

Вариабельность генома измененных вариантов *Vibrio cholerae* биовара эльтор, изолированных на территории России в современный период. Молекулярная генетика, микробиология, вирусология. 2011; 3: 11–8.

10. **Миронова Л.В., Афанасьев М.В., Балахонов С.В.** и др. Молекулярно-эпидемиологическая характеристика атипичных токсигенных клонов *Vibrio cholerae* eltor. В кн.: *Холера и патогенные для человека вибрионы: Материалы совещания и проблемной комиссии*. 2011; 24: 97–101.

REFERENCES

1. **Mazrukho A.B., Moskvitina E.A., Kruglikov V.D., Prometnoy V.I., Cherepakhina I.Ya., Vodyanitskaya S.Yu.** et al. Actions towards prevention of cholera import to the territory of Rostov region and other areas of Russian Federation in connection of the complication of epidemic situation in Ukraine in 2011. In: *Cholera and Vibrio human pathogens: Materials of Problem Committee*. Rostov-on-Don; 2012; 25: 31–9 (in Russian).
2. Sanitary regulations SP 3.1.1.2521-09: Prophylaxis of cholera. General requirements to epidemiological inspection of cholera on the territory of Russian Federation. Moscow: Federal Center of Hygiene and Epidemiology of Rospotrebnadzor; 2009 (in Russian).
3. Metodic directives MUK 4.2.2870-11: Procedure of organization and conduction of laboratory diagnostics of cholera for laboratories of territorial, regional and federal levels. Moscow: Federal Center of Hygiene and Epidemiology of Rospotrebnadzor; 2011 (in Russian).
4. Metodic directives MUK 4.2.2218-07: Laboratory diagnostics of

cholera. Moscow: Federal Center of Hygiene and Epidemiology of Rospotrebnadzor; 2007 (in Russian).

5. **Monakhova E.V., Smolikova L.V., Bozhko N.V.** PCR detection of the type three secretion system (TTSS) genes and other pathogenicity/persistence factors in *Vibrio cholerae* of different serogroups. *Epidemiol. i Inf. Bolezny*. 2010; 6: 20–5 (in Russian).
6. **Vodop'ianov S.O., Oleinikov I.P., Goncharov E.K., Duvanova O.V., Mishan'kin M.B., Suchkov I.Yu.** et al. Variable tandem repeat Vca of *Vibrio cholerae*. *Mol. Biol.* 2002; 36 (6): 1074–9 (in Russian).
7. **Monakhova E.V., Smolikova L.V., Bozhko N.V.** Study of expression of contact-dependent secretion systems in *Vibrio cholerae* on the model of *Dictyostelium discoideum*. *Zh. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol.* 2010; 4: 89–92 (in Russian).
8. **Shashkova A.V., Agafonov D.A., Cherkasov A.V., Zadnova S.P., Smirnova N.I.** Phenotypic and molecular-genetic analysis of genetically modified toxigenic *Vibrio cholerae* El Tor strain 301, isolated in 2011 in Russia. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2012; 4 (114): 61–4 (in Russian).
9. **Smirnova N.I., Zadnova S.P., Shashkova A. V., Kutyrev V.V.** Genome variability in the altered variants of *Vibrio cholerae* El Tor isolated to the area of Russia. *Cholera and Vibrio human pathogens. Mol. Genet., Mikrobiol., Virusol.* 2011; 3: 11–8 (in Russian).
10. **Mironova L.V., Afanasyev V.V., Balakhonov S.V., Urbanovich L.Ya., Basov E.A., Polovinkina V.S.** et al. Molecular-epidemiological characterization of atypical toxigenic *Vibrio cholerae* El Tor clones. In: *Cholera and Vibrio human pathogens: Materials of conference and Problem Committee*. Rostov-on-Don; 2011; 24: 97–101 (in Russian).

Поступила 19.04.13

ОБЗОРЫ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2013

УДК 616.34-002-022:579.852.13]-078

Н.М. Гюлазян¹, О.Ф. Беляя², В.А. Малов², С.Г. Пак²

ТОКСИНЫ А И В *C. DIFFICILE* ГЛАЗАМИ КЛИНИЦИСТА

¹Ереванский государственный медицинский университет им. М. Гераци Министерства образования и науки Армении, Ереван, 0025, ул. Корюна, 2; ²Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России, Москва, 119991, ул. Трубецкая, 8, стр. 2

На сегодняшний день C. difficile рассматривается как этиологический фактор псевдомембранозного колита и антибиотико-ассоциированной диареи, а также как ведущая причина внутрибольничных диарей распространенных преимущественно в экономически развитых странах. Сложность лабораторно-экспериментального исследования инфекции заключается в том, что микроб не поддается генетическим манипуляциям. Вместе с тем большинство госпитальных и муниципальных лабораторий не имеют возможности проводить исследования по обнаружению токсинов C. difficile, что ограничивает возможности истинной оценки распространения этого заболевания в РФ.

Ключевые слова: острые кишечные инфекции; патогенетические механизмы действия токсинов клостридий; псевдомембранозный колит; антибиотико-ассоциированная диарея; детекция клостридиальных токсинов

N.M. Gyulazyan¹, O.F. Belaya², V.A. Malov², S.G. Pak²

C. DIFFICILE TOXINS A AND B FROM THE CLINICIAN'S VIEWPOINT

¹*Yerevan State Medical University after Mkhitar Heratsi, 2 Koryun street, Yerevan, Armenia, 0025*

²*I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, 8-2, Trubetskaya Str., Moscow, Russia, 119991*

To date, C. difficile is considered as an etiological factor in pseudomembranous colitis and antibiotic-associated diarrhea as well as the main cause of nosocomial diarrhea spread mainly in economically developed countries. The complexity of laboratory and experimental studies of infection is what the microbe cannot be genetically manipulated. At the same time, the most of hospital and municipal laboratories have no the possibility to carry out research on detection C. difficile toxins, that limits the resource of real estimation of the spread of the disease in the Russian Federation.

