

Энтероколит, связанный с *Clostridium difficile*, в детской гематологии-онкологии – решенная проблема? Обзор литературы и собственный опыт

К.И. Киргизов^{1,2}, С.Ю. Шульга¹, Е.А. Пристанскова¹, В.В. Константинова¹, Ю.В. Герасимова¹,
Н.В. Сидорова¹, О.Л. Благодравова¹, Н.И. Федорова¹, Е.В. Скоробогатова¹

¹ФГБУ «Российская детская клиническая больница» Минздрава России, Москва;

²ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии
им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, Москва

Контакты: Кирилл Игоревич Киргизов podgo@yandex.ru

По данным ряда исследований в США, Европе и Азиатских странах, *Clostridium difficile* является самой частой причиной нозокомиальных диарей. Важно, что иногда связанные с *Cl. difficile* колиты могут приводить к летальному исходу у пациентов с тяжелыми сопутствующими заболеваниями. Не являются исключением и дети с гематологическими, онкологическими и иными тяжелыми заболеваниями. Уданной группы пациентов могут развиваться ассоциированные с *Cl. difficile* энтероколиты, приводящие к серьезным последствиям. Еще большую угрозу данные осложнения несут для пациентов после трансплантации гемопоэтических стволовых клеток. Длительно персистирующая клостридиальная инфекция ведет к росту длительности госпитализации, затрат на лекарственные препараты и значимому поражению кишечника, которое может быть причиной развития различных осложнений и, например, провоцировать реакцию «трансплантат против хозяина». В последние годы происходит снижение выявленных случаев энтероколитов, вызванных *Cl. difficile*. Однако до сих пор данная проблема занимает значимое место в списке осложнений химиотерапии.

В данной статье речь пойдет об эпидемиологии, диагностике и терапии различных вариантов *Cl. difficile*-ассоциированных энтероколитов. Кроме того, будет представлен собственный опыт профилактического приема препарата рифаксимин с целью предотвращения данного осложнения у детей в контексте трансплантации гемопоэтических стволовых клеток.

Ключевые слова: дети, энтероколит, клостридиальная инфекция, осложнения, гематология-онкология, профилактика

Is *Clostridium difficile*-associated enterocolitis in pediatric hematology/oncology a solved problem? A review of literature and the authors' experience

K.I. Kirgizov^{1,2}, S.Yu. Shulga¹, Ye.A. Pristanskova¹, V.V. Konstantinova¹, Yu.V. Gerasimova¹,
N.V. Sidorova¹, O.L. Blagoravova¹, N.I. Fedorova¹, Ye.V. Skorobogatova¹

¹Russian Children's Clinical Hospital, Ministry of Health of Russia, Moscow;

²Federal Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology named after Dmitriy Rogachev, Ministry of Health of Russia, Moscow

According to a number of trials in the USA, Europe, and Asia, *Clostridium difficile* is the most common cause of nosocomial diarrheas. It is significant that *Cl. difficile*-associated colitis may occasionally result in death in patients with severe comorbidities. Children with hematological, oncological and other severe diseases are no exception. This patient group may develop *Cl. difficile*-associated enterocolitides that lead to serious consequences. These complications bring a much greater threat to patients after hematopoietic stem cell transplantation. Long-term persistent *Cl. difficile* infection causes an increase in hospitalization length, drug costs, and a significant bowel lesion that may induce various complications and, as an example, graft-versus-host disease. There has been recently a decrease in the detection rates of *Cl. difficile*-induced enterocolitides. However, this problem has held a high position in the list of chemotherapy complications so far.

This paper deals with the epidemiology, diagnosis, and therapy of different types of *Cl. difficile*-associated enterocolitides, as well the authors' experience with rifaximin used to prevent this complication in children in the context of hematopoietic stem cell transplantation.

