

***Clostridium perfringens* – антибиотико-ассоциированные и спорадические диареи у детей: возрастные, анамнестические и клинико-лабораторные характеристики**

А. С. Кветная, Л. И. Железова

ФГБУ «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней Федерального медико-биологического агентства», Санкт-Петербург

РЕЗЮМЕ

В статье представлены результаты собственных исследований по проблеме двух клинических форм диареи у детей (спорадической и антибиотико-ассоциированной диареи – ААД), не связанных с пищей, обусловленных энтеропродуцирующими штаммами *Clostridium perfringens* (*C. perfringens* – Ср). В рамках разработанного алгоритма в ФГБУ «ДНКЦИБ ФМБА России» (Санкт-Петербург) проведен анализ результатов комплексного клинико-лабораторного обследования детей в возрасте от 2 месяцев до 18 лет с диареей (ОКИ, $n = 406$ детей) в 2019–2021 годах. Материалом для исследования служили пробы кала, копрофильтраты и штаммы микроорганизмов, определяющих микробиоценоз кишечника, в том числе энтеротоксигенные штаммы *C. perfringens*. Основную группу составили дети с диареей ($n = 38$ из 406; $9,35 \pm 1,8\%$), у которых при поступлении в копрофильтрате обнаруживали энтеротоксин *C. perfringens* в ИФА и из проб кишечного содержимого выделялись культуры энтеротоксигенных штаммов *C. perfringens*. В первую группу вошли дети ($n = 30$ из 406; $7,4 \pm 1,8\%$) с антибиотико-ассоциированной диареей, во вторую – дети ($n = 8$ из 406, $1,9 \pm 1,9\%$ детей) со спорадической диареей. В структуре энтеротоксигенных *C. perfringens* – ассоциированных ААД ($n = 38$) составила 78,9%, спорадическая – 21,1%. Достоверно чаще ААД регистрировалась у детей в возрасте до 1 года, спорадическая – у всех детей старше 8 лет ($p < 0,05$). У всех больных ААД и у всех детей со спорадической диареей тяжесть течения и выраженность диарейного синдрома напрямую зависели от колонизационной активности (КОЕ/г) энтеротоксигенных *C. perfringens* ($r = 0,78$). Заболевание у больных ААД и спорадической диареей протекало преимущественно с синдромами гастроэнтерита, энтероколита и гемоколита. Случаи спорадической диареи отличались тяжелым и длительным характером течения, развитием глубоких декомпенсированных нарушений микробиоты толстой кишки, ассоциированных с высокой колонизационной активностью как энтеротоксигенных штаммов *C. perfringens* (КОЕ / г = 10^{6-7}), так и условно патогенных микроорганизмов *Klebsiella* spp., *Staphylococcus aureus* и *Candida albicans* (КОЕ / г = 10^{6-7}), ($p < 0,05$). Полученные результаты определяют тактику дифференциальной диагностики и лечения ААД и спорадических диарей, вызванных энтеропродуцирующими штаммами *C. perfringens*.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: дети, *C. perfringens*, энтеротоксин, микробиота, ААД и спорадическая диарея.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

***Clostridium perfringens* – antibiotic-associated and sporadic diarrhea in children: age, anamnestic and clinical and laboratory features**

A. S. Kvetnaya, L. I. Zhelezova

Pediatric Research and Clinical Centre for Infectious Diseases, Saint Petersburg, Russia

SUMMARY

The article presents the data of the research on the problem of two clinical forms of enteroproducing *Clostridium perfringens* (*C. perfringens*) – associated infection in the children who are not connected with food – antibiotic-associated and sporadic forms. Within the period of 2019–2021 a retrospective analysis of the results of complex clinical and laboratory study of children aged from 2 months to 18 years with diarrhea (acute intestinal infection, $n = 406$ children) was carried out within the framework of the algorithm developed by Pediatric Research and Clinical Center for Infectious Diseases (Russia, Saint Petersburg). The material for the study included stool tests, coprofiltrates and strains of the microorganisms determining microbiocenosis of the intestines including enterotoxigenic strains of *C. perfringens*. The main group included children with diarrhea ($n = 38$ of 406 children with diarrhea) who at admission presented *C. perfringens* enterotoxin in coprofiltrates found by immune-enzyme analysis and there were identified the cultures of enterotoxigenic strains of *C. perfringens* by tests of intestinal contents. The first group included children ($n = 30$ of 406 children; 7%) with antibiotic-associated diarrhea (AAD). The second group included children ($n = 8$ of 406 children; 2%) with sporadic diarrhea. An overwhelming majority of patients with AAD ($n = 20$; 92.3%) of the first 8 (100%) years of life presented intensity of diarrhea syndrome in direct dependence on colonization activity of enterotoxigenic *C. perfringens* (colony-forming units/g feces) ($r = 0,78$). The disease proceeded mainly with the syndromes of gastroenteritis, enterocolitis and hemorrhagic colitis. There was noted a reliable high frequency of severe forms of both AAD, and sporadic diarrhea ($p < 0,05$) caused by enterotoxigenic strains of *C. perfringens* in children of the first year of life. Deep decompensated disorders of large intestine microbiota associated with *Klebsiella* spp., *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*, were characterized by severity and prolonged character of the course ($p < 0,05$). The received results determine the tactics of differential diagnosis and treatment of AAD and sporadic diarrhea caused by enteroproducing strains of *C. perfringens*.