Key words: acute intestinal infections; pathogenic mechanisms of action of clostridial toxins; pseudomembranous colitis; antibiotic-associated diarrhea; detection of clostridial toxins

С тех пор как E. Roux и A. Yersin в 1888 г. впервые выделили от больного дифтерийный токсин и продемонстрировали его токсические свойства на экспериментальной модели, бактериальные токсины (БТ) были признаны ведущими факторами патогенности, играющими исключительную роль в патогенезе многих бактериальных инфекций [1–5]. БТ оказались тонким молекулярным инструментом, вмешивающимся во внутриклеточные процессы, изменяя дифференцировку, пролиферацию, рост, метаболизм чувствительных клеток и как следствие, нарушая их интегративные связи, эффекторные функции вплоть до гибели посредством индукции апоптоза. Столь активное участие в развитии инфекционного процесса на клеточном уровне не может не оказывать системного действия на организм [1, 6].

Так, установлено, что различные бактерии способны вырабатывать сходные токсины, что в клинике инфекционных болезней проявляется сходством клинических проявлений различных по этиологии заболеваний. Группа острых кишечных инфекций (ОКИ) является одной из наиболее полиэтиологичных, их клинические проявления в основном сведены в несколько синдромов, например интоксикации, диарейный и др. Нередко энтеропатогенные бактерии вырабатывают не один, а несколько токсинов, что также может оказывать влияние на клиническую манифестацию заболевания.

Бактерии вырабатывают сотни различных белковых токсинов, которые могут быть разделены в зависимости от характера взаимодействия с клетками и вызываемого эффекта на 5 групп: 1) повреждающие клеточные мембраны; 2) ингибиторы синтеза белка; 3) активирующие пути метаболизма, контролируемые посредниками (мессенджерами); 4) протеазы; 5) суперантигены, активирующие иммунный ответ макроорганизма. К 3-й группе относятся токсины A и B *S. difficile* (TcdA, TcdB, *S. dif.*) [5].

Впервые *S. dif.* были описаны в середине 1930-х годов I. Hall и E. O'Toole, но только в 1978 г. они были идентифицированы как этиологический фактор тяжелого поражения кишечника, обозначаемого как псевдомембранозный колит (ПМК), а позже и как возбудитель антибиотико-ассоциированной диареи (ААД) [3, 7, 8].

На сегодняшний день *S. dif.* рассматривается как ведущая причина внутрибольничных диарей, распространенных преимущественно в экономически развитых странах [7]. Проспективное исследование на основании анализа 2462 историй болезней 5 стационаров Швеции показало, что частота развития ААД составляет 4,9% [9]. В США, по расчетным данным, ежегодно возникает свыше 250 000 случаев *S. dif.* – АДД, экономический ущерб от которых ежегодно составляет около 1 млрд долл. США [10, 11].

Для корреспонденции: Гюлазян Наира Мартуновна, доктор мед. наук, проф. каф. инфекционных болезней ЕГМУ им. М. Гераци, Ереван, Армения, e-mail: g.naira@rambler.ru

Широкому распространению *S. dif.* и возрастанию их удельного веса в структуре ОКИ способствуют несколько факторов, среди которых особое место занимают: а) высокая устойчивость к факторам внешней среды и дезинфицирующим средствам спор *S. dif.*, в результате чего инфицирование людей происходит даже при кратковременном пребывании в стационаре; б) широкое применение в клинической практике антимикробных, химиотерапевтических и других препаратов, нарушающих микробиоценоз кишечника и способствующих развитию инфекции; в) несовершенство или неадекватное использование методов диагностики.

Сложность лабораторно-экспериментального исследования инфекции *S. dif.* заключается в том, что микроб не поддается генетическим манипуляциям и до сих пор не получены изогенные штаммы, дефицитные по токсинообразованию. Только относительно недавно от больных были изолированы штаммы, способные вырабатывать только один токсин [12, 13].

На сегодняшний день выделяют по крайней мере 14 серогрупп *S. dif.*, но это имеет лишь относительное клиническое значение, поскольку токсинообразование не зависит от серогруппы. В результате обмена генетической информацией между *S. dif.* различные штаммы могут различаться между собой и классифицироваться по токсинотипам, которых выделяют свыше 20 [8].

Гены, кодирующие синтез токсинов TcdA и TcdB *S. dif.* (tcdA и tcdB), локализованы в локусе патогенности 19,6 kb (PaLoc), включающем еще 3 гена – tcdD, tcdE и tcdC, роль которых до сих пор остается неясной. Нетоксигенные штаммы не имеют данного локуса, не способны вырабатывать токсин и вызывать заболевание у людей [14].

Исследования структуры генома *S. dif.* свидетельствуют также о наличии гена txeR, который расположен выше группы генов, кодирующих синтез токсинов. Как показали исследования, белок TxeR, кодируемый txeR-геном, необходим для экспрессии tox-генов *in vivo* и активизации транскрипции tox-генов *in vitro* вместе с РНК-полимеразами *S. dif.*, *V. subtilis* или *E. coli* [15].

Экспрессия продукции TcdA и TcdB происходит в log-фазе и стационарной фазе роста вегетирующих форм в ответ на различные сигналы окружающей среды. Точный характер сигналов окружающей среды, модулирующих экспрессию токсина, остается неясным. В исследованиях *in vitro* установлено, что экспрессия токсина может быть увеличена стрессом (в том числе в результате воздействия антибиотиков) и подавлением катаболизма. Исходя из значения антибиотиков в развитии ПМК, внимание исследователей было сфокусировано на потенциальном влиянии различных антибиотиков на токсинообразование. Субингибирующие уровни пенициллина и ванкомицина увеличивали токсинообразование в перевиваемых культурах *S. dif.* [16], однако после проведения дополнительных исследований мысль о

том, что антибиотики могут быть специфическими индукторами экспрессии токсина, поддержана не была. Однако теоретически до сих пор допускается мысль, что антибиотики могут индуцировать экспрессию токсинов *S. dif.* посредством стрессового воздействия.