Key words: children, enterocolitis, *Cl. difficile* infection, complications, hematology/oncology, prevention

Патофизиология и эпидемиология энтероколитов, связанных с *Clostridium difficile*

В настоящее время развитие тяжелых энтероколитов (а в нашей практике встречались и случаи доказанных гастроэнтероколитов) связано с попаданием спор токсигенных штаммов *Clostridium difficile* на поврежденную в результате действия химиотерапии или дру-

гих агентов слизистую оболочку кишки [2, 13, 23, 25, 28, 30]. В этом случае *Cl. difficile* способна вырабатывать токсины, которые и ведут к выраженным воспалительным процессам, иногда приводящим к некрозу и в ряде случаев способным стимулировать развитие реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ). В большинстве случаев выявляются токсин А и токсин Б [3, 10, 13, 20].

Можно выделить следующие прямые причины развития энтероколитов, связанных с *Cl. difficile* [2, 3, 13, 25]:

- применение антибиотиков широкого спектра действия;
- химиотерапия;
- предшествующее повреждение стенки кишки (например, при аутовоспалительных процессах или РТПХ).

В дополнение к данным основным факторам относят:

- юный или пожилой возраст;
- сопутствующие заболевания;
- длительную госпитализацию;
- терапию ингибиторами протонной помпы;
- длительное стояние зондов.

В исследованиях показано, что лишь наличие микроорганизма не способно вызывать тяжелые энтероколиты. Так, 1–5 % популяции колонизировано токсигенными штаммами *Cl. difficile*, а в стационаре данное число может достигать до 20 % [8, 13].

Таким образом, выделяют следующие формы течения клостридиальной инфекции [5, 11, 12]:

- бессимптомная колонизация;
- умеренная диарея;
- псевдомембранозный колит;
- токсический мегаколон;
- смерть, связанная с клостридиальной инфекцией.

В настоящее время определяется и зависимость группы антибактериального препарата и риска развития клостридиального энтероколита. Так, применение

клиндамицина, цефалоспоринов широкого спектра действия, а также фторхинолонов ведет к высокому риску развития данного осложнения, в то время как ванкомицин, тетрациклин и аминогликозиды его не провоцируют [13, 17].

Клостридиальные токсины (А и В) реализуют свои токсические эффекты с помощью активированной глюкозилтрансферазы, которая обрывает межклеточные сигнальные пути, которые регулируются GTP-азами. Этот процесс приводит к нарушению целостности слизистого слоя кишки, активирует апоптоз эпителиальных клеток и индуцирует секрецию провоспалительных цитокинов. В свою очередь это приводит к миграции нейтрофилов в очаг воспаления, что вызывает массивную инфильтрацию стенки, и становится причиной тяжелой формы клостридиального энтероколита под названием «псевдомембранозный колит» [5, 8, 29]. В настоящее время показано, что нейтропения у данной группы пациентов несколько сглаживает течение энтероколита, но при начале стимуляции гранулоцитарным колониестимулирующим фактором может происходить ухудшение степени энтероколита за счет усиления функции нейтрофилов и их предшественников, которые активно мигрируют в очаг воспаления. Действие токсинов на стенку кишки показано на рис. 1 [11].

В классификации *Cl. difficile* принято выделять микроорганизмы по их способности вырабатывать тот или



Рис. 1. Механизм действия клостридиальных токсинов А и В на стенку кишки с развитием воспалительного процесса и последующей активной некролизацией слизистой

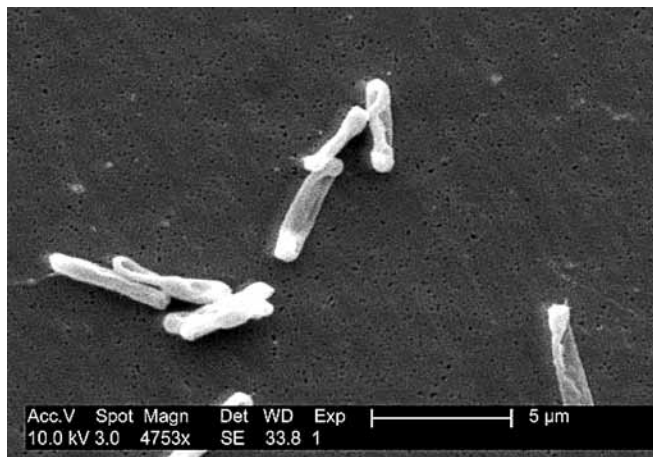


Рис. 2. Микроскопия грамположительной *Cl. difficile*, выделенной из кала пациента с псевдомембранозным колитом.
Источник: CDC/Lois S. Wiggs

