

ЗАОЧНАЯ АКАДЕМИЯ ПОСЛЕДИПЛОМНОГО ОБРАЗОВАНИЯ



EDN: KHJIDWI

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2025

Харсеева Г.Г.¹, Мангутов Э.О.¹, Миронов А.Ю.^{2,3}

КОРИНЕБАКТЕРИОЗЫ: ЭТИОЛОГИЯ, МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА (ЛЕКЦИЯ)

¹ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России, 344022, г. Ростов-на-Дону, Россия;

²ФБУН «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии» им. Г. Н. Габричевского» Роспотребнадзора, 125212, Москва, Россия;

³Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий ФМБА России, 115682, Москва, Россия

Недифтерийные коринебактерии (Corynebacterium spp.) - представители микробиоты организма человека - могут являться причиной развития коринебактериозов - воспалительных заболеваний различной локализации, вызываемых недифтерийными коринебактериями, не имеющими генетических детерминант токсинопродукции и не продуцирующими токсин, поражающими людей. Лабораторная диагностика инфекций, связанных с недифтерийными коринебактериями, в настоящее время не регламентирована существующими нормативными документами. В лекции изложены современные представления о классификации и таксономии коринебактерий, новых видах недавно идентифицированных микроорганизмов, относящихся к роду Corynebacterium. Описаны основные биологические свойства Corynebacterium spp., их значение для организма человека. Рассмотрены сведения о факторах патогенности коринебактерий (пили, поверхностные белки (DIP0733 (67-72p), DIP1281, способность к биоплёнокообразованию и др.) и их роли в патогенезе коринебактериозов. В рамках предлагаемой лекции представлена информация о современных методах микробиологической диагностики инфекций, вызываемых Corynebacterium spp., дан сравнительный анализ информативности различных методов идентификации коринебактерий. Приведены данные о чувствительности и резистентности недифтерийных коринебактерий к антимикробным препаратам. При написании лекции использованы базы данных РИНЦ, CyberLeninka, Scopus, Web of Science, The Cochrane Library.

Ключевые слова: недифтерийные коринебактерии; коринебактериозы; факторы патогенности; микробиологическая диагностика; антибиотикорезистентность

Для цитирования: Харсеева Г.Г., Мангутов Э.О., Миронов А.Ю. Коринебактериозы: этиология, микробиологическая диагностика (лекция). Клиническая лабораторная диагностика. 2025; 70 (1): 59-67.

DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2025-70-1-59-67>

EDN: KHJIDWI

Для корреспонденции: Харсеева Галина Георгиевна, д-р мед. наук, проф., зав. кафедрой микробиологии и вирусологии № 2; e-mail: galinagh@bk.ru

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 25.11.2024

Принята к печати 06.12.2024

Опубликовано 00.01.2025

Kharseeva G.G.¹, Mangutov E.O.¹, Mironov A.Yu.^{2,3}

CORYNEBACTERIOSIS: ETIOLOGY, MICROBIOLOGICAL DIAGNOSTICS (LECTURE)

¹SBEI HPE «Rostov state medical university» Ministry of Health Protection of Russia, 344022, Rostov-on-Don, Russia;

²G. N. Gabrichevsky Moscow Research Institute for Epidemiology and Microbiology, Moscow, 125212, Moscow, Russia;

³State Budgetary Institution Federal Scientific and Clinical Center FMBA, 115682, Moscow, Russia

Non-diphtheria corynebacteria (Corynebacterium spp.) - representatives of the microbiota of the human body - can cause the development of corynebacteriosis - inflammatory diseases of various localizations caused by non-diphtheria corynebacteria, which do not have genetic determinants of toxin production and do not produce toxin, affecting people. However, laboratory diagnostics of infections associated with non-diphtheria corynebacteria is currently not regulated by existing instructional documents. The lecture presents modern concepts of the classification and taxonomy of corynebacteria, new species of recently identified microorganisms belonging to the genus Corynebacterium. The main biological properties of Corynebacterium spp., their significance for the human body are described. The article reviews information on the pathogenicity factors of corynebacteria (pili, surface proteins (DIP0733 (67-72p), DIP1281, biofilm-forming ability, etc.) and their role in the pathogenesis of corynebacteriosis. The proposed lecture provides information on modern methods of microbiological diagnostics of infections associated with Corynebacterium spp., and provides a comparative analysis of the information content of various methods for identifying corynebacteria. Data on the sensitivity and resistance of non-diphtheria corynebacteria to antimicrobial drugs are provided. The lecture uses the following databases: RSCI, CyberLeninka, Scopus, Web of Science, The Cochrane Library.

Key words: non-diphtheria corynebacteria; corynebacteriosis; pathogenicity factors; antibiotic resistance; microbiological diagnostics. Dr. Sci. (medical)

For correspondence: Kharseeva Galina G., Dr. Sci. (medical), Professor, Head of the Department of Microbiology and Virology № 2; e-mail: galinagh@bk.ru

For citation: Kharseeva G.G., Mangutov E.O., Mironov A.Yu. Corynebacteriosis: etiology, microbiological diagnostics (lecture). *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2025; 70 (1): 59-67. (in Russ.).
DOI: https://doi.org/10.51620/0869-2084-2025-70-1-59-67
EDN: KHJJDW

Information about authors:

Kharseeva G. G., <https://orcid.org/0000-0002-6226-2183>;

Mangutov E.O., <https://orcid.org/0000-0001-6959-2540>;

Mironov A. Yu., <https://orcid.org/0000-0002-8544-5230>.

Funding. The study had no sponsor support.

Conflicts of interest. The authors declare absence of conflict of interest.

Received 25.11.2024

Accepted 06.12.2024

Published 00.01.2025

Род *Corynebacterium* (класс *Actinobacteria*, порядок *Actinomycetales*, семейство *Corynebacteriaceae*) включает более 150 видов и 11 подвидов коринебактерий, более половины из которых выделены из клинических образцов человека и животных и имеют медицинское и биотехнологическое значение.