TcdA и TcdB, вырабатываемые *S. dif.*, входят в семейство так называемых больших кластридиальных токсинов, в которое входят также летальный и геморрагический токсины *S. sordellii* [8, 17] и α -токсин *S. novyi*, основной мишенью которых являются внутриклеточные белки проводящих сигнальных путей клетки. Данные вещества представляют собой единую полипептидную цепь массой 250–308 кД. На N-концевом участке локализован ферментативный домен, опосредующий модификацию эукариотических белков-мишеней путем присоединения к ним остатков гексозы [8].

Выделяемые из клинических образцов штаммы *S. dif.* могут различаться по количеству синтезируемых токсинов и их биологической активности. Как показывают многочисленные исследования, большинство штаммов, выделенных от больных, вырабатывают оба токсина, но описаны наблюдения, когда изолировались не продуцирующие токсины штаммы или вырабатывающие только один из токсинов [13].

Как и для любых белковых бактериальных экзотоксинов, ключевым этапом в реализации клеточных эффектов является взаимодействие и связывание токсина с рецепторами на клетках-мишенях. Рецептором для TcdA, как показывают исследования, является дисахарид Gal β_1 -4GlcNAc. Данный дисахарид обнаружен в антигенах крови I, X, и Y и присутствует на различных типах клеток [18].

Различные виды животных восприимчивы к действию токсина A, но у них необязательно обнаруживаются абсолютно идентичные рецепторы. Так, например, известно, что у некоторых животных TcdA связывается с Gal α_1 -3Gal β_1 -4GlcNAc [19], но данный рецептор не обнаруживается в клетках человека. Важность данного дисахарида в связывании TcdA подтверждается наблюдениями, что обработка клеток или тканей галактозидазой снижает связывание токсина [19, 20]. На эпителиальных клетках кишечника кроликов был описан еще один рецептор TcdA, представляющий собой по химической структуре сукрозу-изомальтозу, но данной структуры также не было обнаружено в кишечнике людей. Еще более сложным остается вопрос идентификации рецепторов для TcdB. Как показывают многочисленные исследования, он демонстрирует широкие возможности взаимодействия с различными типами клеток, в силу чего делается заключение об убиквитарном распространении рецепторов, хотя сами они пока остаются неидентифицированными.

Процесс транслокации токсинов, как показывают исследования, является не менее важным этапом в реализации биологической активности токсинов,

чем процесс их связывания с рецепторами. Поскольку поступление токсинов в клетку происходит рецептор-опосредованным эндоцитозом, их цитотоксические эффекты могут быть полностью ингибированы при использовании различных лизосомотропных ингибиторов, как, например, бафиломицин А или хлористый аммоний [21]. Позднее было установлено, что предотвращение слияния эндосом с лизосомами также способно снижать активность TcdB [22]. Требование транслокации токсинов в эндосомах с низким рН, как оказалось, также исключительно важно для реализации их биологической активности, поскольку кислая среда способствует необходимым структурным изменениям и именно посредством рН-зависимого механизма происходит формирование TcdB-каналов в липидном бислое. Длительное время было неясно, целая молекула токсина или только его каталитический домен транслоцируется в цитоплазме. И только относительно недавно [23] было установлено, что в результате протектолитического расщепления только N-терминальная область каталитического домена TcdB выходит из эндосомы и получает доступ к субстрату.

Классическим признаком воздействия TcdA и TcdB на клетки-мишени является изменение организации актина цитоскелета [24, 25], что, как полагают, предшествует гибели клетки. Будучи гликозилтрансферазами, как TcdA, так и TcdB инактивируют маленькие GTPазы, к числу которых относятся белки Rho (изоформы Rho A, B и C убиквитарно обнаруживаются в эукариотических клетках млекопитающих), Rac и Cdc42, которые являются первичными регуляторами актина цитоскелета [26, 27]. Инактивация маленьких GTPаз приводит к конденсации актина, последующему округлению клетки, вспениванию мембраны, апоптозу и гибели клетки-мишени. Оба токсина проявляют свою активность на широком диапазоне типов клеток. TcdB демонстрирует более высокую энзиматическую активность, чем TcdA (на различных типах клеток они могут различаться в 4–200 раз!) [11]. Округление клетки наблюдается менее чем через 2 ч после начала экспозиции TcdB, тогда как гибель клетки не наступала ранее чем через 24 ч [28].

Выраженный временной интервал от первых проявлений действия токсина на клетку до индукции ее апоптоза свидетельствует о более сложном механизме действия токсинов на клетки-мишени. В связи с этим допускается, что токсины могут вызывать физиологические ответные реакции клетки, непосредственно не связанные с регуляцией актина цитоскелета, например стимулировать продукцию цитокинов. В частности, известно, что TcdA и TcdB вовлечены в клеточный хемотаксический ответ при инфекции *S. dif.* [29], однако это представляется несколько парадоксальным, поскольку необходимые для этого процесса первичные клеточные факторы Rho, Rac и Cdc42 инактивируются. TcdB способен изменять активность фосфолипазы A2 в токсиноработанных клетках, причем этот процесс также

модулируется независимо от событий, связанных с изменением в цитоскелете клетки [30]. TcdA способен дифференцированно активировать экспрессию хемокинов эпителиальными клетками кишечника у человека и повышать проницаемость монослоя эпителиальных клеток кишечника [31], что может служить дополнительными механизмами, увеличивающими выраженность воспалительной реакции в кишечнике.

TcdA стимулирует выработку цитокинов, которые занимают важное место в развитии ПМК [32]. Показано, что он индуцирует секрецию ИЛ-8 и кислородных радикалов колоноцитами человека [33], а также способен активировать протеинкиназы в моноцитах человека с продукцией ИЛ-8, причем данный механизм также независим от инактивации Rho [34]. Активация секреции ИЛ-8 зависела от способности TcdA поступать в чувствительные клетки и активировать NF- κ B и AP-1.