иной токсинотип, а также по их контагиозности — не каждый штамм *Cl. difficile* обладает высокой активностью и способностью вызывать тяжелый энтероколит (рис. 2). Например, выделены штаммы, которые могут спровоцировать тяжелый энтероколит даже у иммунокомпрометированных лиц в 60–70 % случаев. Эти штаммы (стандартный штамм, штаммы «Огайо» и «Пенсильвания») вырабатывают токсинотипы IX/XIV/XV, а также в них отсутствует делеция гена *tcdC* [16, 19]. Все это обуславливает их невысокую контагиозность. Однако существует и 100 % контагиозный штамм, который в зависимости от техники определения носит различные названия. Если речь идет о гелевом электрофорезе в пульсирующем поле, то название звучит как NAP-1 (Североамериканский, определенный при помощи электрофореза в пульсирующем поле, тип 1; North American pulsed-field gel electrophoresis type 1) [3, 8, 11, 26]. Также штамм может носить название VI или риботип 27. Однако общепринятым названием является NAP-1. Данный штамм способен вырабатывать большое число очень активных токсинов. Несмотря на свое название, штамм распространен не только в Северной Америке, но и в Европе (в том числе и в России). В США и Европе за последние 4 года было задокументировано 5 случаев «эпидемий», вызванных этим штаммом, умерло более 70 человек [30].

Постановка диагноза кlostридиального энтероколита

По данным литературы, типичная презентация кlostридиального энтероколита связана с лихорадкой, лейкоцитозом, диареей и болевым синдромом. Однако у пациентов с гематологическими и онкологическими заболеваниями данная картина может быть смазана за счет нейтропении, при которой пациенты могут часто лихорадить вне связи с энтероколитом, а низкий

уровень лейкоцитов не позволяет запустить выраженный локальный воспалительный процесс [13].

При постановке диагноза необходимо помнить о дифференциальной диагностике и наиболее частых причинах диарейного синдрома у детей с гематологическими и онкологическими заболеваниями.

Наиболее распространенные причины развития энтероколитов у пациентов с гематологическими и онкологическими заболеваниями [8, 9]:

- 1) индуцированный полихимиотерапией мукозит;
- 2) длительный прием иммуносупрессивных препаратов (циклоsporин, микофенолата мофетил);
- 3) антибиотик-ассоциированная диарея (*Cl. difficile*-негативная);
- 4) вирусное поражение кишечника (ротавирус, аденовирус, цитомегаловирус и др.);
- 5) *Cl. difficile*-ассоциированное поражение;
- 6) бактериальное поражение (*Salmonella*, *Shigella*, *Campylobacter* spp.);
- 7) другие.

Клиническая картина кlostридиального энтероколита может варьировать от умеренной диареи до угрожающего жизни энтероколита. У детей отмечаются выраженная диарея с потерей жидкости и белка, потеря аппетита и болевой синдром. Кроме того, данные симптомы могут сопровождаться повышением воспалительных маркеров (С-реактивный белок, прокальцитонин). Особое внимание должно уделяться пациентам с массивной антибактериальной терапией [13, 17].

Для диагностики кlostридиального энтероколита в российских условиях могут применяться следующие методики:

- оценка клинической картины;
- иммуноферментный анализ для определения кlostридиальных токсинов А и Б;
- ультразвуковая диагностика и компьютерная томография;
- эндоскопия с возможным взятием образца для гистологического исследования.