В широком многообразии представителей рода *Corynebacterium* выделяют виды коринебактерий, имеющие генетические детерминанты, ответственные за продукцию экзотоксина, и не имеющие таковых (рис. 1). Ранее считалось, что продуцировать экзотоксин могут исключительно токсигенные штаммы *C. diphtheriae*, а также *C. ulcerans* и *C. pseudotuberculosis*, являющиеся патогенными для человека и животных. В последние годы в связи с развитием и совершенствованием молекулярно-генетических методов исследования идентифицируют новые виды коринебактерий на основе строения генома. Недавно установлено, что генетическая структура вида *C. diphtheriae* не однородна: он подразделен на два подвида: *C. diphtheriae subsp. diphtheriae* и *C. diphtheriae subsp. lausannense*. В 2018

году по результатам полногеномного секвенирования со средней идентичностью нуклеотидов 94,85% с *C. diphtheriae*, биохимических и хемотаксономических признаков идентифицирован новый вид *C. belfantii*, ранее считавшийся биоваром *C. diphtheriae*. В 2020 году выделен другой новый вид *C. rouxii* sp. nov., способный вызывать поражения кожных покровов, схожие с дифтерийными. Биохимическая активность *C. rouxii* аналогична таковой у *C. diphtheriae* биовара *belfantii*, за исключением неспособности ферментировать мальтозу. Ключевыми характеристиками, отличающими *C. rouxii*, являются специфический масс-спектрометрический профиль – биомаркеры MALDI-ToF MS. Содержание G+C в геномах *C. rouxii* колеблется от 53,2% до 53,3%, при значении 53,3% для типового штамма.

Генетическими детерминантами токсинопродукции обладают коринебактерии - возбудители зоонозных инфекций – *C. ulcerans* и *C. pseudotuberculosis*. *C. ulcerans* выделяют от домашних (крупный рогатый скот, козы, свиньи) и диких (кабаны, косули, ежи) животных, что указывает на существование обширного

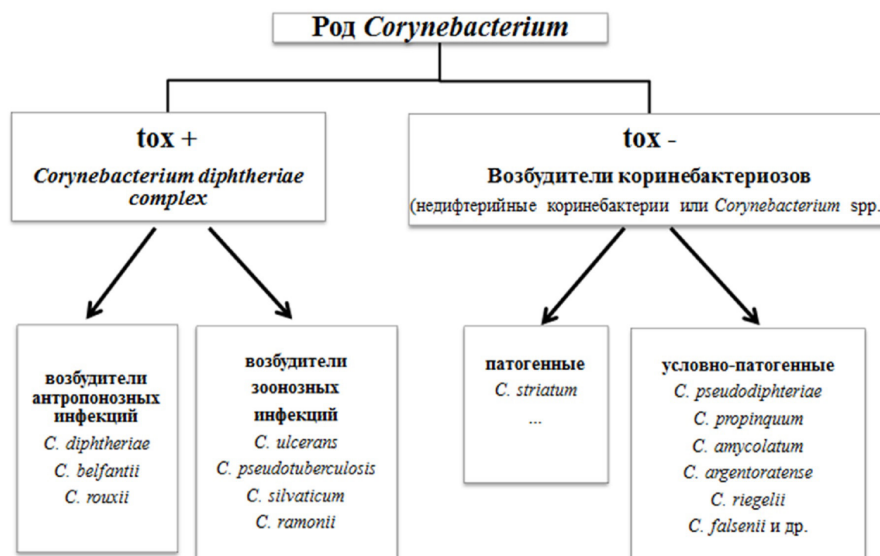


Рис. 1. Представители рода *Corynebacterium*.

природного резервуара возбудителя этой инфекции. Случаи дифтерии, вызванные *C. ulcerans*, регистрируют у людей, в том числе лиц, привитых противодифтерийными препаратами. Основным источником *C. pseudotuberculosis* также являются животные (крупный и, в основном, мелкий рогатый скот). *C. pseudotuberculosis* может вызвать у человека лимфаденит и дифтериеподобную инфекцию при лизогенизации бактериофагом, несущим *tox*⁺-ген *C. diphtheriae*. В 2020 году в Германии выделен от дикого кабана и кошули и идентифицирован с помощью полногеномного секвенирования новый вид *C. silvaticum*, вызывающий заболевание, сходное с казеозным лимфаденитом, вызываемым *C. pseudotuberculosis* у коз и овец. Особенность *C. silvaticum* заключается в том, что у этого вида до сих пор не зарегистрирована способность к токсинопродукции, но он содержит ген токсина (*NTTB*), что связано со сдвигом рамки считывания в последовательности *tox*-гена. Выделение *C. silvaticum* от домашних свиней позволяет расценивать его как возбудитель зоонозной инфекции, потенциально опасный для человека. Ранее штаммы этого вида идентифицировали как *C. pseudotuberculosis* или *C. ulcerans*. В 2023 году по результатам филогенетического анализа, гибридизации ДНК-ДНК *in silico* и спектров MALDI-ToF у вида *C. ulcerans* обнаружена вторая линия, которую выделили в отдельный вид и назвали *C. ramonii*. Этот вид имеет медицинское значение, поскольку некоторые изоляты *C. ramonii* несут ген дифтерийного токсина. Особенностью *C. ramonii* является вероятность его передачи не только от животных к человеку, но и от человека к человеку.

Группа коринебактерий, состоящая из семи филогенетически родственных патогенных видов (*C. diphtheriae*, *C. ulcerans*, *C. pseudotuberculosis*, *C. belfantii*, *C. rouxii*, *C. silvaticum*, *C. ramonii*), являющихся токсигенными и оказывающих цитотоксический эффект на эпителиальные клетки человека, составляет единую филогенетическую кладу, относящуюся к роду *Corynebacterium*, называемую комплексом *C. diphtheriae*.

Другие виды коринебактерий, не относящиеся к комплексу *C. diphtheriae* и составляющие подавляющее большинство представителей рода *Corynebacterium* (недифтерийные коринебактерии или *Corynebacterium* spp.), не имеют генетических детерминант токсинопродукции. Они являются условно-патогенными микроорганизмами, за исключением *C. striatum*, которая признана патогеном в 2023 году. При определённых условиях недифтерийные коринебактерии могут вызывать у человека заболевания – коринебактериозы. Коринебактериозы – воспалительные заболевания различной локализации, вызываемые недифтерийными коринебактериями, не имеющими генетических детерминант токсинопродукции и не продуцирующими токсин, поражающие людей. К возбудителям коринебактериозов относят близкородственные виды *C. pseudodiphtheriticum* и *C. propinquum*; *C. striatum* и *C. amycolatum*; *C. aurimucosum* и *C. minutissimum*; *C. xerosis*, *C. freneyi* и *C. hansenii*; *C. macginleyi* и *C. accolens*; а также *C. rieggelii*, *C. jeikeium*, *C. tuberculoostearicum* и многие другие.

Коринебактериозы могут развиваться как эндогенная

инфекция у иммунокомпрометированных лиц или как экзогенная инфекция (в основном, связанная с оказанием медицинской помощи (ИСМП)), наиболее значимым возбудителем которой является *C. striatum*.