Кроме того, имеются наблюдения, что ИЛ-11 способен ингибировать TcdA-обусловленные повреждения путем блокирования высвобождения таких медиаторов воспаления, как ФНО α и макрофагальный воспалительный протеин-2 [35]. Оказалось, что фактор, усиливающий кишечную секрецию, индуцированную TcdA, синтезируется кишечными макрофагами посредством ИЛ-1 β -зависимого механизма, который, возможно, также играет важную роль в развитии воспаления при инфекции *S. dif.* Дополнительно к инфильтрации слизистой оболочки нейтрофилами, макрофаги и тучные клетки также отвечают на TcdA, содействуя развитию воспалительной реакции через ФНО α [32].

И все же апоптоз является конечным результатом действия TcdA и TcdB на все клетки-мишени, хотя окончательно механизм его индукции и пути развития продолжают интенсивно изучаться. Исследования на линиях эпителиальных клеток кишечника показали, что механизм развития апоптоза проходил через активацию каспаз 3, 6, 8, 9 и активацию Bid с последующим нарушением потенциала митохондриальной мембраны и высвобождением цитохрома C [6]. В то же время имеются наблюдения, что TcdA способен индуцировать апоптоз независимо от инактивации Rho-белка. Так, обработка эпителиальных клеток TcdA приводила к его накоплению в митохондриях уже через 5 мин от начала экспозиции, что предшествовало гликозилированию Rho-белков. Это наблюдение свидетельствует, что апоптоз может быть индуцирован путем разрушения митохондрий, что служит промотором последующих проапоптотических изменений [36].

TcdB также способен индуцировать апоптоз. Исследованиями на клетках HeLa установлено, что TcdB может индуцировать апоптоз двумя путями: каспазозависимым и каспазанезависимым [28]. Первый путь реализуется через активацию каспазы-3 и протекает с параллельной потерей клеткой виментина (промежуточного филамента), играющего

важную роль в интеграции клеточных структур и поддержании морфологии клетки, тогда как каспазанезависимый путь опосредован специфической инактивацией субстрата.

Клиническая картина заболевания, вызванного *S. dif.*, характеризуется широким диапазоном проявлений: от легкой, кратковременной и самокупирующейся диареи до тяжелого поражения преимущественно толстой кишки с формированием язв и эрозий, покрытых фибринозным налетом, что эндоскопистами описывается как псевдомембранозные наложения, что собственно и дало основание обозначать самую тяжелую форму заболевания как ПМК. Патоморфологические изменения, выявляемые в слизистой оболочке толстой кишки, характеризуются развитием выраженного воспаления, которое, вероятно, обусловлено локальным действием TcdA и TcdB. Во всяком случае на экспериментальных животных с использованием токсинов моделировался процесс, идентичный тому, что выявляется у людей с ПМК [37].

Поскольку TcdA в большей степени демонстрировал способность к аккумуляции жидкости в лигированной петле кишечника лабораторных животных, экспериментальные исследования преимущественно проводились именно с этим токсином. В число наиболее важных эффектов входят: индукция воспаления, повышение проницаемости эпителиальных клеток, разрушение плотных эпителиальных соединений, продукция цитокинов и хемокинов, инфильтрация слизистой оболочки ПМЯЛ, продукция кислородных радикалов, активация тучных клеток [33], прямое повреждение клеток слизистой оболочки кишечника, подобно тому, что наблюдается у больных с ПМК. Описанные эффекты способствуют рекрутированию нейтрофилов в зону воспаления, их прямому взаимодействию с TcdA и индукции выработки медиаторов воспаления. На экспериментальной модели (кролики) было установлено, что TcdA связывается с нейтрофилами посредством, вероятно, рецептора, подобному G-белку. Кроме того, было установлено, что блокирование молекул адгезии лейкоцитов (CD18) предотвращало TcdA-индуцированную миграцию нейтрофилов. В развитии воспаления определенное значение имеют экспрессия макрофагального воспалительного протеина-2, а также рецепторы к нему и хемокин CCR1.

Интересные результаты исследований были получены при изучении синергизма действия TcdB и ЛПС на выработку ФНО α и экспрессию CD14 мононуклеарными фагоцитами. Воздействие на моноциты TcdB уже через 5 ч экспозиции приводило к сверхэкспрессии CD14 с тенденцией к снижению этого показателя по истечении 24 ч. Макрофаги при идентичных условиях демонстрировали сохранение сверхэкспрессии даже после 24 ч. На основании исследований авторы заключают, что модуляция экспрессии CD14 зависит от статуса дифференцировки

клетки и, возможно, от состояния активации [38].

Частота выявления штаммов *C. dif.*, не вырабатывающих TcdA-штаммы, из клинических образцов составляет около 11%, однако обращают на себя внимание и другие данные [39], согласно которым происходит неуклонный рост высева не вырабатывающих TcdA от больных с тяжелым течением заболевания. По сути сложившаяся ситуация требует проведения дополнительных клинических исследований, способствующих объяснению патогенеза инфекции *C. dif.* без участия TcdA. Данная ситуация представляется еще более интригующей, если учитывать данные о том, что один TcdB (без предварительного введения TcdA) не проявляет своей активности и не способен вызвать повреждения слизистой оболочки кишечника [40]. В то же самое время сравнительный анализ клинического течения заболеваний, вызванных TcdA-продуцирующими и не продуцирующими штаммами *C. dif.*, не показал никаких существенных различий [12].

Хотя в большинстве клинико-экспериментальных исследований особое внимание уделялось TcdA как ведущему фактору патогенности *C. dif.* В последующем было опубликовано значительное количество клинических наблюдений, в которых указывалось об изоляции от больных штаммов *C. dif.*, вырабатывающих только один TcdB, в том числе и от больных с клинической картиной тяжелого ПМК.

Таким образом, современная ситуация характеризуется сменой циркулирующих клонов *C. dif.* с широким распространением штаммов, не продуцирующих один из ведущих факторов патогенности, а именно TcdA [41]. Более того, в разных странах мира были зарегистрированы крупные внутрибольничные вспышки диарейных заболеваний, обусловленные *C. dif.*, недостаточно продуцирующие токсины А и В и бинарный токсин [42–44].