Токсин-специфичный иммуноферментный анализ является наиболее специфичным, достаточно быстрым и доступным способом определения наличия кlostридиального токсина. Важно, чтобы данный анализ был способен определять как токсин А, так и токсин Б. Важным замечанием является и то, что у пациентов в 5–10 % случаев может верифицироваться ложнопозитивный токсин и требуется ряд повторных проб для его исключения [5, 11, 12]. Также необходимо не забывать о возможном асимптомном носительстве *Cl. difficile*.

Важно упомянуть, что чувствительность метода у пациентов с нейтропенией снижена и даже при отсутствии верификации токсина при иммуноферментном анализе нельзя полностью исключить течение кlostридиального энтероколита. Поэтому могут рас-

считаться дополнительные методы дифференциальной диагностики и эмпирическая терапия, особенно в случае длительной диареи без верификации определенного возбудителя. При ультразвуковой диагностике и компьютерной томографии, по данным литературы, может отмечаться истончение стенки кишки, что характерно для длительно текущих деструктивных процессов. Однако в начале заболевания может визуализироваться и отечная утолщенная стенка кишки, связанная с массивными воспалительными процессами [2, 5, 9, 10, 12, 20].

При эндоскопическом исследовании у пациентов могут быть верифицированы возвышающиеся желто-белые бляшки 2–10 мм в диаметре, находящиеся на гиперемированной и отечной слизистой. Бляшки могут формировать псевдомембраны, которые обнаруживаются у 14–25 % пациентов (умеренные формы) и у 87 % больных с молниеносными угрожающими формами заболевания. Однако у пациентов с длительной нейтропенией и после трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) в большинстве тяжелых случаев может определяться неспецифический колит с картиной «лысой» и отечной кишки без образования псевдомембран. Данный вид исследования может быть противопоказан при высокой опасности перфорации и должен обсуждаться совместно с хирургической службой клиники [24, 25].

При гистологическом исследовании верифицируются воспалительные изменения с отеком слизистой оболочки и содержанием большого числа полиморфных нуклеарных клеток. Кроме того, возможна визуализация самих возбудителей. Картина энтероколита, связанного с *Cl. difficile*, представлена на рис. 3 [25, 28].

В ряде особых случаев, когда диагностика затруднена, может применяться тканевой культуральный цитотоксический тест. Однако он доступен лишь в ограниченном числе лабораторий. А одним из его ограничений является высокая чувствительность (более чем в 1000 раз) к токсину Б [8].

Частота возникновения клостридиальных энтероколитов у пациентов с гематологическими и онкологическими заболеваниями варьирует от 1,3 до 21,4 % и часто зависит от методов, применяемых для диагностики, и числа пациентов в выборке [2, 10, 11]. Ряд исследований показал, что у пациентов после химиотерапии, ТГСК и на фоне приема иммуносупрессивной терапии могут развиваться более тяжелые и устойчивые формы данного заболевания. В Российской Федерации ситуация несколько хуже общемировой за счет худших санитарно-гигиенических условий, бесконтрольного применения антибактериальных препаратов и несовершенства методов диагностики. В ряде отделений (особенно в 90-х годах) возникали целые «эпидемии» клостридиальных энтероколитов, иногда приводящих к летальным исходам.