В последнее время в связи с использованием молекулярно-генетических методов исследования среди *Corynebacterium* spp., как и коринебактерий комплекса *C. diphtheriae*, идентифицируют новые виды. В 2023 году из образца кисты сальной железы выделен и идентифицирован с помощью секвенирования генов *16S pPHK* и *rpoB* новый вид *C. guaraldiae* sp. nov. В 2023 году выделены из мочи здоровых женщин и пациентов с диагнозом гиперактивный мочевого пузыря восемь новых видов недифтерийных коринебактерий (*C. evansiae*, *C. curieae*, *C. lehmanniae*, *C. meitnerae*, *C. macclintockiae*, *C. marquesiae*, *C. yonathiae*, *C. hessae*). Идентифицированы и другие новые виды: *C. hindlerae* sp. nov., выделенный из гранулёмы запястья и *C. urinipleomorphum* sp. nov., изолированный от больного с острым холециститом. Идентифицировать новые виды коринебактерий удалось только с помощью секвенирования гена *rpoB*, но не MALDI-ToF масс-спектрометрии и секвенирования гена *16S pPHK*, что подтверждает преимущества использования этого метода исследования.

В дальнейшем, учитывая возможности молекулярно-генетических методов исследования, позволяющих наиболее полно характеризовать геномы микроорганизмов и проводить точную идентификацию, представления о недифтерийных коринебактериях будут расширяться.

Значение недифтерийных коринебактерий для организма человека. Популяция *Corynebacterium* spp., входящих в состав микробиоты организма человека, многочисленна и разнообразна. Некоторые представители рода *Corynebacterium* проявляют полезные свойства, связанные с их пробиотической, антимикробной и антиоксидантной активностью. В процессе своей жизнедеятельности они вырабатывают множество биологически активных метаболитов, в том числе, и с антимикробной активностью, эффективной в отношении бактерий с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ), что делает их перспективными для создания новых пробиотических препаратов. Так, некоторые штаммы *C. accolens* имеют выраженную антимикробную активность по отношению к *Streptococcus pneumoniae*, *C. pseudodiphtheriticum* – против *Staphylococcus aureus* и *Moraxella catarrhalis*, *C. propinquum* – коагулазонегативных стафилококков. *C. glutamicum* синтезирует антимикробные пептиды, снижающие уровень холестерина и ингибирующие патогенные бактерии в организме человека. Некоторые штаммы различных видов рода *Corynebacterium* могут быть эффективны против многих патогенов, воздействуя на них посредством различных механизмов. Полагают, что недавно идентифицированные новые виды недифтерийных коринебактерий (*C. evansiae*, *C. curieae*, *C. lehmanniae*, *C. meitnerae*, *C. macclintockiae*, *C. marquesiae*, *C. yonathiae*, *C. hessae*) могут играть положительную роль для здоровья человека.

Значение недифтерийных коринебактерий не исчерпывается их полезными свойствами. Имеются многочисленные указания на связь этих микроорганизмов с развитием воспалительных заболеваний различной ло-

кализации (эндокардит, сепсис, инфекции глаз, ушей, кожи, дыхательного и урогенитального тракта, мастит, муковисцидоз и др.). Важное значение для развития коринебактериозов имеет состояние здоровья (наличие иммунодефицитных состояний, хронической соматической и/или инфекционной патологии) и возраст заболевшего (чаще болеют дети и пожилые люди). Случаи заболеваний, связанных с *Corynebacterium* spp., регистрируют и у лиц без нарушений иммунного статуса. Среди иммунокомпетентных пациентов с заболеваниями дыхательных путей (бронхит, пневмония), инфицированных *C. pseudodiphtheriticum*, зарегистрировано 14% летальных исходов. *C. pseudodiphtheriticum* считают причиной развития дифтериеподобного заболевания у полностью привитых дифтерийным анатоксином детей. Особое внимание в последние годы уделяется роли недифтерийных коринебактерий (*C. striatum* и др.) в развитии ИСМП. *C. striatum* отличается склонностью к биоплёнокообразованию на абиотических поверхностях, что усиливает патогенность этих микроорганизмов, их устойчивость к дезинфектантам и антимикробным препаратам (АМП) и, как следствие, распространение в медицинских организациях. Усугубляет роль этих микроорганизмов в развитии ИСМП часто выявляемая у них лекарственная устойчивость ко многим АМП, кодируемая соответствующими генами резистентности и имеющая, как правило, горизонтальный путь распространения. В годы пандемии новой коронавирусной инфекции появились данные о роли *Corynebacterium* spp. в развитии бактериальной коинфекции, сопутствующей SARS-CoV-2. Плановая вакцинопрофилактика препаратами дифтерийного анатоксина детей и взрослых в соответствии с Национальным календарем профилактических прививок не защищает от коринебактериозов - инфекций, связанных с не продуцирующими дифтерийный токсин *Corynebacterium* spp.

Все вышеизложенное свидетельствует о необходимости пристального внимания медицинских работников к этим микроорганизмам, их роли в патологии человека, микробиологической диагностике, направленной на точную идентификацию видов *Corynebacterium* spp. и определение их чувствительности и резистентности к АМП.

Эпидемиология. Эпидемиология коринебактериозов изучена недостаточно. Коринебактериозы - антропонозы, источником возбудителя инфекции может служить человек (больной, здоровые лица).

Как все оппортунистические инфекции, коринебактериозы характеризуются множественностью механизмов, путей и факторов передачи. Как возбудители ИСМП, недифтерийные коринебактерии, в частности, *C. striatum*, могут передаваться контактно-бытовым, воздушно-капельным путём, предполагается возможность их гематогенного распространения в организме. В медицинских организациях *C. striatum* изолируют из больничной среды: воздух, абиотические поверхности в непосредственной близости от пациента, медицинские приборы и инструментарий, руки медицинского персонала. *C. striatum* выделяют с поверхности металлического и пластикового инструментария, используемого при эндоскопических процедурах, часто в составе биоплёнки. У пациентов после проведения эндоскопических процедур *C. striatum* изолируют из

отделяемого ротоглотки, трахеи и бронхов, и других биотопов организма.

Восприимчивый коллектив – иммунокопрометированные лица.

Морфология. Недифтерийные коринебактерии – мелкие короткие прямые палочки, могут иметь овоидную или коккоподобную форму, грамположительные, содержат зёрна волютина, способны образовывать рудиментарные «ветви», но не мицелий (рис. 2). Располагаются в микропрепаратах хаотично, реже – в виде «чашеколы» из нескольких, параллельно лежащих клеток. Коринебактерии кислотоустойчивы, спор и капсул не образуют, обычно неподвижны.

