

***Corynebacterium pseudodiphtheriticum:* Вероятнее патоген, чем пробиотик?**

Г. Г. Харсеева*, О. С. Щербатая, Э. Л. Алутина, В. В. Балахнова, С. Ю. Тюкавкина, А. В. Чепусова, Т. Д. Гасретова, О. И. Сылка

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

Резюме

Актуальность. *Corynebacterium pseudodiphtheriticum* рассматривается в последнее время все чаще как этиологический агент воспалительных заболеваний различной локализации, несмотря на то, что входит в состав микробиоты различных биотопов организма человека. По данным литературы известно, что для недифтерийных коринебактерий и, в частности, *C. pseudodiphtheriticum*, характерна двойственность природы, проявляющаяся наличием не только патогенных, но и полезных для организма человека свойств. В связи с этим важной задачей является дифференциация колонизации и инфекции, обусловленной *C. pseudodiphtheriticum*, что может стать возможным при изучении генетической структуры и фенотипа вирулентности, обусловливающих патогенное воздействие на организм человека. **Цель.** Анализ результатов исследования структуры генома и фенотипа, характеризующих патогенный и полезный потенциал филогенетически близкородственных клинических изолятов *C. pseudodiphtheriticum* и *C. propinquum* со слизистой оболочки ротоглотки здоровых людей. **Материалы и методы.** Штаммы *C. pseudodiphtheriticum* ЩХ2, ЩХ3, ЩХ6 и *C. propinquum* ЩХ4 идентифицированы масс-спектрометрическим методом. Проведено их полногеномное секвенирование и поиск генов патогенности, резистентности к антибиотикам (АМП), синтеза аминокислот, витаминов и терпенов. Вирулентность определяли на модели личинок восковой моли *Galleria mellonella*, чувствительность к АМП – диско-диффузионным методом, продукцию аминокислоты – tandemной масс-спектрометрией. **Результаты и обсуждение.** Установлено, что все исследованные изоляты содержат широкий набор полифункциональных генов, регулирующих метаболизм, патогенность (адгезия, выживание внутри макрофагов, формирование биопленки и др.), резистентность к АМП, а также ген *rpf2*, кодирующий переход коринебактерий от комменсализма к паразитизму. Все исследованные штаммы низковирулентны, продукцируют глицин и валин, изоляты *C. pseudodiphtheriticum* ЩХ2, ЩХ6 и *C. propinquum* ЩХ4 – аланин. У исследованных штаммов не обнаружено полного соответствия фено- и генотипа резистентности к АМП. *C. pseudodiphtheriticum* ЩХ6 относится к категории МЛУ, проявляя фенотипическую резистентность к бензилпенициллину, цiproфлоксацину и рифампицину. **Заключение.** Таким образом, двойственность природы близкородственных штаммов *C. pseudodiphtheriticum* и *C. propinquum* характеризуется наличием тесной связи между патогенными и полезными свойствами. Реализация патогенного потенциала этих микроорганизмов при отсутствии истинных генов патогенности может происходить при активации генов, предположительно связанных с патогенностью. Это свидетельствует о необходимости осторожного подхода при оценке штаммов *C. pseudodiphtheriticum* (*C. propinquum*) как потенциальных пробиотиков даже при наличии широкого спектра полезных свойств, учитывая их способность к переходу от комменсализма к паразитизму.

Ключевые слова: *Corynebacterium pseudodiphtheriticum*, геномный анализ, патогенность, резистентность к АМП, фенотип, пробиотик

Конфликт интересов не заявлен.

Для цитирования: Харсеева Г. Г., Щербатая О. С., Алутина Э. Л. и др. *Corynebacterium pseudodiphtheriticum: вероятнее патоген, чем пробиотик?* Эпидемиология и Вакцинопрофилактика. 2025;24(5):67-79. <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2025-24-5-67-79>

Corynebacterium pseudodiphtheriticum: More Likely a Pathogen than a Probiotic?