Среди методов детекции TcdA и TcdB *C. dif.* следует отметить следующие: стандартный токсигенный культуральный метод, illumigenetm loop-mediated isothermal amplification (LAMP) assay (Meridian), Vidas *C. difficile* A&B (VIDAS-CDAB), RIDASCREEN^r enzyme immunoassay (EIA) (R-Biopharm), *C. difficile* Quik Chek (Techlab), *C. difficile* Tox A/B II EIA Kit (Techlab), Triage panel, Culturette brand rapid latex test for *C. difficile* toxin A, диагностикумы для выявления токсинов А и В *C. difficile* в РКА на планшетах, ImmunoCard Toxins A&B, Premier toxin A&B [2, 7, 11, 45–49].

К сожалению, большинство госпитальных и муниципальных лабораторий не имеют возможности проводить исследования по обнаружению токсинов *C. dif.*, что ограничивает возможности истинной оценки распространения этого заболевания в РФ. По этой причине в литературе мало представлены клинические наблюдения, посвященные изучению влияния определяемых токсинов на особенности течения заболеваний, обусловленных *C. dif.* [2].

Необходимость более четкого определения роли и значения БТ в патогенезе инфекционных заболева-

ний требует продолжения разработки и усовершенствования методов их диагностики, открывает принципиально новые возможности в лечении и профилактике заболеваний, вызываемых *C. difficile*.

ЛИТЕРАТУРА

1. **Вертуев Ю.В.** Бактериальные токсины: Биологическая сущность и происхождение. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 1996; 3: 43–6.
2. **Гюлазян Н.М., Белая О.Ф., Белый Ю.Ф., Пак С.Г.** Выявление маркеров токсинов клостридий при различных вариантах течения острых кишечных инфекций. Клиническая лабораторная диагностика. 2008; 3: 46–9.
3. **Малов В.А.** Антибиотикоассоциированные диареи. Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2002; 1: 22–32.
4. **Finlay B.B., Falkow S.** Common themes in microbial pathogenicity revisited. Microbiol. Mol. Biol. Rev. 1997; 61: 136–69.
5. **Schmitt C.K., Meysick K.C., O'Brien A.** Bacterial toxins: friends or foes? Emerg. Infect. Dis. 1999; 5 (2): 224–34.
6. **Brito G.A., Fujii J., Carneiro-Filho B.A.** et al. Mechanism of Clostridium difficile toxin A-induced apoptosis in T84 cells. J. Infect. Dis. 2002; 186: 1438–47.
7. **Bartlett J.G., Gerding D.N.** Clinical recognition and diagnosis of Clostridium difficile infection. Clin. Infect. Dis. 2008; 46 (Suppl. 1): S12–8.
8. **Hatheway C. L.** Toxigenic Clostridia. Clin. Microbiol. Rev. 1990; 66–98.
9. **Wistrom J., Norrby S.R., Myhre E.B.** Frequency of antibiotic-associated diarrhoea in 2462 antibiotic-treated hospitalized patients; a prospective study. J. Antimicrob. Chemother. 2001; 47: 43–50.
10. **Kyne L., Hamel M.B., Polavaram R., Kelly C.P.** Health care costs and mortality associated with nosocomial diarrhea due to Clostridium difficile. Clin. Infect. Dis. 2002; 34: 346–53.
11. **Wilkins T.D., Lyerly D.M.** Clostridium difficile testing: after 20 years, still challenging. J. Clin. Microbiol. 2003; 41: 531–4.
12. **Johnson S., Kent S.A., O'Leary K.J.** et al. Fatal pseudomembranous colitis associated with a variant Clostridium difficile strain not detected by toxin A immunoassay. Ann. Intern. Med. 2001; 135: 434–8.
13. **Rupnik M., Kato N., Grabnar M., Kato H.** New types of toxin A-negative, toxin B-positive strains among Clostridium difficile isolates from Asia. J. Clin. Microbiol. 2003; 41: 1118–25.
14. **Cohen S.H., Tang Y.J., Silva J. Jr.** Analysis of the pathogenicity locus in Clostridium difficile strains. J. Infect. Dis. 2000; 181: 659–63.
15. **Mani N., Dupuy B.** Regulation of toxin synthesis in Clostridium difficile by an alternative RNA polymerase sigma factor. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2001; 98: 5844–9.
16. **Onderdonk A.B., Lowe B.R., Bartlett J.G.** Effect of environmental stress on Clostridium difficile toxin levels during continuous cultivation. Appl. Environ. Microbiol. 1979; 38: 637–41.
17. **Just I., Hoffman F.** et al. Inactivation of Ras by Clostridium sordellii lethal toxin-catalyzed glucosylation. J. Biol. Chem. 1996; 271: 10 149–53.
18. **Tucker K.D., Wilkins T.D.** Toxin A of Clostridium difficile binds to the human carbohydrate antigens I, X, and Y. Infect. and Immun. 1991; 59: 73–8.
19. **Krivan H.C., Clark G.F., Smith D.F., Wilkins T.D.** Cell surface binding site for Clostridium difficile enterotoxin: evidence for a glycoconjugate containing the sequence Gal α -3Gal β -4GlcNAc. Infect. and Immun. 1986; 53: 573–81.
20. **Smith J.A., Cooke D.L., Hyde S., Borriello S.P., Long R.G.** Clostridium difficile toxin A binding to human intestinal epithelial cells. J. Med. Microbiol. 1997; 46: 953–8.
21. **Florin I., Thelestam M.** Internalization of Clostridium difficile cytotoxin into cultured human lung fibroblasts. Biochim. Biophys. Acta. 1983; 763: 383–92.
22. **Florin I., Thelestam M.** Lysosomal involvement in cellular intoxication with Clostridium difficile toxin B. Microb. Pathog. 1986; 1: 373–85.

