga M., Sanchez-Rojas M., Torres J., Romo-Castillo M. Phenotypic Characterization of non-toxigenic

Заключение

Использование усовершенствованного метода посева при бактериологическом анализе по выделению анаэробной флоры из кала увеличивает высеваемость токсигенных штаммов *C. difficile* до 100% от положительных результатов ИФА на клостридиальный токсин, что позволяет значительно улучшить диагностику, лечение и профилактику инфекций, вызванных *C. difficile*. Использование усовершенствованного метода посева также позволяет существенно снизить трудозатраты и стоимость анализа по сравнению с методом, предполагающим использование селективных хромогенных сред для каждого микроорганизма, который может быть причиной колита у пациентов детского онкологического стационара при лечении основного заболевания.

Благодарность

Авторы выражают благодарность Тутельяну А.В. за помощь в организации исследования.

- Clostridioides difficile* strains isolated from patients in Mexico. *Front Microbiol.* 2019;10(84):1-10. DOI: 10.3389/fmicb.2019.00084
10. Chia J.-H., Wu T.-S., Wu T.-L., Chen C.-L., Chuang C.-H., Su L.-H., et al. *Clostridium innocuum* is a vancomycin-resistant pathogen that may cause antibiotic-associated diarrhoea. *Clin Microbiol Infect.* 2018;24(11):1195-1199. DOI: 10.1016/j.cmi.2018.02.015
 11. Kiu R., Hall L.J. An update on the human and animal enteric pathogen *Clostridium perfringens*. *Emerg Microbes Infect.* 2018;7:141. DOI: 10.1038/s41426-018-0144-8
 12. Yu L.C. Microbiota dysbiosis and barrier dysfunction in inflammatory bowel disease and colorectal cancers: exploring a common ground hypothesis. *J Biomedical Science.* 2018;25(1):79. DOI: 10.1186/s12929-018-0483-8
 13. Borisov O.O., Efremov E.M. Bacteremia due to *Clostridium difficile*: literature review. *WORLD SCIENCE: PROBLEMS AND INNOVATIONS. Articles of the XXXI International Scientific and Practical Conference. Science and Education.* 2019. Russian. (Борисов О.О., Ефремов Е.М. Бактеремия, вызванная *Clostridium difficile*: обзор литературы. *WORLD SCIENCE: PROBLEMS AND INNOVATIONS. Сборник статей XXXI Международной научно-практической конференции. Наука и Просвещение.* 2019.)
 14. Yamamoto Y., Itoh N., Sugiyama T., Kurai H. Clinical features of *Clostridium* bacteremia in cancer patients: A case series review. *J Infect Chemother.* 2020;26(1):92-94. DOI: 10.1016/j.jiac.2019.07.019
 15. Millard M.A., McManus K. A., Wispelwey B. Severe sepsis due to *Clostridium perfringens* bacteremia of urinary origin: a case report and systematic review. *Case Rep Infect Dis.* 2016;2016:2981729. DOI: 10.1155/2016/2981729
 16. Madsen R.I., Justesen U.S. Bacteremia with *Bacteroides pyogenes* after a cat bite. *J Clin Microbiol.* 2011;49(8):3092-3093. DOI: 10.1128/JCM.00250-11
 17. Hsu G., Chen C., Lai M., Luh S. Chest wall abscess due to *Prevotella bivia*. *J Zhejiang Univ Sci B.* 2009;10(3):233-236. DOI: 10.1631/jzus.B0820289
 18. Di Marco Berardino A., Inchingolo R., Smargiassi A., Re A., Torelli R., Fiori B., et al. Empyema caused by *Prevotella bivia* complicating an unusual case of spontaneous chylothorax. *J Clin Microbiol.* 2014;52(4):1284-1286. DOI: 10.1128/JCM.03282-13