KEY WORDS: children, *C. perfringens*, enterotoxin, microbiota, AAD and sporadic diarrhea.

CONFLICT OF INTEREST. The authors declare no conflict of interest.

Введение

Согласно данным ВОЗ, ежегодно в мире регистрируется 1,0–1,2 миллиарда диарейных заболеваний, связанных как с непосредственным токсическим действием антибиотиков на желудочно-кишечный тракт, так и с активизацией условно патогенной кишечной микрофлоры под действием

различных факторов и неблагоприятных условий [1, 2]. Различают диареи инфекционной и неинфекционной природы. Инфекционные диареи нередко ассоциируются с различными патогенами – *Salmonella* spp., *Klebsiella oxytoca*, *Staphylococcus aureus*, грибы рода *Candida*, в том

числе с клостридиями, среди которых *Clostridium difficile* (*Cd*) и *Clostridium perfringens* (*Cp*) клинически значимы [1–3]. Наиболее актуальным возбудителем среди людей и животных, кроме *Cd*, в настоящее время является *Cp* как причина развития ААД и спорадической диареи [1–4].

C. perfringens является грамположительной, палочковидной, спорообразующей, анаэробной бактерией, вызывающей широкий спектр заболеваний человека и животных [1–7]. Вирулентность *C. perfringens* в значительной степени обусловлена его способностью продуцировать более 20 токсинов [8], среди которых наибольшее медицинское значение имеет энтеротоксин, ответственный за развитие заболеваний диарейного характера – пищевые отравления, связанные с пищевым фактором, ААД и спорадическая диарея, не связанные с пищевым фактором [4, 9]. Однако, как показали исследования последних лет, кроме серогрупп А, другие серогруппы *Cp* – С, Д, Е и F – способны продуцировать энтеротоксин *Cp* (CPE) [10, 11].

Локусы генов *cpe* штаммов *Cp* типов С, Д, Е и F отличаются друг от друга и характеризуются выраженным разнообразием. Так, штаммы *Cp* типа С, несущие плазмиду *cpb*, вызывают энтерит при низком уровне трипсина в кишечнике, что позволяет возбудителю сохраняться и действовать в кишечнике в течение более длительного периода времени. Напротив, штаммы *Cp* типа Д, несущие плазмиду *etx*, вызывают болезни у животных с нормальным уровнем протеазы. Штаммы *Cp* типа В, которые приобрели плазмиды с генами *cpb* и *etx*, обладают универсальностью, вызывая заболевание при низких и нормальных уровнях кишечной протеазы [3].

ААД – ассоциированная с энтеротоксигенными штаммами *Cp* обычно развивается у 5–10 % пациентов после приема антибиотиков широкого спектра действия [4]. Причиной развития спорадической диареи являются не антибиотики [12].

Несмотря на медицинское значение энтеротоксигенных *C. perfringens*, многие важные вопросы в отношении биологии, эпидемиологии и генетики, а также патогенеза развития *Cp*-ассоциированных заболеваний у детей остаются открытыми. Необходимость понимания того, каким образом энтеротоксигенные штаммы способны вызывать развитие различных по тяжести заболеваний ЖКТ у лиц разного возраста, приобретают особую актуальность в современных условиях, особенно в свете расширения наших знаний о факторах риска развития *Cp*-ассоциированной инфекции, связанных с антибиотиками и другими факторами, а также с факторами патогенности энтеротоксигенных *Cp*, в частности с тонкими механизмами цитотоксического воздействия энтеротоксина на слизистую оболочку кишечника, приводящих к развитию диареи и нарушениям микробиоты кишечника. В этой связи особую значимость приобретает изучение влияния колонизационной активности (КОЕ/г) некоторых представителей нормальной микрофлоры кишечника, в частности *C. perfringens*, при достижении определенного популяционного уровня которых играют роль этиологического фактора в развитии диарей.

С учетом вышеизложенного, целью настоящей работы явились изучение частоты развития ААД и спорадической диареи, не связанных с пищевым фактором и обусловлен-

ных энтеротоксигенными *Cp* у детей разного возраста, а также проведение сравнительного анализа клинико-лабораторных, анамнестических и характера микробиоты кишечника диарей во взаимосвязи с колонизационной активностью возбудителя и его биологическими свойствами.