23. Pfeifer G., Schirmer J., Leemhuis J. et al. Cellular uptake of Clostridium difficile toxin B. Translocation of the N-terminal catalytic domain into the cytosol of eukaryotic cells. *J. Biol. Chem.* 2003; 278: 44 535–41.
24. Mitchell M.J., Laughon B.E., Lin S. Biochemical studies on the effect of Clostridium difficile toxin B on actin in vivo and in vitro. *Infect. and Immunity.* 1987; 55: 1610–5.
25. Wedel N., Toselli P., Pothoulakis C. et al. Ultrastructural effects of Clostridium difficile toxin B on smooth muscle cells and fibroblasts. *Exp. Cell Res.* 1983; 148: 413–22.
26. Giesemann T., Egerer M., Jank T., Aktories K. Processing of Clostridium difficile toxins. *J. Med. Microbiol.* 2008; 57: 690–6.
27. Jank T., Giesemann T., Aktories K. Rho-glucosylating Clostridium difficile toxins A and B: new insights into structure and function. *Glycobiology.* 2007; 17 (4): 15S–22.
28. Qa'Dan M., Ramsey M., Daniel J. et al. Clostridium difficile toxin B activates dual caspase-dependent and caspase-independent apoptosis in intoxicated cells. *Cell. Microbiol.* 2002. 4: 425–34.
29. Souza M.H., Melo-Filho A.A., Rocha M.F. et al. The involvement of macrophage-derived tumour necrosis factor and lipooxygenase products on the neutrophil recruitment induced by Clostridium difficile toxin B. *Immunology.* 1997; 91: 281–8.
30. Shoshan M.C., Florin I., Thelestam M. Activation of cellular phospholipase A2 by Clostridium difficile toxin B. *J. Cell. Biochem.* 1993; 52: 116–24.
31. Chen M.L., Pothoulakis C., LaMont J.T. Protein kinase C signaling regulates ZO-1 translocation and increased paracellular flux of T84 colonocytes exposed to Clostridium difficile toxin A. *J. Biol. Chem.* 2002; 277: 4247–54.
32. Flegel W.A., Müller F., Däubener W. et al. Cytokine response by human monocytes to Clostridium difficile toxin A and toxin B. *Infect. and Immunity.* 1991; 59: 3659–66.
33. He D., Sougioultzis S., Hagen S. et al. Clostridium difficile toxin A triggers human colonocyte IL-8 release via mitochondrial oxygen radical generation. *Gastroenterology.* 2002; 122: 1048–57.
34. Warny M., Keates A.C., Keates S. et al. p38 MAP kinase activation by Clostridium difficile toxin A mediates monocyte necrosis, IL-8 production, and enteritis. *J. Clin. Invest.* 2000; 105: 1147–56.
35. Castagliuolo I., Kelly C.P., Qiu B.S. et al. IL-11 inhibits Clostridium difficile toxin A enterotoxicity in rat ileum. *Am. J. Physiol.* 1997; 273: G333–41.
36. He D., Hagen S.J., Pothoulakis C. et al. Clostridium difficile toxin A causes early damage to mitochondria in cultured cells. *Gastroenterology.* 2000; 119: 139–50.
37. Savidge T.C., Pan W.H., Newman P. et al. Clostridium difficile toxin B is an inflammatory enterotoxin in human intestine. *Gastroenterology.* 2003; 125: 413–20.
38. Siffert J.-C., Müller Ch.D., Dumont S. et al. CD14 expression by human mononuclear phagocytes is modulated by Clostridium difficile toxin B. *Microb. Infect.* 1999; 1: 1159–62.
39. Samra Z., Talmor S., Bahar J. High prevalence of toxin A-negative toxin B-positive Clostridium difficile in hospitalized patients with gastrointestinal disease. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 2002; 43: 189–92.
40. Lyerly D.M., Saum K.E., MacDonald D.K., Wilkins T.D. Effects of Clostridium difficile toxins given intragastrically to animals. *Infect. and Immunity.* 1985; 47: 349–52.
41. McDonald L.C., Killgore G.E., Thompson A. et al. An epidemic, toxin gene-variant strain of Clostridium difficile. *N. Engl. J. Med.* 2005; 353: 2433–41.
42. Blanckaert K., Coignard B., Grandbastien B. et al. Update on Clostridium difficile infections. *Rev. Med. Interne.* 2008; 29 (3): 209–14.
43. Loo V.G., Poirier L., Miller M.A. et al. A predominantly clonal multi institutional outbreak of Clostridium difficile-associated diarrhea with high morbidity and mortality. *N. Engl. J. Med.* 2005; 353: 2442–9.
44. Warny M., Pepin J., Fang A. et al. Toxin production by an emerging strain of Clostridium difficile associated with outbreaks of severe disease in North America and Europe. *Lancet.* 2005; 366: 1079–84.
45. Fenner L., Widmer A.F., Goy G. et al. Rapid and reliable diagnostic algorithm for detection of Clostridium difficile. *J. Clin. Microbiol.* 2008; 46 (1): 328–30.
46. Sloan L.M., Duresko B.J., Gustafson D.R., Rosenblatt J.E. Comparison of real time PCR for detection of the *tdcC* gene with four toxin immunoassays and culture in diagnosis of Clostridium difficile infection. *J. Clin. Microbiol.* 2008; 46 (6): 1996–2001.
47. Kim H., Jeong S.H., Kim M., Lee Y., Lee K. Detection of Clostridium difficile toxin A/B genes by multiplex real-time PCR for the diagnosis of C. difficile infection. *J. Med. Microbiol.* 2012; 61 (2): 274–7.
48. Ylisiurua P., Koskela M., Vainio O., Tuokko H. Comparison of antigen and two molecular methods for the detection of Clostridium difficile toxins. *Scand. J. Infect. Dis.* 2013; 45 (1): 19–25.
49. Snell H., Ramos M., Longo S., John M., Hussain Z. Performance of the TechLab C. DIFF CHEK-60 enzyme immunoassay (EIA) in combination with the C. difficile Tox A/B II EIA kit, the Triage C. difficile panel immunoassay, and a cytotoxin assay for diagnosis of Clostridium difficile-associated diarrhea. *J. Clin. Microbiol.* 2004; 42 (10): 4863–5.