В структуре бактериальной клетки выделяют верхний слой, сложноорганизованную клеточную стенку, цитоплазматическую мембрану, цитоплазму, ядерную субстанцию – нуклеоид. Верхний слой содержит пилы (фимбрии), микрокапсулу, поверхностные белки (PS-2, DIP1281, DIP0733(67-72p) (гемагглютинин), порины). Клеточная стенка почти всех видов коринебактерий имеет сложное строение и включает корд-фактор, арабиногалактан, пептидогликан, липоманнан, липоарабиноманнан. Цитоплазматическая мембрана коринебактерий состоит, в основном, из фосфолипидов (фосфатидилглицерол, дифосфатидилглицерол, фосфатидилинозитол), собранных в липидный бислой, обеспечивает реализацию процессов транспорта и биоэнергетики клетки. Цитоплазма клеток коринебактерий представлена мелко-гранулярным компонентом с зонами повышенной плотности, размером 20–40 нм (рибосомы, полисомы), содержит липиды, крахмал, вблизи нуклеоида или на полюсах клеток достаточно крупные и многочисленные включения – полиметафосфаты (гранулы волютина или Бабеша-Эрнста диаметром 0,18–0,20 мкм), имеющие разрыхлённую центральную часть и плотную осмиофильную периферию.

Геном недифтерийных коринебактерий представлен кольцевой двухцепочечной молекулой ДНК, содержит более 2300 генов, из которых более 2200 генов кодируют белки. Помимо ДНК, в клетке коринебактерий имеется одноцепочечная рибосомальная РНК (рРНК) и информационная РНК (иРНК, или мРНК), осуществляющая функцию переноса генетической информации от ДНК к полисомам. Рибосомальные РНК (рРНК) – консервативные элементы коринебактерий: 16S рРНК входит в состав малой, а 23S рРНК – в состав большой субъединицы рибосом. Определение последовательности генов 16S рРНК служит основой геносистематики, используемой в качестве эталона для идентификации и установления степени родства коринебактерий. Ген *rpoB* – универсальный ген для филогенетического анализа и отличия близкородственных видов, идентификации неизвестных штаммов и семейств микроорганизмов в случаях, когда выявление последовательности генов 16S рРНК даёт неоднозначные ответы. Частичное или полное определение последовательности генов *rpoB* используется для видовой идентификации коринебактерий. Определение полной последовательности *rpoB*-гена и области гена с высокой степенью полиморфизма (гиперварибельная область) позволяет более точно идентифицировать большинство видов коринебактерий.

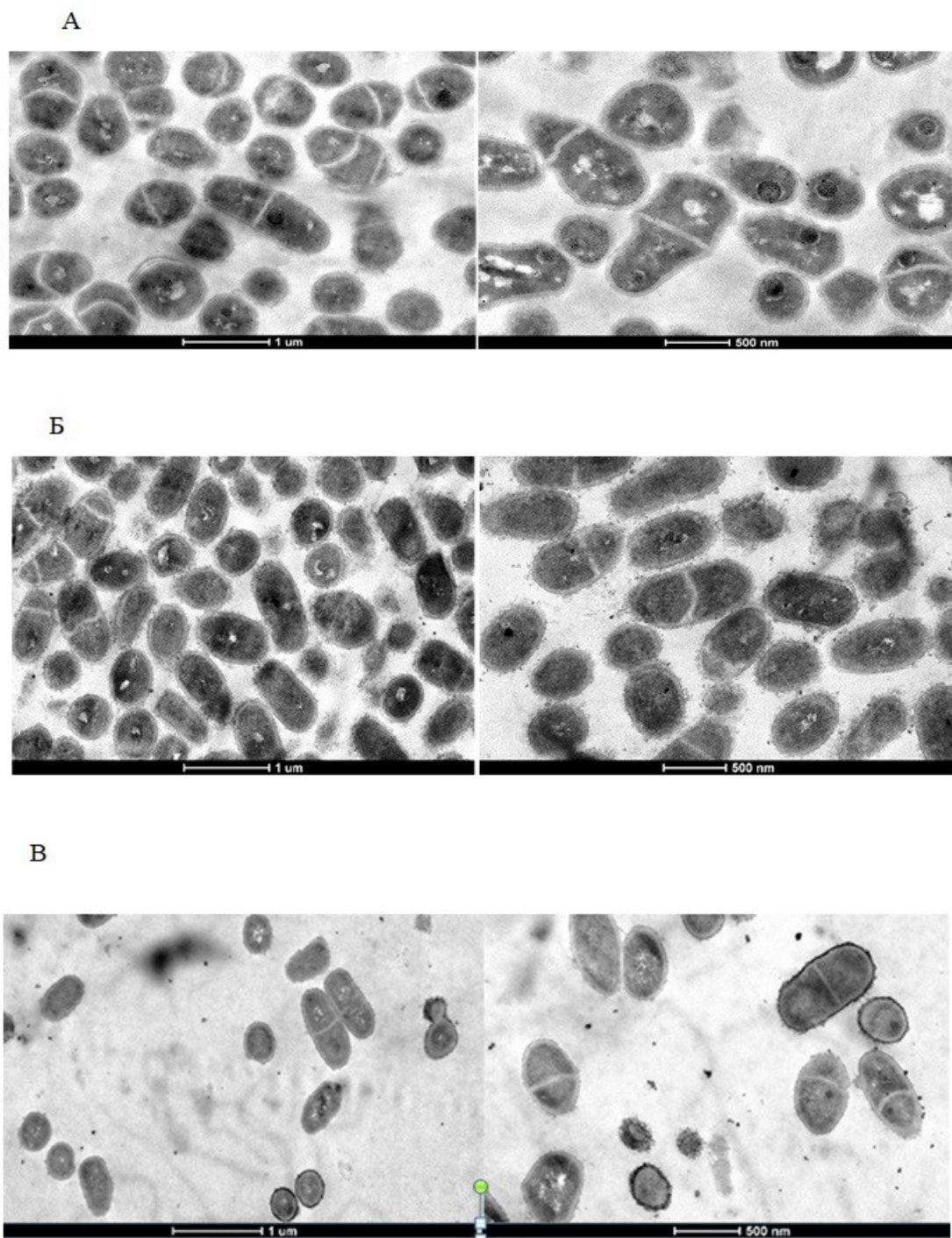


Рис. 2. Электронно-микроскопическое изображение в трансмиссионном электронном микроскопе Теспаи G2 Spirit BioTWIN (FEI, Чехия) при ускоряющем напряжении 120кВ.
А – *C. pseudodiphtheriticum*, Б – *C. argentoratense*, В – *C. striatum* (ультратонкие срезы).