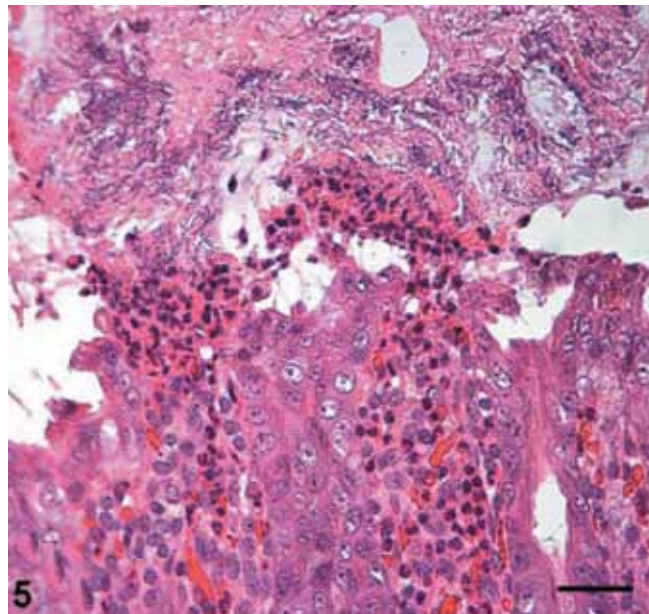


Рис. 3. Энтероколит, связанный с *Cl. difficile*

Лечение клостридиального энтероколита

Базовыми принципами терапии любой формы клостридиальных колитов у всех пациентов является коррекция антибактериальной терапии, адекватный жидкостный, электролитный и белковый баланс, контроль перистальтики кишки и инфекционных маркеров. Все больные должны получать специфическую терапию против *Cl. difficile* [1, 24, 30].

В настоящий момент доступны следующие агенты для лечения клостридиальных энтероколитов (знаком * отмечены препараты, доступные в Российской Федерации) [13, 30]:

- оральные ванкомицин*;
- оральные метронидазол*;
- внутривенные метронидазол*;
- оральные рифаксимин*;
- оральные нитазоксанид;
- бацитрацин, тейкопланин;
- пробиотики*;
- внутривенные иммуноглобулины*;
- токсинсвязывающие агенты (толевамер);
- фидаксомицин.

Немедикаментозные опции для лечения клостридиального энтероколита:

- хирургическое лечение;
- трансплантация бактериальной флоры здорового донора.

По данным литературы, стандартным режимом терапии является применение метронидазола или ванкомицина (р. о.) в течение 10–14 дней [1, 4, 22]. В ряде исследований было показано, что данные агенты сравнимы по эффективности, однако есть данные, доказывающие большую эффективность орального приема