REFERENCES

1. Vertiev Yu.V. Bacterial toxins: Biological nature and origin. *Zhurn. mikrobiol., epidemiol. i immunobiol.* 1996; 3: 43–6 (in Russian).
2. Gjulazjan N.M., Belaja O.F., Belyj Yu.F., Pak S.G. Detection of clostridia toxin markers in different types of the course of acute intestinal infections. *Klin. Lab. diagnostika.* 2008; 3: 46–9 (in Russian).
3. Malov V.A. Antibiotic-associated diarrhea. *Klin. mikrobiol., antimikrobnaya khimioterapiya.* 2002; 1: 22–32 (in Russian).
4. Finlay B.B., Falkow S. Common themes in microbial pathogenicity revisited. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 1997; 61: 136–69.
5. Schmitt C.K., Meysick K.C., O'Brien A. Bacterial toxins: friends or foes? *Emerg. Infect. Dis.* 1999; 5 (2): 224–34.
6. Brito G.A., Fujji J., Carneiro-Filho B.A. et al. Mechanism of Clostridium difficile toxin A-induced apoptosis in T84 cells. *J. Infect. Dis.* 2002; 186: 1438–47.
7. Bartlett J.G., Gerding D.N. Clinical recognition and diagnosis of Clostridium difficile infection. *Clin. Infect. Dis.* 2008; 46 (Suppl. 1): S12–8.
8. Hatheway C. L., Toxigenic Clostridia. *Clin. Microbiol. Rev.* 1990; 66–98.
9. Wistrom J., Norrby S.R., Myhre E.B. Frequency of antibiotic-associated diarrhoea in 2462 antibiotic-treated hospitalized patients; a prospective study. *J. Antimicrob. Chemother.* 2001; 47: 43–50.
10. Kyne L., Hamel M.B., Polavaram R., Kelly C.P. Health care costs and mortality associated with nosocomial diarrhea due to Clostridium difficile. *Clin. Infect. Dis.* 2002; 34: 346–53.
11. Wilkins T.D., Lyerly D.M. Clostridium difficile testing: after 20 years, still challenging. *J. Clin. Microbiol.* 2003; 41: 531–4.
12. Johnson S., Kent S.A., O'Leary K.J. et al. Fatal pseudomembranous colitis associated with a variant Clostridium difficile strain not detected by toxin A immunoassay. *Ann. Intern. Med.* 2001; 135: 434–8.
13. Rupnik M., Kato N., Grabnar M., Kato H. New types of toxin A-negative, toxin B-positive strains among Clostridium difficile isolates from Asia. *J. Clin. Microbiol.* 2003; 41: 1118–25.
14. Cohen S.H., Tang Y.J., Silva J. Jr. Analysis of the pathogenicity locus in Clostridium difficile strains. *J. Infect. Dis.* 2000; 181: 659–63.
15. Mani N., Dupuy B. Regulation of toxin synthesis in Clostridium difficile by an alternative RNA polymerase sigma factor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2001; 98: 5844–9.
16. Onderdonk A.B., Lowe B.R., Bartlett J.G. Effect of environmental stress on Clostridium difficile toxin levels during continuous cultivation. *Appl. Environ. Microbiol.* 1979; 38: 637–41.
17. Just I., Hoffman F. et al. Inactivation of Ras by Clostridium sor-dellii lethal toxin-catalyzed glucosylation. *J. Biol. Chem.* 1996; 271: 10 149–53.
18. Tucker K.D., Wilkins T.D. Toxin A of Clostridium difficile binds