Материалы и методы исследования

В рамках разработанного алгоритма сотрудниками ФГБУ «ДНКЦИБ ФМБА России» в 2019–2021 годах проведено комплексное клинико-лабораторное обследование детей в возрасте от 2 месяцев до 18 лет с диареей ($n = 406$ детей), госпитализированных в отделение кишечных инфекций с ОКИ, у которых в кале были обнаружены штаммы *C. perfringens* ($n = 38$ детей) с различным уровнем КОЕ/г. Идентификация родовой принадлежности *C. perfringens* подтверждена по культуральным, морфологическим и биохимическим признакам. Все выделенные штаммы клостридий относились к спорообразующим, сульфитредуцирующим (редуцирующие сульфит натрия) на железосульфитном агаре (среда Вильсон–Блера), обладающим способностью вырабатывать фермент лецитиназу на желточных средах и гемолизины на средах с кровью (инвазивные факторы патогенности). Материалом для исследования служило содержимое кишечника. Отбор проб для микробиологического исследования заболеваний, обусловленных энтеротоксинообразующими штаммами *C. perfringens*, проводили с соблюдением общих правил: отбор материала проводился до начала антибактериальной терапии; отбирали биоматериал, отражающий патологический процесс в кишечнике; при отборе проб исследуемого материала соблюдали асептику, не допускали контаминацию проб посторонней микрофлорой; использовали микроскопические, культуральные (бактериологические), молекулярно-биологические и иммунохроматографические методы экспресс-индикации энтеротоксина *C. perfringens*; отобранные пробы кала для бактериологического исследования доставляли в короткие сроки (в течение 2–3 часов). Критериями отбора пациентов для обследования на *Cp* являлись: клинико-анамнестические данные об антибиотикотерапии, сведения о госпитализации, перенесенных и сопутствующих заболеваниях, а также данные о характере клинических проявлений диареи и положительные пробы испражнений на токсин CPE (основная группа пациентов; $n = 38$ детей). Первую группу составили 30 пациентов с ААД, обусловленной энтеротоксигенными штаммами *Cp*, вторую – 8 детей с диареей (без антибактериальной терапии в анамнезе) с положительными пробами испражнений на энтеротоксин *Cp*. У пациентов с обеих сравниваемых групп, наряду с отбором проб испражнений для выделения патогенной и условно патогенной микрофлоры (УПМ), параллельно проводили отбор проб испражнений для выделения энтеротоксигенных штаммов *C. perfringens*. Также осуществляли отбор фекалий для проведения исследований на ДНК и РНК кишечных вирусов и изучения качественных и количественных характеристик микробиоты толстой кишки. Вирусная природа диарей осуществлялась в ПЦР лаборатории ДНКЦИБ.

Дизайн обследования на *C. perfringens* состоял из трех этапов: долабораторный (преаналитического), лабораторный и заключительный.

На долабораторном этапе производили сбор анамнестических данных об антибактериальной терапии, оценку характера клинических проявлений и отбор проб крови на общий анализ крови, фекалий на копрограмму, выявление культуры *C. perfringens* и исследование микробиоты, копрофильтратов для выявления энтеротоксина *Cp*.

На лабораторном этапе в первый день проводилась индикация энтеротоксина с использованием набора RIDAS-CREEN *Clostridium perfringens* Enterotoxin (C0601), первичный посев содержимого толстой кишки на дисбактериоз и возбудителей ОКИ, в том числе на *C. perfringens*.

Второй этап предусматривал выделение культуры и идентификацию чистой культуры возбудителя и УПМ на масс-спектрометре Bruker Daltonik MALDI Biotyper (Германия) с подсчетом колониеобразующей единицы (КОЕ) в 1 г фекалий. Для культивирования анаэробов использовали питательные среды: бульон мясопептонный печеночный под вазелиновым маслом (среда Китта – Тароцци); агар мясопептонный печеночный с добавлением 0,5 % глюкозы и 5 %-ной дефибрированной стерильной крови барана; среды питательные для культивирования аэробов: бульон мясопептонный по ГОСТ 20730–75; агар мясопептонный, вода 2 %-ная пептонная с добавлением одного из используемых углеводов или многоатомных спиртов. Посевы инкубировали в анаэроостате SANYO O_2/CO_2 (Япония) при 37 °C в течение 48–72 часов. Параллельно проводили высевы материала на среды МПА, МПБ, Сабуро и культивировали в стандартных условиях без создания анаэробнозиса для выявления сопутствующей аэробной микрофлоры. Характерные для клостридий колонии пересеивали в две пробирки на скошенный кровяной агар, одну из которых культивировали в анаэробных, другую – в аэробных условиях (контроль). Через 24–48 часов, при наличии роста микрофлоры на агаре, культивируемом в анаэроостате, и отсутствии роста в контроле, из культуры готовили мазки и окрашивали их по Граму. Если исследуемая культура по морфологическим свойствам представляла собой крупные грамположительные палочки, неконтаминированные посторонней микрофлорой, проводили идентификацию микроорганизмов.

На третьем этапе проводили оценку результатов клинико-анамнестических и клинических данных во взаимосвязи с результатами клинико-лабораторных обследований сравниваемых групп детей с ААД и спорадической диареей.

Для оценки полученных данных использовали статистические расчеты, которые проводятся на PC Pentium 166 MMX с использованием программы Excel. Достоверность различий оценивали по критериям Стьюдента и на основе факторного анализа в программе STADIA.