GG Kharseeva**, OS Shcherbataya, EL Alutina, VV Balakhnova, SYu Tyukavkina, AV Chepusova, TD Gasretova, OI Sylka

Federal State Educational Institution of Higher Education «Rostov State Medical University» Ministry of Health of Russia, Russia

Abstract

Relevance. *Corynebacterium pseudodiphtheriticum* has recently been increasingly considered as an etiologic agent of inflammatory diseases of various localizations, despite the fact that it is part of the microbiota of various biotopes of the human body. According to the literature, non-diphtheria corynebacteria and, in particular, *C. pseudodiphtheriticum*, are characterized by a dual nature, which

* Для переписки: Харсеева Галина Георгиевна, д. м. н., профессор, заведующая кафедрой микробиологии и вирусологии № 2, ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России, 344022, г. Ростов-на-Дону, пер. Нахичеванский, 29. +7 (863) 250-41-09, galinagh@bk.ru. ©Харсеева Г. Г. и др.

** For correspondence: Kharseeva Galina G., Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of the Department of Microbiology and Virology № 2, Federal State Educational Institution of Higher Education «Rostov State Medical University» Ministry of Health of Russia, 29, Nakhichevansky Lane, Rostov-on-Don, 344022, Russia. +7 (863) 250-41-09, galinagh@bk.ru. ©Kharseeva GG, et al.

Practical Aspects of Epidemiology and Vaccine Prevention

is manifested by the presence of not only pathogenic, but also beneficial properties for the human body. In this regard, an important task is to differentiate colonization and infection caused by *C. pseudodiphtheriticum*, which may become possible when studying the genetic structure and virulence phenotype that determine the pathogenic effect on the human body. **Aims:** analysis of data from a study of the genome structure and phenotype characterizing the pathogenic and beneficial potential of phylogenetically closely related clinical isolates of *C. pseudodiphtheriticum* and *C. propinquum* from the oropharyngeal mucosa of healthy people. **Materials and methods.** Strains of *C. pseudodiphtheriticum* SX2, SX3, SX6 and *C. propinquum* SX4 were identified by mass spectrometry. Their whole genome sequencing and search for genes of pathogenicity, resistance to antimicrobial drugs (AMP), synthesis of amino acids, vitamins and terpenes were carried out. Virulence was determined on the model of wax moth larvae *Galleria mellonella*, sensitivity to AMP – by disk diffusion method, amino acid production – by tandem mass spectrometry. **Results and discussion.** It was found that all the studied isolates contain a wide range of polyfunctional genes regulating metabolism, pathogenicity (adhesion, survival inside macrophages, biofilm formation, etc.), resistance to AMP, as well as the *rpf2* gene encoding the transition of corynebacteria from commensalism to parasitism. All the studied strains are low-virulent, produce glycine and valine, isolates of *C. pseudodiphtheriticum* SX2, SX6 and *C. propinquum* SX4 – alanine. The studied strains did not have a complete match in the pheno- and genotype of resistance to AMP. *C. pseudodiphtheriticum* SX6 belongs to the MDR category, showing phenotypic resistance to benzylpenicillin, ciprofloxacin and rifampicin. **Conclusions.** Thus, the duality of the nature of closely related strains of *C. pseudodiphtheriticum* and *C. propinquum* is characterized by the presence of a close relationship between pathogenic and beneficial properties. The implementation of the pathogenic potential of these microorganisms in the absence of true pathogenicity genes can occur with the activation of genes presumably associated with pathogenicity. This suggests that caution is needed when evaluating *C. pseudodiphtheriticum* (*C. propinquum*) strains as potential probiotics, even if they have a wide range of beneficial properties, given their ability to switch from commensalism to parasitism.

Keywords: *Corynebacterium pseudodiphtheriticum*, genomic analysis, pathogenicity, resistance to antibacterial drugs, phenotype, probiotic

No conflict of interest to declare.