Культуральные свойства. Различные виды недифтерийных коринебактерий по типу дыхания относятся к облигатным аэробам, факультативным анаэробам либо строгим анаэробам; хемогетеротрофам. Углеводный метаболизм смешанный – дыхательного и бродильного типа.

Большинство видов *Corynebacterium* spp. культивируют при стандартных условиях роста (+35-37 °С, рН 7,4-8,0). Некоторые виды *Corynebacterium* spp. – псих-

рофилы, температурный оптимум роста +20-22 °С (*C. xerosis*, *C. freneyi*); некоторые виды (*C. jeikeium*) являются термофилами, температурный оптимум роста +42 °С.

Для культивирования используют простые питательные среды (мясо-пептонный агар), кровяной агар с добавлением гемолизированной крови (5-10%), кровяную среду на основе питательного агара Колумбия (5-10%), сывороточный агар с добавлением лошадиной или бычьей сыворотки (10-20%), среды с добавлени-

ем теллурита калия (кровяно-теллуритовый агар, среда Клауберга II, коринебакагар), среды с добавлением липидов (среда Твин-80, триптон-соевый агар (TSA)). *Corynebacterium* spp. растут на МПА в виде крошечных точечных колоний в течение 24 часов. При добавлении в агар или бульон экзогенных липидов (Твин 80) рост интенсифицируется. На теллуритовых средах недифтерийные коринебактерии образуют колонии округлые, суховатые (некоторые виды – влажные), мелкие или средние, гладкие или шероховатые, чёрные или матовые с серым ободком или серые колонии с коричневым центром, иногда радиально исчерченные. Особенностью рода *Corynebacterium* (*C. pseudodiphtheriticum*, *C. equi*, *C. kutscheri* и другие) является способность колоний окрашиваться от ярко-белых, кремовых до бледно-жёлтых, оранжево-красных и коралловых цветов. Некоторые штаммы продуцируют зеленовато-жёлтый пигмент, розовый или тёмно-серый, диффундирующий в плотную питательную среду; при росте на бульоне дают зернистый осадок или нежную, ломкую, полупрозрачную серо-белую плёнку.

Факторы патогенности и их роль в патогенезе коринебактериозов. *Corynebacterium* spp. не способны к токсинопродукции, их патогенные свойства обусловлены иными, помимо токсина, факторами патогенности.

Развитие коринебактериальной инфекции начинается с адгезии бактерий на эпителиальных клетках человека за счёт пилей/фимбрий (белки DIP1281, DIP0733 (или 67-72p), PS2) и компонентов клеточной стенки (корд-фактор, арабиногалактан, липоманнан, липоарабиноманнан). Пили различного типа (SpaA, SpaB, SpaC и др.) имеют родство к различным рецепторам тканей организма человека. SpaA-пили способствуют адгезии коринебактерий на клетках фарингеального эпителия человека. Процесс адгезии у *Corynebacterium* spp. характеризуется склонностью к агрегации на поверхности эпителиальных клеток с последующей инвазией. Инвазии способствуют ферменты патогенности коринебактерий нейраминидаза и гиалуронидаза, модифицирующие поверхность цитоплазматической мембраны клеток эпителия человека. У штаммов *C. pseudodiphtheriticum* выявлены гены, кодирующие предполагаемый гемолизин, что свидетельствует об их способности прикрепляться к эритроцитам и лизировать их. Уреаза, продуцируемая некоторыми представителями *Corynebacterium* spp., обеспечивает прямой токсический эффект на клетки человека и подавляет клеточное дыхание, расщепляя мочевины с образованием аммиака и углекислоты.

Поверхностные белки (DIP0733(или 67-72p), DIP1281) и компоненты клеточной стенки (миколовые кислоты, арабиногалактан, липоарабиноманнан, корд-фактор) обуславливают не только адгезивные, но и инвазивные свойства коринебактерий. *C. pseudodiphtheriticum* способны к внутриклеточной персистенции в культуре клеток карциномы фарингеального эпителия Нер-2 в течение 24 часов после инфицирования. Внутриклеточное расположение *Corynebacterium* spp. позволяет им избежать действия факторов врождённого иммунитета за счёт подавления липидами клеточной стенки процессов фагоцитоза, разрушения митохондрий и угнетения тканевого дыхания. Токсигенные коринебактерии (*C. diphtheriae*,

C. ulcerans) способны к адгезии и инвазии и, как следствие, сохранению в макрофагах после поглощения. Предполагают, что выживание этих видов коринебактерий в макрофагах и последующий их некротический лизис могут способствовать распространению возбудителя инфекции в организме хозяина и поддерживать колонизацию тканей. Основное значение при коринебактериальной инфекции отводится адгезии и последующей колонизации, инвазия носит транзитный характер и играет лишь косвенную роль в развитии воспалительного процесса.

Как фактор патогенности у *Corynebacterium* spp. рассматривается и их способность к биоплёнкообразованию. Некоторые виды коринебактерий отличаются липофильностью и гидрофобностью клеточной стенки, что не только способствует адгезии, но в условиях развития инфекции при дефиците железа обеспечивает формирование биоплёнки. Высокой биоплёнкообразующей способностью обычно характеризуются штаммы недифтерийных коринебактерий, обуславливающие развитие ИСМП. Госпитальные штаммы *Corynebacterium* spp. обладают выраженной способностью к формированию биоплёнки на гидрофильных и гидрофобных абиотических поверхностях, особенно в присутствии фибриногена и фибронектина человека. Патогенность клинических изолятов *C. striatum* из кровотока и отделёмого дыхательных путей пациентов, подвергшихся эндотрахеальной интубации и катетеризации, связывают с их способностью образовывать биоплёнку. Другие виды недифтерийных коринебактерий также обладают способностью формировать биоплёнку. Способность формировать биоплёнку обусловлена у недифтерийных коринебактерий сиквенс-типом (ST) и штаммовой, а не видовой принадлежностью. Выраженной биоплёнкообразующей способностью обычно обладают штаммы *Corynebacterium* spp. с МЛУ, что, по всей видимости, способствует распространению антибиотикорезистентности в медицинских организациях.