Результаты и обсуждение

Результаты клинико-лабораторного обследования 406 детей с диареей в возрасте от 2 месяцев до 18 лет, находившихся на лечении в клинике острых кишечных инфекций ФГБУ «ДНКЦИБ ФМБА России» (Санкт-Петербург), у которых ($n = 38$ из 406; $9,3 \pm 1,8\%$) в копрофильтратах выявляли энтеротоксин *C. perfringens* и из проб кишечного содержимого выделяли энтеротоксигенные штаммы *C. perfringens*, подтвердили две клинические формы диарей клостриди-

альной природы – ААД ($n = 30$ детей из 406; $7,4 \pm 1,8\%$) и спорадическую диарею ($n = 8$ детей из 406; $2,0 \pm 1,9\%$). В структуре энтеротоксигенных *C. perfringens* – ассоциированных диарей ($n = 38$) ААД составила 78,9%, спорадическая – 21,1%. В пробах кала у детей до 1 года с ААД были установлены достоверно высокие уровни КОЕ/г (10^{6-7} ; $p < 0,05$). Степень тяжести ААД коррелировала с высоким уровнем КОЕ/г *C. perfringens* (10^{6-7} ; $p < 0,05$). Ориентируясь на известный факт, что клостридии относятся к представителям нормальной микрофлоры человека и в кале здоровых людей регистрируются титры следующие клостридий (у детей в возрасте до 1 года – до 10^3 КОЕ/г; у детей старше 1 года и взрослых в возрасте 60 лет – до 10^5 КОЕ/г; у взрослых старше 60 лет – до 10^6 КОЕ/г), полученные нами данные о КОЕ/г *C. perfringens* у детей до 1 года с ААД позволяют заключить, что высокий уровень колонизационной активности *C. perfringens* в кишечнике повышает риск развития ААД. Развитие ААД регистрировали в $7,4 \pm 1,8\%$ случаев ($n = 30$) при применении ампициллина, цефалоспоринов второго поколения, эритромицина и, в единичных случаях, фторхинолона и аминогликозидов. Как известно, антибиотики способны оказывать непосредственное токсическое воздействие на структуру кишечного эпителия и кишечный кровоток или обладать мотилиноподобным действием. Применение данных препаратов провоцирует развитие дисфункциональных расстройств билиарного тракта, синдрома мальдигестии, усиление кишечной перистальтики. Причиной диареи на фоне антибактериальной терапии может явиться нарушение метаболизма углеводов и желчных кислот в кишечнике [4]. Увеличение концентрации данных метаболитов в толстой кишке также приводит к развитию секреторной диареи. Как известно, неинфекционная ААД в большинстве случаев имеет легкое и среднетяжелое течение, протекает без развития осложнений и признаков колита, купируется даже без специального лечения уже в ближайшие двое суток после отмены антибиотиков [4]. И напротив, ААД, ассоциированная энтеротоксигенными штаммами *C. perfringens*, особенно у детей до 1 года ($n = 20$), характеризовалась достоверно тяжелым течением. При анализе клинических особенностей *C. perfringens* у детей в возрасте до 1 года выявлены достоверные отличия частоты встречаемости основных симптомов заболевания в сравнении с группой детей старше 3 лет; $p < 0,05$. Характерными были боли вокруг пупка и в подвздошной области, усиливающиеся при пальпации. Краткость жидкого стула достигала 10 и более раз в сутки с патологическими примесями в стуле (лейкоцитов, эритроцитов и фибрина). У детей первого года жизни ($n = 20$) *C. perfringens* – ассоциированная инфекция, обусловленная энтеротоксигенным штаммом *Cp*, характеризовалась клиническими симптомами тяжелого колита и гемоколита, лихорадкой и выраженной интоксикацией. Учащение процесса дефекации, как правило, приводило к выраженным водно-электролитным нарушениям.

В патогенезе развития ААД, ассоциированной энтеротоксигенными штаммами *C. perfringens*, особая роль принадлежит нарушениям состава микрофлоры кишечника с активной персистенцией условно патогенных микроорганизмов (УПМ) в просвете толстой кишки. Это касается УПМ – *K. ozonae*, *S. aureus*, в том числе *C. perfringens*.

Основным клиническим симптомом спорадической диареи, ассоциированной энтеротоксинпродуцирующими штаммами *Ср*, была выраженная и устойчивая диарея с регистрацией крови и фибрина в кале. Выраженность диарейного синдрома также напрямую зависела от уровня КОЕ/г (КОЕ/г 10^{6-7}) возбудителя в фекалиях ($r = 0,78$). Длительность гемоколита составила 4–5 дней и более, частота дефекаций – $8,20 \pm 0,36$ раза в сутки. Боли в животе в большинстве случаев были умеренные и локализовались в основном в нижних отделах живота. У трети больных регистрировались тенезмы. Умеренно выраженная интоксикация сохранялась в течение $3,50 \pm 0,41$ дня.