 19. Mehmood M., Jaffar N. A., Nazim M., Khasawneh F.A. Bacteremic skin and soft tissue infection caused by *Prevotella loescheii*. *BMC Infect Dis.* 2014;14:162. DOI: 10.1186/1471-2334-14-162
 20. Mo S., Wei L., Chen H., Li R., Li S., Luo G. A chinese case of *Prevotella intermedia* and *Streptococcus constellatus* intracranial mixed infection. *Metab Brain Dis.* 2018;33(1):161-166. DOI: 10.1007/s11011-017-0142-x
 21. Litusov N.V. Genus *Bacteroides*. Illustrated tutorial. FGBOU VO USMU, Yekaterinburg, 2017. 17 p. Russian. (Литусов Н.В. Род *Bacteroides*. Иллюстрированное учебное пособие. ФГБОУ ВО УГМУ, Екатеринбург, 2017. 17 с.)
 22. Mirzaei E.Z., Rajabnia M., Sadeghi F., Ferdosi-Shahandashti E., Sadeghi-Haddad-Zavareh M., Khafri S., et al. Diagnosis of *Clostridium difficile* infection by toxigenic culture and PCR assay. *Iran J Microbiol* 2018;10(5):287-293.
 23. Shannon S., Gustafson D., Segner R., Ali A., Schieffer B., Boelman K., et al. Comparison of recovery rates of *Clostridium difficile* from stool using chromogenic agar versus a classic culture method. Available at: www.chromagar.com/fichiers/1470066757Comparison_of_Recovery_Rates_of_Clostridium_difficile_from.pdf. Accessed October 5, 2020.
 24. Bauer M.P., Farid A., Bakker M., Hoek R.A.S., Kuijper E.J., van Dissel J.T. Patients with cystic fibrosis have a high carriage rate of non-toxigenic *Clostridium difficile*. *Clin Microbiol Infect.* 2014;20(7):O446-O449. DOI: 10.1111/1469-0691.12439
 25. Gerding D. N., Meyer T., Lee C., Cohen S.H., Murfy U.K., Poirier A., et al. Administration of spores of nontoxigenic *Clostridium difficile* strain m3 for prevention of recurrent *C. difficile* infection. *JAMA.* 2015;313(17):1719-1727. DOI: 10.1001/jama.2015.3725
 26. Kotsanas D. Novel use of tryptose sulfite cycloserine egg yolk agar for isolation of *Clostridium perfringens* during an outbreak of necrotizing enterocolitis in a neonatal unit. *J. Clin. Microbiol.* 2010;48:4263-4265. DOI: 10.1128/JCM.01724-10
 27. GOST R 53400-2009 (ISO 7937:2000). Microbiology of food and animal feed. Colony counting method for *Clostridium perfringens*. Russian. (ГОСТ Р 53400-2009 (ИСО 7937:2000). Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Метод подсчета колоний *Clostridium perfringens*.)
 28. Zamani S., Shariati S.H., Zali M.R., Aghdaei H.A., Asiabar A.S., Bokaie S., et al. Detection of enterotoxigenic *Bacteroides fragilis* in patients with ulcerative colitis. *Gut Pathog.* 2017;9:53. DOI: 10.1186/s13099-017-0202-0
 29. Ho P., Ho L., Yau C., Tong M., Chow K. A novel selective medium for isolation of *Bacteroides fragilis* from clinical specimens. *J Clin Microbiol.* 2017;55(2):384-390. DOI: 10.1128/JCM.01988-16
 30. Ayyagari A., Khanna T., Devi S. Enzyme linked immunosorbent assay & indirect fluorescence assay for rapid diagnosis of *Bacteroides fragilis* infections. *Indian J Med Res.* 1992;95:34-40. DOI: 10.1016/s0140-6736(79)90768-2
 31. Lalitha M.K., Mathai E., Elias L., Anandi V., Kalpana C.R. Detection of *Bacteroides* infection by counter immunoelectrophoresis test. *Indian J Med Res.* 1991;93:171-173. DOI: 10.1136/jcp.31.11.1078