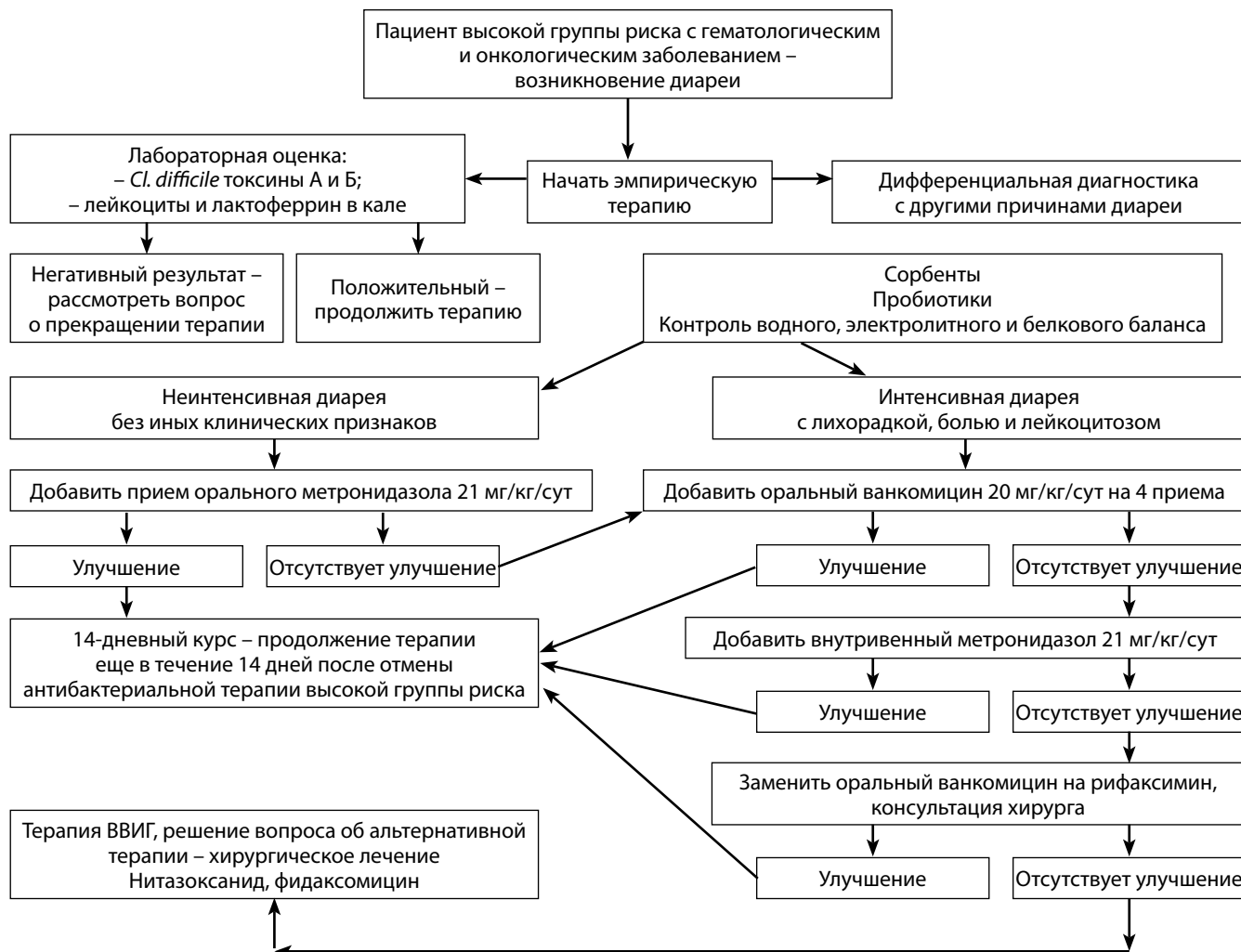


Рис. 4. Предлагаемая схема эмпирической терапии у пациентов группы высокого риска с подозрением на клостридиальный колит

ванкомицина у пациентов с гематологическими и онкологическими заболеваниями. Одно из исследований также показало более медленный эффект метронидазола в сравнении с ванкомицином [4]. Стоит отметить, что ванкомицин легче переносится и имеет меньшее число побочных эффектов. Согласно этим данным на рис. 4 представлена «классическая» схема терапии клостридиального энтероколита, которая может применяться при персистенции диареи у пациентов с нейтропенией как вариант эмпирической терапии.

В дополнение к указанным агентам должна применяться и адъювантная терапия, которая является другим интересным аспектом лечения клостридиальных колитов. Кроме того, остается под вопросом роль внутривенных иммуноглобулинов (ВВИГ) и пробиотиков. И если ВВИГ могут применяться в качестве заместительной терапии при снижении уровня сывороточных IgG в периферической крови ниже значения 500 мг/дл, то применение пробиотиков остается открытым вопросом, особенно у пациентов с тяжелым длительно теку-

щим энтероколитом, при котором стенка кишки выражено истончена. В нашей клинике зарегистрированы случаи сепсиса, связанного с приемом пробиотиков.

Остается открытым и вопрос лечения клостридиальных энтероколитов, рефрактерных к ванкомицину и метронидазолу. В настоящее время широко изучается возможность применения альтернативных агентов для достижения успеха. Сейчас наиболее распространены схемы с включением в терапию рифаксимины [7, 18] и нитазоксанида [6, 9, 27], однако из-за недоступности последнего на российском рынке он не был включен в схему, изображенную на рис. 4. Особо стоит отметить, что рифаксимин должен применяться в сочетании с внутривенным приемом метронидазола. Также в настоящее время в США зарегистрирован препарат фидаксомицин, который показал несколько большую эффективность в лечении клостридиальных энтероколитов и меньшее число побочных эффектов в сравнении с ванкомицином [14, 15]. Однако, как и нитазоксанид, данный агент недоступен на рынке Российской

Федерации. Также одним из вариантов терапии является применение тигециклина.