Анализ клинико-анамнестических данных в развитии спорадической диареи выявил следующие неблагоприятные факторы: патология беременности матери; врожденная патология ребенка; раннее искусственное вскармливание, а также пищевая и лекарственная аллергия; различная врожденная патология ЖКТ; перенесенные в прошлом ОКИ; нарушения микробиоты кишечника в анамнезе, способствующие снижению фермента трипсина в кишечнике [3, 6, 7]. Обнаружение в кале у детей спорообразующих сульфитредуцирующих энтеротоксигенных штаммов *C. perfringens*, обладающих способностью вырабатывать инвазивные факторы патогенности (лецитин и гемолизин) с высокой колонизационной активностью (10^7 КОЕ/г и выше), коррелировали с клинически выраженным диарейным синдромом ($p < 0,05$; $r = 0,8$). У детей ($n = 8$) с спорадической диареей, ассоциированной энтеротоксинпродуцирующим штаммом *Ср*, регистрировались нарушения микробиоты кишечника II степени, характеризующиеся снижением общего количества полноценной кишечной палочки до КОЕ 5 lg/g, выявлением атипичных (лактозонегативных и гемолитических) кишечных палочек и колонизации УПМ (КОЕ 4–5 lg/g), при росте бифидобактерий и лактобактерий в пределах нормы (КОЕ 9 lg/g). При выделении *C. perfringens* с КОЕ/г ≥ 7 в 25,7% случаев ($n = 8$) регистрировались нарушения микробиоценоза III степени, при которой в 91,3% случаев отмечалось резкое угнетение уровня бифидобактерий, 86,7% – лактобактерий до 5 lg/g, в 65,7% – снижение общего количества полноценной кишечной палочки до КОЕ 3–4 lg/g и у половины (51,8%) пациентов отмечена высокая колонизация УПМ (*K. ozonae*, *S. aureus*). Штаммы *C. perfringens*, выделенные при микробиоценозе кишечника III степени, также относились к спорообразующим, сульфитредуцирующим, однако отличались способностью активно вырабатывать факторы патогенности (лецитиназу и гемолизин).

Таким образом, развитие ААД и спорадической диареи, не связанных с пищей, определяется следующими факторами. Для ААД основными являются непосредственное действие на слизистую кишечника противомикробных препаратов, время действия и колонизация слизистой кишечника энтеротоксигенным штаммом *Ср*. В развитии спорадической диареи играют дополнительные факторы – степень восприимчивости слизистой к действию энтеротоксина (вернее, к его цитотоксическому действию), уровень местного неспецифического иммуноглобулина А, патология ЖКТ, приводящая к снижению фермента трипсина, вирулентность к *Ср* и время воздействия энтеротоксина на слизистую кишечника.

Таким образом, развитие ААД и спорадической диареи, не связанных с пищей, определяется несколькими факторами. Для ААД основными являются непосредственное действие на слизистую кишечника противомикробных препаратов, время действия антибиотиков на слизистую кишечника, ранний возраст детей и высокий уровень КОЕ/г энтеротоксигенных штаммов *Ср*. В развитии спорадической диареи основную роль играют вирулентность конкретного штамма *Ср*, тип и время воздействия энтеротоксина на слизистую, что подтверждается многочисленными наблюдениями последних лет, свидетельствующими о тяжелом и длительном характере течения заболеваний, обусловленного энтеропродуцирующими штаммами *Ср* типов А, С, D и F, кодируемых плазмидным геном *сре* и связанных с непищевым путем передачи [13]. Степень восприимчивости слизистой к действию энтеротоксина (вернее, к его цитотоксическому действию) и уровень местного неспецифического секреторного иммуноглобулина А – дополнительные факторы, определяющие характер течения спорадической диареи, ассоциированной с энтеротоксинпродуцирующими штаммами *Ср*. У штаммов *Ср* при физическом контакте может происходить конъюгативный обмен токсинами плазмидами, что иногда может сопровождаться потерей одной токсинами плазмиды в реципиентном штамме из-за несовместимости плазмид. Однако в определенных ситуациях может наблюдаться феномен совместимости плазмид [14–16]. Например, гены у штаммов *Ср* типа Е, несущих гены *сре* и *срb2* на отдельной плазмиде штамма *Ср* типа В, оказываются вполне совместимыми и способными экспрессироваться, повышая при этом вирулентность возбудителя. Анализ результатов опытов на мышах и крысах с использованием очищенного энтеротоксина позволил выдвинуть научную гипотезу о синергидном характере действия *СРЕ* с бета-токсином *СР* при совместном их нахождении в просвете толстой кишки [7, 14–16], что вполне логично объясняет тяжесть течения и неблагоприятный исход заболевания у пациентов психиатрической клиники [7, 17].