For citation: Kharseeva GG, Shcherbataya OS, Alutina EL et al. *Corynebacterium pseudodiphtheriticum: more likely a pathogen than a probiotic?* Epidemiology and Vaccinal Prevention. 2025;24(5):67-79 (In Russ.). <https://doi:10.31631/2073-3046-2025-24-5-67-79>

Введение

Corynebacterium pseudodiphtheriticum рассматривается в последнее время все чаще как этиологический агент воспалительных заболеваний различной локализации, несмотря на то, что входит в состав микробиоты различных биотопов организма человека [1–4]. Однако до сих пор инфекции, вызванные *C. pseudodiphtheriticum* и другими видами недифтерийных коринебактерий, по-прежнему классифицируются как контаминация и упускаются из виду при клинической и лабораторной диагностике. Коринебактериальная инфекция, как правило, развивается у людей на фоне иммунодефицитных состояний, но наблюдаются случаи заболевания и у иммунокомпетентных пациентов [5,6]. Инфекции, обусловленные *C. pseudodiphtheriticum*, зарегистрированы более чем в 20 странах мира, как экономически развитых, так и развивающихся [1]. *C. pseudodiphtheriticum* может явиться причиной заболеваний дыхательных путей (бронхит, пневмония), в том числе и дифтериеподобного заболевания у полностью привитых дифтерийным анатоксином детей [7–9], вызывает развитие гнойно-воспалительных инфекций у людей с сердечно-сосудистой патологией, вирусной инфекцией (ВИЧ, COVID-19), муковисцидозом, онкологическими заболеваниями и др. [10]. Этот микроорганизм не способен к продукции токсинов (дифтерийный, PLD), однако его патогенные свойства связывают с адгезивной, инвазивной и цитотоксической активностью [7]. *C. pseudodiphtheriticum* способен

образовывать биопленки на гидрофильных и гидрофобных поверхностях, в том числе внутри катетеров и пластин, покрытых фибриногеном или фибронектином [11]. Обычно клинические изоляты этого вида коринебактерий чувствительны к пенициллину, ванкомицину, тейкопланину, линезолиду, даптомицину [12,13]. В то же время сообщается о резистентности некоторых изолятов *C. pseudodiphtheriticum* к макролидам, хинолонам, линкозамидам, аминогликозидам, тетрациклинам, β-лактамам (в том числе – цефалоспоринам) [1,14]. При проведении лабораторной диагностики инфекций, связанных с *C. pseudodiphtheriticum*, следует принимать во внимание наличие резистентности к антимикробным препаратам (AMP), и особенно множественной. Это обусловлено тем, что у *Corynebacterium* spp. обнаружена взаимосвязь патогенности и резистентности к AMP [15], а также известно, что проведение антимикробной терапии способствует колонизации *C. pseudodiphtheriticum* организма человека [14].

Однако для недифтерийных коринебактерий и, в частности, *C. pseudodiphtheriticum*, характерна двойственность природы, что проявляется наличием не только патогенных, но и полезных для организма человека свойств. Так, некоторые штаммы *C. pseudodiphtheriticum* не только не обладают патогенностью, но, напротив, имеют биотехнологическое значение, проявляя адьювантную активность, способность продуцировать витамины и аминокислоты, а также антагонизм по отношению

к возбудителям различных инфекций [16]. В связи с этим важной задачей является дифференциация колонизации и инфекции, обусловленной *C. pseudodiphtheriticum*, что может стать возможным при изучении генетической структуры и фенотипа вирулентности, обусловливающих патогенное воздействие на организм человека.

Цель исследования – анализ результатов исследования структуры генома и фенотипа, характеризующих патогенный и полезный потенциал филогенетически близкородственных клинических изолятов *C. pseudodiphtheriticum* и *C. propinquum* со слизистой оболочки ротоглотки здоровых людей.

Материалы и методы

Исследованы клинические штаммы *C. pseudodiphtheriticum* ЩХ2, ЩХ3, ЩХ6 и *C. propinquum* ЩХ4, выделенные со слизистой оболочки ротоглотки практически здоровых лиц 41–42 лет в количестве 10³–10⁴ КОЕ/мл. Идентификацию исследованных штаммов проводили с помощью анализатора VITEK MS (BioMérieux, Франция) масс-спектрометрическим методом (MALDI-ToF MS, BioMérieux, Франция).