Воздействие поверхностных структур и компонентов клеточной стенки *Corynebacterium* spp. на организм человека неоднозначно и не ограничивается только патогенностью, но оказывает и полезное воздействие, способствуя активации факторов врождённого иммунитета. Компоненты слоя миколовых кислот, входящих в состав корд-фактора коринебактерий, способствуют экспрессии TLR. В опытах на животных показано, что инфицирование мышей *C. pseudodiphtheriticum* повышает экспрессию TLR₁, TLR₂, TLR₃, увеличивает содержание в сыворотке крови цитокинов - IL-6, IL-1β, антимикробных пептидов - S100A8, S100A9 и β-дефензина 1. Антимикробные пептиды, оказывая иммуномодулирующее и противомикробное действие, предотвращают инвазию коринебактерий. Такая реакция врождённого иммунитета позволяет сдерживать патогенное воздействие *C. pseudodiphtheriticum* на организм человека, ограничивая её комменсализмом.

Микробиологическая диагностика инфекций, обусловленных *Corynebacterium* spp., в настоящее время целенаправленно не проводится. Нормативными документами регламентировано проведение микробиологической диагностики дифтерийной инфекции, обусловленной *C. diphtheriae* и таксономически близкими видами *C. ulcerans* и *C. pseudotuberculosis*, способными

продуцировать токсин¹.

Умение выделять другие представители рода *Corynebacterium* (*Corynebacterium* spp.), которые могут быть связаны с различными воспалительными заболеваниями, расценивается как критерий оценки качества работы бактериологических лабораторий, особенно в период снижения и спорадической заболеваемости дифтерией. Тем не менее, установление этиологической роли *Corynebacterium* spp. в развитии воспалительных заболеваний имеет немаловажное значение.

Проведение микробиологической диагностики заболеваний, связанных с *Corynebacterium* spp., представляет собой сложную задачу, поскольку серьёзной проблемой является точная корректная идентификация этих микроорганизмов, а также дифференциация между собой процессов колонизации органов и тканей организма и инфекции. Для идентификации *Corynebacterium* spp. в настоящее время используются фенотипические и молекулярно-генотипические методы исследования.

Для проведения фенотипической идентификации коринебактерий применяют культуральное исследование с последующим определением их биохимической активности. С этой целью используют отечественные Системы индикаторные бумажные для идентификации микроорганизмов: Набор № 5 для идентификации коринебактерий дифтерии» (АО НПО «Микроген», г. Москва), «ДС-ДИФ-КОРИНЕ» тест-системы для дифференциации микроорганизмов рода коринебактерий, в том числе возбудителя дифтерии и определения его токсигенных свойств (ООО «НПО «Диагностические системы», г. Нижний Новгород) и зарубежные тест-системы: API Coryne (BioMerieux, Франция), Rapid CB Plus (Remel/ThermoFisherScientific (США), система BBL Crystal Gram-Positive ID (Becton Dickinson, США) и др., автоматизированные системы Vitek 2. Однако перечень субстратов для биохимической идентификации коринебактерий ограничен и редко обновляется ввиду недостатка внимания со стороны клиницистов к коринебактериальной инфекции и возбудителям коринебактериозов.

Сложности видовой идентификации недифтерийных коринебактерий культуральным методом обусловлены следующими факторами: вариабельность фенотипа *Corynebacterium* spp. естественная и обусловленная проведением антимикробной терапии; требовательность к питательным средам и условиям культивирования; низкая метаболическая активность и медленный рост (у *C. amycolatum* и *C. xerosis*); возможность подавления роста коринебактерий другими условно-патогенными микроорганизмами (*Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* и др.); схожесть колоний (у *C. striatum* и коагулазонегативных стафилококков) и др. Особое внимание следует уделять идентификации близкородственных видов коринебактерий (*C. pseudodiphtheriticum* и *C. propinquum*, *C. striatum* и *C. amycolatum*, *C. xerosis* и др.), которые невозможно точно дифференцировать по биохимической активности ввиду низкой информативности культурального метода исследования.

Вид *C. pseudodiphtheriticum* является уреазоположительным, а *C. propinquum* – уреазоотрицательным, но некоторые штаммы *C. propinquum* могут проявлять

¹Лабораторная диагностика дифтерийной инфекции: Методические указания. М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека; 2023.

уреазную активность. Выявление этого признака является важным для дифференциации процессов колонизации и инфекции, поскольку патогенность недифтерийных коринебактерий связывают у некоторых видов коринебактерий (*C. rieggellii*) со способностью к продукции уреазы.

Для дифференциации процессов колонизации и инфекции, связанной с *Corynebacterium* spp. в респираторном тракте, следует определять их количество в биоматериале (отделяемое рото- и носоглотки, мокрота, промывные воды бронхов и др.) при условии соблюдения требований к его отбору, хранению и транспортировке. Выделение *Corynebacterium* spp. в количестве 10⁶ КОЕ/мл и более может явиться подтверждением их этиологической роли в развитии заболевания. Подтверждением этиологического значения недифтерийных коринебактерий в развитии воспалительных заболеваний может явиться и выделение их из обычно стерильных локусов организма или из нескольких образцов биоматериала, отобранных у пациента в течение нескольких дней; принадлежность выделенной культуры к госпитальному штамму или экovarу; выявление прямой корреляции между чувствительностью клинического изолята к АМП и эффективностью антимикробной терапии.

Недостатки культурального метода указывают на необходимость использования для точной идентификации этих микроорганизмов высокоинформативного молекулярно-генетического исследования (секвенирование генов 16S рРНК и *rpoB*, мультиплексная ПЦР и др.). Секвенирование генов 16S рРНК позволяет корректно идентифицировать виды коринебактерий, выявлять различия в последовательностях генов у большинства видов рода *Corynebacterium*, отличающихся на 1,3-1,4%. Однако точно установить видовую принадлежность почти 35% клинических изолятов *Corynebacterium* spp. с помощью секвенирования гена 16S рРНК не представляется возможным. Обусловлено это с тем, что данный метод имеет свои недостатки, связанные с полиморфизмом и малыми отличиями ($\leq 2\%$) гена 16S рРНК у близкородственных видов: *C. propinquum* и *C. pseudodiphtheriticum*; *C. xerosis*, *C. freneyi* и *C. hansenii*; *C. macginleyi* и *C. accolens* и других.