СР поддерживает большое количество генов токсина в различных конъюгативных плазмидах. Эта стратегия обеспечивает огромную пластичность и адаптивность вирулентности микроорганизма. Один из примеров, иллюстрирующих этот феномен, – наличие *срb*- и *etx*-генов на двух разных плазмидах. Штаммы *СР* типа С, несущие только плазмиду *СРВ*, вызывают заболевание у хозяев с более низким уровнем трипсина в кишечнике из-за возраста, диеты или заболевания, что позволяет *СРВ* сохраняться и действовать в кишечнике в течение более длительного времени. Напротив, штаммы типа D, несущие плазмиду *ЕТХ*, вызывают болезнь у животных с нормальным уровнем протеазы, которая протеолитически активирует *ЕТХ*. Штаммы типа В, которые приобрели плазмиды как *СРВ*, так и *ЕТХ*, характеризуются универсальностью, способны вызвать заболевание при низких или нормальных уровнях кишечной протеазы [7]. *СР* – не единственный патогенный клостридиальный вид, который использует плазмиды токсинов для вирулентности. Нейротоксины *Clostridium botulinum* и *Clostridium tetani* также могут кодироваться плазмидой. Было показано, что некоторые плазмиды, кодирующие

ботулинический токсин, являются конъюгативными, возможно, с участием усеченного *tcp*-подобного локуса [8]. Поскольку *CP* относится к представителям нормальной флоры и, по-видимому, находится под селективным давлением остальной микробиоты кишечника, то этот предполагаемый конъюгативный перенос токсинных плазмид в штаммы *CP*, не продуцирующих токсины, – путь к раскрытию патогенетических механизмов развития *CP*-инфекции ЖКТ.

Некоторые переносимые плазмидой гены токсина могут конъюгативно переноситься в другие виды клостридий. И поэтому не исключено, что этот межвидовой перенос плазмиды, несущий, например, ген *ITX*-подобного бинарного токсина, может повысить степень вирулентности реципиентов, таких как *C. difficile* и *C. spiroforme*. В этой связи логично признать возможное повышение вирулентности и у нетоксигенных штаммов *CP* в процессе межвидовой передачи генов, контролирующих тот или иной токсин (в том числе энтеротоксин) *CP*. К факторам, влияющим на вирулентность энтеротоксинпродуцирующих штаммов *CP*, относят способность гена *sre* индуцировать процесс перестройки плотного соединения, процессы порообразования патогена и генерирования гидролитических ферментов и выживать в аэробных условиях [3, 18].

Рост *CP* стимулируют сахара, нуклеозиды, аминокислоты, соли и пурины [1]. Наряду с этим короткое время генерации, характерное для клостридий (8–12 минут при культивировании при 43 °C и в оптимальной для его роста среде – 12–17 минут при 37 °C), на фоне развития глубоких декомпенсированных нарушений микробиоты кишечника определяет процессы активной колонизации возбудителя, формирования спор, их накопления и процессы споруляции с продукцией токсина. Присутствие солей желчных кислот ведет к активации главного регулятора споруляции AroOA [3, 19].

Три сиалидазы, кодируемые генами *nanH*, *nanI* и *nanJ* в *CP*, усиливают действие токсина *CP* подобно действиям, оказываемым ферментами нейраминидазой или экзосиалидазой (*nanI* и *nanJ*). Эта группа ферментов представляет важные факторы вирулентности во время тканевой инфекции, вызванной *CP*, они катализируют гидролиз концевых сиаловых кислот из гликопротеинов, гликолипидов и полисахаридов клеточных мембран, что способствует прикреплению бактерий к клеткам хозяина. Этот муколитический потенциал позволяет предположить, что *CP* использует кишечную слизь в качестве источника питательных веществ и тем самым усиливает колонизацию кишечной флоры. Исследования *in vitro* также показали, что α -токсин, связанный с NanI (экзо-альфа-сиалидаза), повышает вирулентность *CP*. Кроме того, было показано, что NanI повышает вирулентность ϵ -токсина, β -токсина и CPE [3, 20, 21].

Конъюгативные плазмиды, несущие ген *sre*, способны переносить свой ген *sre* резидентным штаммам *CP*, тем самым влияя на вирулентные свойства штамма-реципиента.

Диета, различные заболевания, изменения микробиоты кишечника могут снизить активность трипсина в кишечнике – это условия для того, чтобы штамм *CP* с плазмидой, несущей ген *sre*, активно размножался, спорулировал и продуцировал энтеротоксин до уровня, способного вы-

звать патологический процесс в кишечнике или получить доступ к слизистой оболочке кишечника для проникновения в кровяное русло.

Наличие многих генов токсина *CP* на конъюгативных плаزمиде следует рассматривать как фактор, повышающий вирулентность штаммов, за счет переноса плазмидой генов токсина в другие виды клостридий. Клональность штаммов *CP* также является важным фактором, способствующим вирулентности возбудителя. К другим факторам, оказывающим влияние на вирулентность энтеротоксинпродуцирующих штаммов *CP* (всех токсинотипов, продуцирующих энтеротоксин), как результат экспрессии гена *sre*, относятся изменения структуры плотного соединения, повышения активности процесса порообразования и устойчивости к кислоте, а также особенность выживать в аэробных условиях и активно колонизировать слизистую кишечника.