- to the human carbohydrate antigens I, X, and Y. *Infect. and Immun.* 1991; 59: 73–8.
19. **Krivan H.C., Clark G.F., Smith D.F., Wilkins T.D.** Cell surface binding site for *Clostridium difficile* enterotoxin: evidence for a glycoconjugate containing the sequence Gal α ₁-3Gal β ₁-4GlcNAc. *Infect. and Immun.* 1986; 53: 573–81.
 20. **Smith J.A., Cooke D.L., Hyde S., Borriello S.P., Long R.G.** *Clostridium difficile* toxin A binding to human intestinal epithelial cells. *J. Med. Microbiol.* 1997; 46: 953–8.
 21. **Florin I., Thelestam M.** Internalization of *Clostridium difficile* cytotoxin into cultured human lung fibroblasts. *Biochim. Biophys. Acta.* 1983; 763: 383–92.
 22. **Florin I., Thelestam M.** Lysosomal involvement in cellular intoxication with *Clostridium difficile* toxin B. *Microb. Pathog.* 1986; 1: 373–85.
 23. **Pfeifer G., Schirmer J., Leenhuis J.** et al. Cellular uptake of *Clostridium difficile* toxin B. Translocation of the N-terminal catalytic domain into the cytosol of eukaryotic cells. *J. Biol. Chem.* 2003; 278: 44 535–41.
 24. **Mitchell M.J., Laughon B.E., Lin S.** Biochemical studies on the effect of *Clostridium difficile* toxin B on actin in vivo and in vitro. *Infect. and Immun.* 1987; 55: 1610–5.
 25. **Wedel N., Toselli P., Pothoulakis C.** et al. Ultrastructural effects of *Clostridium difficile* toxin B on smooth muscle cells and fibroblasts. *Exp. Cell Res.* 1983; 148: 413–22.
 26. **Giesemann T., Egerer M., Jank T., Aktories K.** Processing of *Clostridium difficile* toxins. *J. Med. Microbiol.* 2008; 57: 690–6.
 27. **Jank T., Giesemann T., Aktories K.** Rho-glucosylating *Clostridium difficile* toxins A and B: new insights into structure and function. *Glycobiology.* 2007; 17 (4): 15S–22.
 28. **Qa'Dan M., Ramsey M., Daniel J.** et al. *Clostridium difficile* toxin B activates dual caspase-dependent and caspase-independent apoptosis in intoxicated cells. *Cell. Microbiol.* 2002. 4: 425–34.
 29. **Souza M.H., Melo-Filho A.A., Rocha M.F.** et al. The involvement of macrophage-derived tumour necrosis factor and lipooxygenase products on the neutrophil recruitment induced by *Clostridium difficile* toxin B. *Immunology.* 1997; 91: 281–8.
 30. **Shoshan M.C., Florin I., Thelestam M.** Activation of cellular phospholipase A2 by *Clostridium difficile* toxin B. *J. Cell. Biochem.* 1993; 52: 116–24.
 31. **Chen M.L., Pothoulakis C., LaMont J.T.** Protein kinase C signaling regulates ZO-1 translocation and increased paracellular flux of T84 colonocytes exposed to *Clostridium difficile* toxin A. *J. Biol. Chem.* 2002; 277: 4247–54.
 32. **Flegel W.A., Müller F., Däubener W.** et al. Cytokine response by human monocytes to *Clostridium difficile* toxin A and toxin B. *Infect. and Immun.* 1991; 59: 3659–66.
 33. **He D., Sougioultzis S., Hagen S.** et al. *Clostridium difficile* toxin A triggers human colonocyte IL-8 release via mitochondrial oxygen radical generation. *Gastroenterology.* 2002; 122: 1048–57.
 34. **Warny M., Keates A.C., Keates S.** et al. p38 MAP kinase activation by *Clostridium difficile* toxin A mediates monocyte necrosis, IL-8 production, and enteritis. *J. Clin. Invest.* 2000; 105: 1147–56.
 35. **Castagliuolo I., Kelly C.P., Qiu B.S.** et al. IL-11 inhibits *Clostridium difficile* toxin A enterotoxicity in rat ileum. *Am. J. Physiol.* 1997; 273: G333–41.
 36. **He D., Hagen S.J., Pothoulakis C.** et al. *Clostridium difficile* toxin A causes early damage to mitochondria in cultured cells. *Gastroenterology.* 2000; 119: 139–50.
 37. **Savidge T.C., Pan W.H., Newman P.** et al. *Clostridium difficile* toxin B is an inflammatory enterotoxin in human intestine. *Gastroenterology.* 2003; 125: 413–20.
 38. **Siffert J.-C., Müller Ch.D., Dumont S.** et al. CD14 expression by human mononuclear phagocytes is modulated by *Clostridium difficile* toxin B. *Microb. Infect.* 1999; 1: 1159–62.
 39. **Samra Z., Talmor S., Bahar J.** High prevalence of toxin A-negative toxin B-positive *Clostridium difficile* in hospitalized patients with gastrointestinal disease. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 2002; 43: 189–92.
 40. **Lyerly D.M., Saum K.E., MacDonald D.K., Wilkins T.D.** Effects of *Clostridium difficile* toxins given intragastrically to animals. *Infect. and Immun.* 1985; 47: 349–52.
 41. **McDonald L.C., Killgore G.E., Thompson A.** et al. An epidemic, toxin gene-variant strain of *Clostridium difficile*. *N. Engl. J. Med.* 2005; 353: 2433–41.
 42. **Blanckaert K., Coignard B., Grandbastien B.** et al. Update on *Clostridium difficile* infections. *Rev. Med. Interne.* 2008; 29 (3): 209–14.
 43. **Loo V.G., Poirier L., Miller M.A.** et al. A predominantly clonal multi institutional outbreak of *Clostridium difficile*-associated diarrhea with high morbidity and mortality. *N. Engl. J. Med.* 2005; 353: 2442–9.
 44. **Warny M., Pepin J., Fang A.** et al. Toxin production by an emerging strain of *Clostridium difficile* associated with outbreaks of severe disease in North America and Europe. *Lancet.* 2005; 366: 1079–84.
 45. **Fenner L., Widmer A.F., Goy G.** et al. Rapid and reliable diagnostic algorithm for detection of *Clostridium difficile*. *J. Clin. Microbiol.* 2008; 46 (1): 328–30.
 46. **Sloan L.M., Duresko B.J., Gustafson D.R., Rosenblatt J.E.** Comparison of real time PCR for detection of the *tcdC* gene with four toxin immunoassays and culture in diagnosis of *Clostridium difficile* infection. *J. Clin. Microbiol.* 2008; 46 (6): 1996–2001.
 47. **Kim H., Jeong S.H., Kim M., Lee Y., Lee K.** Detection of *Clostridium difficile* toxin A/B genes by multiplex real-time PCR for the diagnosis of *C. difficile* infection. *J. Med. Microbiol.* 2012; 61 (2): 274–7.
 48. **Ylisurua P., Koskela M., Vainio O., Tuokko H.** Comparison of antigen and two molecular methods for the detection of *Clostridium difficile* toxins. *Scand. J. Infect. Dis.* 2013; 45 (1): 19–25.
 49. **Snell H., Ramos M., Longo S., John M., Hussain Z.** Performance of the TechLab C. DIFF CHEK-60 enzyme immunoassay (EIA) in combination with the *C. difficile* Tox A/B II EIA kit, the Triage *C. difficile* panel immunoassay, and a cytotoxin assay for diagnosis of *Clostridium difficile*-associated diarrhea. *J. Clin. Microbiol.* 2004; 42 (10): 4863–5.

Поступила 07.11.12

Сведения об авторах:

Белая Ольга Федоровна, доктор мед. наук, проф., зав. лаб. по изучению токсических и септических состояний Первого МГМУ им. И.М. Сеченова, e-mail: ofbelaya@mail.ru; **Малов Валерий Анатольевич**, доктор мед. наук, проф. каф. инфекционных болезней Первого МГМУ им. И.М. Сеченова, e-mail: valmalov@list.ru; **Пак Сергей Григорьевич**, член-корр. РАМН, доктор мед. наук, проф., засл. зав. каф. инфекционных болезней Первого МГМУ им. И.М. Сеченова, e-mail: infection_mma@mail.ru.

Опечатка

В выпуске журнала №3 за 2013 в ст. Г.В. Сапронова и соавт. "Новые перспективы персонализированной терапии ХВГС" на стр. 30 (правая колонка верхняя строчка) вместо: "Установлено, что при титре иммуноглобулина М и суммарных антигенов ВГС 1:32 и выше вероятность достижения УВО очень низкая" следует читать: "Установлено, что при титре иммуноглобулином М к суммарным антигенам ВГС 1:32 и выше вероятность достижения УВО очень низкая".