Секвенирование гена *rpoB* позволяет получить более точные результаты и является «золотым стандартом» микробиологической диагностики. Этим методом можно установить различия между видами коринебактерий, имеющими сходство последовательностей генов более 99% (например, *C. pseudodiphtheriticum* и *C. propinquum*). Этот метод имеет и ещё одно серьёзное преимущество, заключающееся в детекции генов патогенности и резистентности к АМП (например, у *C. striatum*), что является важным для установления этиологической роли этого микроорганизма как внутрибольничного патогена. Однако недостатком методов секвенирования генов *Corynebacterium* spp. является их высокая стоимость. Более дешёвым и простым является метод мультиплексной ПЦР, основанный на определении видоспецифичных генов-мишеней коринебактерий, позволяющий проводить дифференциацию *C. striatum*, *C. amycolatum*, *C. xerosis*, *C. jeikeium*, *C. urealyticum*, *C. minutissimum* и других.

Помимо культурального и молекулярно-генетиче-

ского методов исследования для быстрой идентификации *Corynebacterium* spp. возможно использование метода MALDI-ToF масс-спектрометрии с помощью коммерческих систем Bruker Biotyper (Bruker Daltonics, ФРГ) и VITEK®MS (bioMérieux, Франция). Метод основан на определении специфического, как «отпечаток пальца» для каждого вида коринебактерий масс-спектра рибосомальных белков, позволяющего точно идентифицировать 57-87% видов *Corynebacterium* spp. с индексом Score $\geq 2,0$. Метод MALDI-ToF масс-спектрометрии имеет и свои недостатки, связанные с невозможностью дифференциации близкородственных видов *C. pseudodiphtheriticum* и *C. propinquum*, *C. aurimucosum* и *C. minutissimum*. Ограничения масс-спектрометрического метода исследования связаны и с наличием неполной базы данных масс-спектров рибосомальных белков различных видов коринебактерий, которая пополняется недостаточно быстро.

Приведенные данные свидетельствуют о преимуществе молекулярно-генетических методов диагностики инфекций, связанных с *Corynebacterium* spp., но не исключают использование и других методов микробиологической диагностики.

Чувствительность и резистентность к АМП. Долгое время для *Corynebacterium* spp. отсутствовала ясность в понимании вопроса о критериях оценки их антибиотикочувствительности. Полагали, что следует либо сравнивать результаты определения их чувствительности и резистентности к АМП с аналогичными данными для грамположительных бактерий (стафилококки, стрептококки), либо учитывать только случаи полной резистентности к АМП, выявляемые диск-диффузионным методом и характеризующиеся полным отсутствием какой-либо зоны задержки роста. В настоящее время чувствительность и резистентность к АМП штаммов *Corynebacterium* spp. определяется в соответствии с Клиническими рекомендациями², которые ежегодно обновляются.

Фенотипически в большинстве случаев многие штаммы *C. pseudodiphtheriticum* сохраняют чувствительность к ванкомицину, тейкопланину, линезолиду, даптомицину. Клинические изоляты *C. pseudodiphtheriticum* чувствительны обычно также к пенициллину, аминогликозидам, рифампицину, гентамицину. У некоторых клинических изолятов *C. pseudodiphtheriticum* выявлена резистентность к макролидам, клиндамицину, хлорамфениколу, цефтриаксону, цефотаксиму, цефокситину, цефтазидиму, имипенему, котримоксазолу. Клинические изоляты *C. striatum*, как правило, обладают МЛУ к АМП: пенициллину, цефотаксиму имипенему, эритромицину, тетрациклину, рифампицину, ципрофлоксацину. Выделяют клинические штаммы *C. striatum*, особенно относящиеся к возбудителям ИСМП, резистентные к ванкомицину и даптомицину. В последние годы увеличивается количество штаммов недифтерийных коринебактерий (*C. amycolatum*, *C. jeikeium*, *C. striatum*, *C. tubercularis*), резистентных к пенициллину и цефотаксиму, что свидетельствует о способности этих микроорганизмов продуцировать β -лактамазы. У подавляющего боль-

шинства клинических изолятов *Corynebacterium* spp. во всем мире выявляют резистентность к клиндамицину (60-90% случаев) и реже – эритромицину.

При проведении полногеномного секвенирования и ПЦР наиболее часто у штаммов *Corynebacterium* spp., выделяемых из различных источников, обнаруживают ген *ermX*, кодирующий фермент метилазу рРНК и способствующий формированию резистентности к макролидам (клиндамицину, эритромицину), линкозамидам, стрептограминам В. Ген *ermX* обнаруживают у коринебактерий как в составе хромосом, так и мобильных генетических элементов (плазмиды, транспозоны, Is-последовательности), что указывает на возможность его горизонтального распространения от других видов микроорганизмов в пределах различных географических регионов. У штаммов *C. striatum*, характеризующихся МЛУ, помимо гена *erm(X)*, выявлены и другие группы генов резистентности к АМП. У *Corynebacterium* spp. обнаружены гены *aac* (ацил-коферментА-зависимая ацетилтрансфераза), *ant* (нуклеозидтрифосфат-зависимая нуклеотидилтрансфераза), *aph* (нуклеозид-зависимая фосфотрансфераза), кодирующие резистентность к аминогликозидам и хлорамфениколу, *tetA* и *tetB*, кодирующие резистентность к тетрациклину, окситетрациклину, оксациллину. Ген *stm* обнаружен в транспозонах, плаزمидах, геномах различных видов *Corynebacterium* spp., в частности, у штаммов, устойчивых к хлорамфениколу. Некоторые механизмы устойчивости к АМП, например, фторхинолонам, у *Corynebacterium* spp. связаны со спонтанными мутациями в гене, кодирующем субъединицу А фермента гиразы в штаммах *C. amycolatum* и типом заменяемой аминокислоты. Комбинации аминокислот Val/Asn и Tyr/Asp в положениях 87 и 91 области QRDR *gyrA*-гена соответственно, придают устойчивость к ципрофлоксацину и моксифлоксацину. Приобретенная резистентность к АМП у коринебактерий может быть генетически детерминирована (мутации, горизонтальный перенос генов резистентности в биопленке), обусловлена регуляцией экспрессии генов, приводящей к активации (эффлокс) или угнетению (проницаемость) механизмов взаимодействия АМП с клеткой. Механизмы приобретенной антибиотикорезистентности заключаются в исчезновении мишени для АМП, продукции ферментов, инактивирующих АМП, снижении проницаемости цитоплазматической мембраны клетки, гиперфункции эффлокс-помп.