Интерес вызывает и наш собственный опыт профилактики клостридиальных колитов с помощью рифаксимины. Данный препарат достаточно давно известен и широко применяется для терапии широкого спектра состояний, например диареи путешественников и в ряде войск. Однако его активность показана и при клиническом применении. С декабря 2012 по декабрь 2013 г. 60 пациентов (мальчики/девочки = 40/20, средний возраст – $7,25 \pm 5,8$ года) отделения трансплантации костного мозга Российской детской клинической больницы получали рифаксимин в дозе 10 мг/кг/сут, разделенный на 2–3 приема (но не более 400 мг/сут) в качестве деконтаминации кишечника и далее эмпирически в случае развития у пациента диареи. Проводился скрининг на токсины А и Б каждые 2 нед или чаще в случае диареи. Пациенты со злокачественными заболеваниями и, как правило, с длительной историей антибактериальной терапии составили 61,7 % ($n = 37$). Распределение пациентов относительно видов ТГСК было следующим: аутологичная – 23,3 % ($n = 14$), аллогенная от неродственного донора – 46,6 % ($n = 28$), аллогенная от родственного донора – 16,7 % ($n = 10$), гаплоидентичная – 13,4 % ($n = 10$). В результате ни один из пациентов не развил признаков энтероколита, связанного с *Cl. difficile*. У одного из пациентов на достаточно позднем сроке от ТГСК при

рутинном исследовании кала был однократно верифицирован клостридиальный токсин без клинических признаков заболевания. Таким образом, метод профилактики клостридиального энтероколита рифаксимином может представлять интерес в профилактике и лечении клостридиальной инфекции на территории Российской Федерации.

Вопросы на будущее

По-прежнему лечение клостридиальных колитов проводится антибактериальными препаратами, имеющими не всегда высокую эффективность и ряд побочных действий. В настоящее время идет разработка «альтернативных» агентов для неантибактериальной адьювантной терапии [21, 24]. Сейчас проходят клинические испытания такие препараты, как толевамер, рамопланин и др. Важным аспектом является возможность применения в Российской Федерации фидаксомицина, который в настоящий момент не зарегистрирован в нашей стране [14, 15]. Кроме того, в разработке находятся специфическая вакцина и препарат – ингибитор токсинов А и Б [8, 30]. Таким образом, большой интерес исследователей связан прежде всего с профилактикой этого грозного осложнения как способом минимизировать вред здоровью пациента и затраты учреждений здравоохранения. На это направлена и предложенная нами выше схема профилактики клостридиальных энтероколитов.