Заключение

Частота регистрации у детей диарей, обусловленных энтеротоксинпродуцирующими штаммами *CP*, составляет 9,35 % и проявляется в двух клинических формах – ААД (7,4 %) и спорадической диарее (1,9 %). Достоверно чаще ААД регистрировалась у детей в возрасте до 1 года, спорадическая – у всех детей старше 8 лет ($p < 0,05$). У всех больных ААД и всех детей со спорадической диареей тяжесть течения и выраженность диарейного синдрома напрямую зависела от колонизационной активности (КОЕ/г) энтеротоксигенных *C. perfringens* ($r = 0,78$). Заболевание у больных ААД и спорадической диареей протекало преимущественно с синдромами гастроэнтерита, энтероколита и гемоколита. Случаи спорадической диареи отличались тяжелым и длительным характером течения, развитием глубоких декомпенсированных нарушений микробиоты толстой кишки, ассоциированных с высокой колонизационной активностью как энтеротоксигенных штаммов *C. perfringens* (КОЕ/г = 10^{6-7}), так и условно патогенных микроорганизмов *Klebsiella spp.*, *Staphylococcus aureus* и *Candida albicans* (КОЕ/г = 10^{6-7}), ($p < 0,05$).

Список литературы / References

1. Мазанкова Л. В., Чеботарева Т. А., Горбунов С. Б. и др. Дифференцированный подход к этиологической диагностике острой диареи у детей в эпидсезон клинические случаи. Журнал Фарматека, 2020. Т. 27. № 9. С. 103–107.
Mazankova L. V., Chebotareva T. A., Gorbunov S. B. et al. Differentiated approach to the etiological diagnosis of acute diarrhea in children during the epidemiological season of clinical cases. Pharmateca Journal, 2020. T. 27. No. 9. P. 103–107.
2. Успенский Ю. П., Фоминых Ю. А. Антибиотик-ассоциированная диарея: актуальность проблемы, профилактика и терапия. Архив внутренней медицины. № 2 (10). 2013. С. 46–53.
Uspensky Yu. P., Fominykh Yu. A. Antibiotic-associated diarrhea: relevance of the problem, prevention and therapy. Archives of Internal Medicine. No. 2 (10). 2013. S. 46–53.
3. Kiu R., Hall L. J. An update on the human and animal enteric pathogen *Clostridium perfringens*. Emerg Microb Infect. 2018; 7(1): 141.
4. Alam S., Muchatag M. Antibiotic associated diarrhea in children. Indian Pediatr. 2009. Vol. 46, No. 6. P. 491–496.
5. Hobbs B. C., Smith M. T., Oakley C. L., Warrack G. H., Cruickshank J. C. Clostridium welchii food poisoning. J. Hyg. 1953; 51: 75–101. DOI: 10.1017/S0022172400015515. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar].
6. McClane B. A.; Uzal F. A.; Miyakawa M. F.; Lyerly D.; Wilkins T. D. The enterotoxigenic *Clostridia*. In: The Prokaryotes, 3rd ed.; Dworkin M., Falkow S., Rosenberg E., Schleifer H., Stackebrandt E., Eds.; Springer NY Press.: New York, NY, USA, 2006; pp. 688–752.
7. Freedman J. C., A. Shrestha. Clostridium perfringens Enterotoxin: Action, Genetics, and Translational Application. Future Microbiol. 2016, 8, 73.