Известно, что у резистентных к АМП микроорганизмов метаболизм приостанавливается: они способны к выживанию, но не размножению. В результате этого изменяется их морфологическое строение, химический состав и, возможно, патогенные свойства. Определение антибиотикорезистентности у недифтерийных коринебактерий является необходимым при проведении микробиологической диагностики. Это важно, с одной стороны, для выбора адекватной антибиотикотерапии при лечении коринебактериозов, с другой – известно, что изоляты *Corynebacterium* spp., обладающие резистентностью к АМП, и особенно, МЛУ, проявляют, как правило, выраженные патогенные свойства. Проведение антимикробной терапии, по-видимому, способствует колонизации *C. pseudodiphtheriticum* организма человека, что указывает на необходимость тщательно-

²Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам: клинические рекомендации (EUCAST, 2024). URL: <https://www.antibiotic.ru/library/eucast-eucast-clinical-breakpoints-bacteria-13-0-rus/>.

го подбора АМП. Это свидетельствует об увеличении риска перехода от комменсального существования к паразитическому у недифтерийных коринебактерий вследствие формирования антибиотикорезистентности. Особую важность имеет выявление клинических изолятов с МЛУ, расцениваемых в настоящее время как высоко патогенные. Для успешной борьбы с коринебактериозами – инфекциями, связанными с *Corynebacterium* spp., необходимо основываться на данных микробиологической диагностики и одновременно использовать несколько (два и более) АМП, относящихся к различным группам: ванкомицин, рифампицин, линезолид, даптомицин.

Совершенствование новых методов идентификации *Corynebacterium* spp., исследование их факторов патогенности и установление значения для организма человека являются актуальной проблемой отечественной медицины и практического здравоохранения и открывают широкие перспективы для дальнейших исследований.

Вопросы для самоконтроля:

Этиология коринебактериозов.

Роль факторов патогенности *Corynebacterium* spp. в развитии гнойно-воспалительных заболеваний человека.

Микробиологические методы клинической лабораторной диагностики коринебактериозов.

ЛИТЕРАТУРА (П.П. 6-9 СМ. REFERENCES)

1. Мангутов Э.О., Алиева А.А., Харсеева Г.Г., Воронина Н.А., Алексеева Л.П., Евдокимова В.В. и др. *Corynebacterium* spp.: взаимосвязь патогенных свойств и резистентности к антимикробным препаратам. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2022; 67 (9): 519–24.
2. Мангутов Э.О., Харсеева Г.Г., Подойницына О.А., Носков А.К., Кругликов В.Д., Алутина Э.Л. и др. *Corynebacterium* spp.: анализ профилей резистентности к антимикробным препаратам у изолятов от больных с воспалительными заболеваниями респираторного тракта и практически здоровых лиц. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2023; 68 (6): 356–64.
3. Мангутов Э.О., Харсеева Г.Г., Подойницына О.А., Кругликов В.Д., Носков А.К., Алутина Э.Л. и др. *Corynebacterium* spp.: отличия фено- и генотипических маркеров патогенности изолятов от больных с воспалительными заболеваниями респираторного тракта и практически здоровых лиц. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2023; 68 (10): 604–12.
4. Харсеева Г.Г., Тюкавкина С.Ю., Миронов А.Ю. Дифтерия: характеристика возбудителя и лабораторная диагностика. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2020; 65 (11): 699–706.
5. Борисова О.Ю., Полосенко О.В., Чагина И.А., Гадуа Н.Т., Пименова А.С., Андриевская И.Ю. и др. Совершенствование бактериологического метода при идентификации коринебактерий. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2024; 69 (6): 265–71.
1. Mangutov E.O., Alieva A.A., Kharseeva G.G., Voronina N.A., Alekseeva L.P., Evdokimova V.V. et al. *Corynebacterium* spp.: relationship between pathogenic properties and resistance to antimicrobial drugs. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2022; 67 (9): 519–24. DOI: 10.51620/0869-2084-2022-67-9-519-524. (in Russian)
2. Mangutov E.O., Kharseeva G.G., Podoynitsyna O.A., Noskov A.K., Kruglikov V.D., Alutina E.L. et al. *Corynebacterium* spp.: analysis of antimicrobial resistance profiles in isolates from patients with inflammatory diseases of the respiratory tract and practically healthy individuals. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2023; 68 (6): 356–64. DOI: 10.51620/0869-2084-2023-68-6-356-364. (in Russian)
3. Mangutov E.O., Kharseeva G.G., Podoynitsyna O.A., Kruglikov V.D., Noskov A.K., Alutina E.L. et al. *Corynebacterium* spp.: differences in pheno- and genotypic markers of pathogenicity of isolates from patients with inflammatory diseases of the respiratory tract and practically healthy individuals. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2023; 68 (10): 604–12. DOI: 10.51620/0869-2084-2023-68-10-604-611. (in Russian)
4. Kharseeva G.G., Tyukavkina S.Yu., Mironov A.Yu. Diphtheria: characteristics of the pathogen and laboratory diagnostics. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2020; 65 (11): 699–706. DOI: 10.18821/0869-2084-2020-65-11-699-706. (in Russian)
5. Borisova O.Yu., Polosenko O.V., Chagina I.A., Gadua N.T., Pimenova A.S., Andrievskaya I.Yu. et al. Improving the bacteriological method for identifying corynebacteria. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2024; 69 (6): 265–71. DOI: 10.51620/0869-2084-2024-69-6-265-271. (in Russian)
6. Badell E., Hennart M., Rodrigues C., Passet V., Dazas M., Panunzi L. et al. *Corynebacterium rouxii* sp. nov., a novel member of the diphtheriae species complex. *Res. Microbiol*. 2020; 171 (3-4): 122–7. DOI: 10.1016/j.resmic.2020.02.003.
7. Möller J., Busch A., Berens C., Hotzel H., Burkovski A. Newly isolated animal pathogen *Corynebacterium silvaticum* is cytotoxic to human epithelial cells. *Int. J. Mol. Sci*. 2021; 22 (7): 3549. DOI: 10.3390/ijms22073549.
8. Qiu J., Shi Y., Zhao F., Xu Y., Xu H., Dai Y. et al. The pan-genomic analysis of *Corynebacterium striatum* revealed its genetic characteristics as an emerging multidrug-resistant pathogen. *Evol. Bioinform. Online*. 2023; 19: 11769343231191481. DOI: 10.1177/11769343231191481.
9. de Oliveira Sant'Anna L., Dos Santos L.S., Araújo M.R.B., da Rocha D.J.P.G., Ramos J.N., Baio P.V.P. et al. *Corynebacterium guaraldiae* sp. nov.: a new species of *Corynebacterium* from human infections. *Braz. J. Microbiol*. 2023; 54 (2): 779–90. DOI: 10.1007/s42770-023-00938-y.