ЛИТЕРАТУРА

- Al-Nassir W.N., Sethi A.K., Nerandzic M.M. et al. Comparison of clinical and microbiological response to treatment of *Clostridium difficile* associated disease with metronidazole and vancomycin. *Clin Infect Dis* 2008;47:56–62.
- Avery R., Pohlman B., Adal K. et al. High prevalence of diarrhea but infrequency of documented *Clostridium difficile* in autologous peripheral blood progenitor cell transplant recipients. *Bone Marrow Transplant* 2000;25:67–9.
- Bartlett J.G. Narrative review: the new epidemic of *Clostridium difficile*-associated enteric disease. *Ann Intern Med* 2006;145:758–64.
- Bartlett J.G. The case for vancomycin as the preferred drug for treatment of *Clostridium difficile* infection. *Clin Infect Dis* 2008;46:1489–92.
- Blossom D.B., McDonald L.C. The challenges posed by reemerging *Clostridium difficile* infection. *Clin Infect Dis* 2007;45:222–7.
- Bobak D.A. Clinical Trials Report: nitazoxanide to treat persistent *Clostridium difficile* colitis. *Curr Infect Dis Rep* 2008;10:89–90.
- Bobak D.A. Clinical Trials Report: rifaximin to treat recurrent *Clostridium difficile* colitis. *Curr Infect Dis Rep* 2008;10:90–1.
- Bobak D.A. The molecular pathogenesis of *Clostridium difficile* associated disease. *Curr Infect Dis Rep* 2008;10:111–5.
- Bobak D.A. Use of nitazoxanide for gastrointestinal tract infections: treatment of protozoan parasitic infection and beyond. *Curr Infect Dis Rep* 2006;8:91–5.
- Carling P.C., Parry M.F., Von Beheren S.M. Identifying opportunities to enhance environmental cleaning in 23 acute care hospitals. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2008;29:1–7.
- Chopra T., Chandrasekar P., Salimnia H. et al. Recent epidemiology of *Clostridium difficile* infection during hematopoietic stem cell transplantation. *Clin Transplant* 2011;25:82–7.
- Cloud J., Kelly C.P. Update on *Clostridium difficile* associated disease. *Curr Opin Gastroenterol* 2007;23:4–9.
- Cohen S.H., Gerding D.N., Johnson S. et al. Clinical practice guidelines for *Clostridium difficile* infection in adults: 2010 update by Society for Healthcare Epidemiology of America (SHEA) and the Infectious Diseases of America (IDSA). *Infect Control Hosp Epidemiol* 2010;31:431–55.
- Cornely O.A., Miller M.A., Louie T.J. et al. Treatment of first recurrence of *Clostridium difficile* infection: fidaxomicin versus vancomycin. *Clin Infect Dis* 2012; 55 Suppl 2:S154–61.
- Crawford T., Huesgen E., Danziger L. Fidaxomicin: a novel macrocyclic antibiotic for the treatment of *Clostridium difficile* infection. *Am J Health Syst Pharm* 2012;69(11):933–43.
- Didelot X., Eyre D.W., Cule M. et al. Microevolutionary analysis of *Clostridium difficile* genomes to investigate transmission. *Genome Biol* 2012;13(12):R118.
- Drekonja D.M., Butler M., MacDonald R. et al. Comparative effectiveness of *Clostridium difficile* treatments: a systematic review. *Ann Intern Med* 2011;155:839–47.
- Garey K.W., Salazar M., Shah D. et al. Rifamycin antibiotics for treatment of *Clostridium difficile* associated diarrhea. *Ann Pharmacother* 2008;42:827–35.
- Genth H., Dreger S.C., Huelsenbeck J., Just I. *Clostridium difficile* toxins: more than

- mere inhibitors of Rho proteins. *Int J Biochem Cell Biol* 2008;40:592–7.
20. Hu M.Y., Katchar K., Kyne L. et al. Prospective derivation and validation of a clinical prediction rule for recurrent *Clostridium difficile* infection. *Gastroenterology* 2009;136:1206–14.
21. Koo H.L., Koo D.C., Musher D.M., DuPont H.L. Antimotility agents for the treatment of *Clostridium difficile* diarrhea and colitis. *Clin Infect Dis* 2009;48:598.
22. Kuijper E.J., Wilcox M.H. Decreased effectiveness of metronidazole for the treatment of *Clostridium difficile* infection? *Clin Infect Dis* 2008;47:63–5.
23. Kurtz L.E., Yang S.S., Bank S. *Clostridium difficile*-associated small bowel enteritis after total proctocolectomy in a Crohn's disease patient. *J Clin Gastroenterol* 2010;44:76–7.
24. McFarland L.V. Update on the changing epidemiology of *Clostridium difficile*-associated disease. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol* 2008;5:40–8.
25. Missaghi B., Valenti A.J., Owens R.C. Jr. *Clostridium difficile* infection: a critical overview. *Curr Infect Dis Rep* 2008;10:165–73.
26. Monaghan T., Boswell T., Mahida Y.R. Recent advances in *Clostridium difficile*-associated disease. *Gut* 2008;57:850–60.
27. Musher D.M., Logan N., Hamill R.J. et al. Nitazoxanide for the treatment of *Clostridium difficile* colitis. *Clin Infect Dis* 2006;43:421–7.
28. Owens R.C. Jr, Valenti A.J. *Clostridium difficile*-associated disease in the new millennium: 'the perfect storm' has arrived. *Infect Dis Clin Pract* 2007;15:299–315.
29. Vega F.M., Ridley A.J. Rho GTPases in cancer cell biology. *FEBS Lett* 2008;582:2093–101.
30. Wénisch J.M., Schmid D., Tucek G. et al. A prospective cohort study on hospital mortality due to *Clostridium difficile* infection. *Infection* 2012;40:479–84.