8. Rood J.I. et al. Expansion of the *Clostridium perfringens* toxin-based typing scheme. *Anaerobe* (2018) 10.1016/j.anaerobe.2018.04.011.
9. Gilbert R. J. Cholesterol dependent cytolysins. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2010; 677: 56–66. <https://doi.org/10.1007/978-1-4419-6327-5>.
10. Llanco LA., Nakano V., Avila-Campos M. J. Sialidase production and genetic diversity in *Clostridium perfringens* type A isolated from chicken with necrotic enteritis in Brazil. *Curr. Microbiol.* 2015; 70 (3): 330–7. <https://doi.org/10.1007/s00284-014-0722-5>.
11. Kiu R., Caim S., Alexander S., Pachori P., Hall L. J. Probing genomic aspects of the multihost pathogen *Clostridium perfringens* reveals significant pangenome diversity, and a diverse array of virulence factors. *Front. Microbiol.* 2017; 8: 2485. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02485>.
12. Li J., McClane B. A. NanI sialidase can support the growth and survival of *Clostridium perfringens* strain F4969 using sialylated host macromolecules (Mucin) or Caco-2 cells. *Infect. Immun.* 2018; 86 (2): e00547–17. <https://doi.org/10.1128/iai.00547-17>.
13. Yan X., Porter C. J., Hardy S. P., Steer D., Smith A. I., Quinsey N. S., et al. Structural and functional analysis of the pore-forming toxin NetB from *Clostridium perfringens*. *mBio*. 2013; 4(1): e00019–13. <https://doi.org/10.1128/mbio.00019-13>.
14. Wisniewski J. A., Rood J. I. The Tcp conjugation system of *Clostridium perfringens*. *Plasmid*. 2017; 91: 28–36. <https://doi.org/10.1016/j.plasmid.2017.03.001>.
15. Li J., Adams B., Bannam T., Mijamoto K. et al. Toxin plasmids of *Clostridium perfringens*. *Microbiol Mol Biol Rev.* 2013 Jun; 77 (2): 208–233. DOI: 10.1128/MMBR.00062-12.
16. Kiu R., Brown J., Bedwell H., Leclaire C. et al. Genomic analysis on broiler-associated *Clostridium perfringens* strains and exploratory caecal microbiome investigation reveals key factors linked to poultry necrotic enteritis. *Animal Microbiome* (2019) 1: 12. <https://doi.org/10.1186/s42523-019-0015-1>.
17. Centers for Disease Control and prevention. Fatal foodborne *Clostridium perfringens* illness at a state psychiatric hospital – Louisiana, 2010. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2012; 61 (32): 605–8.
18. Li J., Freedman J. C., Evans D. R., McClane B. A. CodY promotes sporulation and enterotoxin production by *Clostridium perfringens* type A strain SM101. *Infect. Immun.* 2017; 85 (3): e00855–16. <https://doi.org/10.1128/iai.00855-16>.
19. Gilbert M., Jolivet-Reynaud C., Popoff M. R. Beta2 toxin, a novel toxin produced by *Clostridium perfringens*. *Gene*. 1997; 203 (1): 65–73. [https://doi.org/10.1016/s03781119\(97\)00493-9](https://doi.org/10.1016/s03781119(97)00493-9).
20. Llanco LA., Nakano V., Avila-Campos M. J. Sialidase production and genetic diversity in *Clostridium perfringens* type A isolated from chicken with necrotic enteritis in Brazil. *Curr. Microbiol.* 2015; 70 (3): 330–7. <https://doi.org/10.1007/s00284-0140722-5>.
21. Li J., McClane B. A. NanI sialidase can support the growth and survival of *Clostridium perfringens* strain F4969 using sialylated host macromolecules (Mucin) or Caco-2 cells. *Infect. Immun.* 2018; 86(2): e00547–17. <https://doi.org/10.1128/iai.00547-17>.

Статья поступила / Received 06.08.2021

Получена после рецензирования / Revised 20.08.2021

Принята к публикации / Accepted 05.09.2021

Сведения об авторах

Кветная Ася Степановна, д.м.н., проф., в.н.с. научно-исследовательского отдела медицинской микробиологии и молекулярной микробиологии. E-mail: asya41@mail.ru. ORCID: 0000-0002-8939-2973

Железова Людмила Ильинична, к.м.н., с.н.с. научно-исследовательского отдела медицинской микробиологии и молекулярной микробиологии. ORCID: 0000-0001-8071-3243

ФГБУ «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней Федерального медико-биологического агентства», Санкт-Петербург

Автор для переписки: Кветная Ася Степановна. E-mail: asya41@mail.ru

About authors

Kvetnaya Asya S., DM Sci (habil.), professor, leading researcher at Research Dept of Medical Microbiology and Molecular Microbiology. E-mail: asya41@mail.ru. ORCID: 0000-0002-8939-2973

Zhelezova Lyudmila I., PhD Med, senior researcher at Research Dept of Medical Microbiology and Molecular Microbiology. ORCID: 0000-0001-8071-3243

Pediatric Research and Clinical Centre for Infectious Diseases, Saint Petersburg, Russia

Corresponding author: Kvetnaya Asya S. E-mail: asya41@mail.ru

Для цитирования: Кветная А.С., Железова Л.И. *Clostridium perfringens* – антибиотико-ассоциированные и спорадические диареи у детей: возрастные, анамнестические и клинико-лабораторные характеристики. *Медицинский алфавит*. 2021; (32): 10–15. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2021-32-10-15>.

For citation: Kvetnaya A.S., Zhelezova L.I. *Clostridium perfringens* – antibiotic-associated and sporadic diarrhea in children: age, anamnestic and clinical and laboratory features. *Medical alphabet*. 2021; (32):10–15. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2021-32-10-15>



РОССИЙСКАЯ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ

Менингококковая инфекция

- недооцененные проблемы.
Другие бактериальные
и вирусные поражения
нервной системы

15-16 февраля 2022 г Санкт-Петербург, отель «Санкт-Петербург», Пироговская наб., 5/2



На Конференции будут доложены результаты изучения менингококковой инфекции специалистами ведущих лечебных учреждений России, обобщен опыт диагностики, профилактики и лечения заболеваний, вызываемых менингококком, а также предложены подходы к решению проблем, стоящих перед здравоохранением. Отдельные заседания будут посвящены другим бактериальным и вирусным поражениям нервной системы

Заявка на аккредитацию коференции подана в Координационный совет по развитию непрерывного медицинского и фармацевтического образования (НМО) Минздрава России

Посещение научных заседаний и выставки – бесплатное. Предварительная регистрация обязательна



Продолжаем принимать
заявки от партнеров
и участников выставки

Подробная информация и регистрация на сайтах:



www.congress-ph.ru
+7 (812) 677-31-56
welcom@congress-ph.ru



www.ipoeasid.ru