Для проведения полногеномного секвенирования тотальную ДНК исследованных клинических изолятов выделяли с помощью набора PureLinkTM Mini (Thermo Fisher Scientific, США). Полногеномное секвенирование осуществляли на платформе MGI (MGI Tech Co., Ltd, США) с использованием наборов MGIEasy FS DNA Library Prep Kit и MGI-Seq 2000RS High-throughput sequencing kit PE200 (MGI Tech Co., Ltd, США). Единичные прочтения собирали в контиги с помощью программного обеспечения SPAdes 3.9.0 [17,18]. Анализ качества сборки проводили с использованием пакета QUAST 5.0.2 [19,20]. Для поиска генов патогенности применяли базы данных факторов вирулентности (VFDB) [21] путем сравнения нуклеотидных последовательностей *C. pseudodiphtheriticum* с помощью BlastN, учитывая только результаты с покрытием выравнивания >80 % и идентичностью >60 %. Аннотацию геномных последовательностей выполняли с помощью программы Prokka 1.14.5 [22]. Функциональную интерпретацию генов, аннотированных в Prokka, проводили с привлечением экспертной системы DeepSeek Chat и последующей ручной верификацией.

Для поиска генов резистентности к АМП использовали программу Abricate 1.0.1 [23]. Сравнение нуклеотидных и аминокислотных последовательностей выполнено посредством Mega 6 [24,25].

Необходимо отметить, что клинический изолят *C. propinquum* ЩХ4 идентифицирован с использованием анализатора VITEK MS масс-спектрометрическим методом как *C. pseudodiphtheriticum*, а при проведении полногеномного секвенирования – *C. propinquum*. Виды *C. pseudodiphtheriticum* и *C. propinquum* являются филогенетически близкородственными, отличия между

ними незначительны, однако для большей точности окончательная идентификация этого клинического изолята проведена с учетом результатов полногеномного секвенирования.

Вирулентность исследованных штаммов определяли на модели личинок восковой моли *Galleria mellonella* по величине параметра LD₅₀ [26].

Проверялась диско-диффузионным методом на автоматизированном баканализаторе VITEK 2 Compact (BioMérieux) чувствительность изолятов недифтерийных коринебактерий к бензилпенициллину, цiproфлоксацину, моксифлоксацину, гентамицину, ванкомицину, эритромицину, клиндамицину, тетрациклину, линезолиду, рифампицину в соответствии с Клиническими рекомендациями [27] и триметоприм-сульфометаксазолу.

Определение способности исследованных штаммов продуцировать аминокислоты осуществляли с помощью недериватизированной tandemной масс-спектрометрии на приборе QSight 225 MD UHPLC-MS/MS производства PerkinElmer (США). Штаммы коринебактерий культивировали в 20 % сывороточном бульоне в течение 24 часов, в качестве отрицательного фонового контроля использовали интактный 20 % сывороточный бульон. В на-досадочной жидкости определяли содержание аминокислот (мМоль/л). Использовали набор для недериватизированной tandemной масс-спектрометрии NeoBaseTM 2 Non-derivatized MSMS kit.

Авторские штаммы *C. pseudodiphtheriticum* ЩХ2, ЩХ3, ЩХ6 и *C. propinquum* ЩХ4 депонированы в Государственной коллекции патогенных микроорганизмов и клеточных культур «ГКМП-Оболенск» (справки № 2247, 2248, 2249, 2251 от 04 апреля 2025 г.). Аннотированные последовательности геномов исследованных изолятов размещены в международной базе данных GenBank как проект секвенирования PRJNA1236862 (SAMN47932095, SAMN47407091, SAMN47407092, SAMN47407094).

Результаты

При проведении анализа качества сборки секвенированных геномов клинических изолятов *C. pseudodiphtheriticum* и *C. propinquum* (табл. 1) установлена их достаточность для проведения биоинформационного исследования. Размеры генома у исследованных штаммов отличались несущественно, однако несколько больший размер генома обнаружен у штамма *C. pseudodiphtheriticum* ЩХ2 (2 534 548 п.н.). Соответственно у этого же клинического изолята количество предсказанных генов (2337) немного превышало таковое у других штаммов *C. pseudodiphtheriticum*, что могло свидетельствовать о его несколько более сложной генетической структуре.

Для оценки возможного патогенного потенциала клинических изолятов *C. pseudodiphtheriticum* и *C. propinquum* провели поиск генов, связанных с метаболизмом железа, способностью

Таблица 1. Характеристика сборки и последовательностей геномов клинических изолятов *C. pseudodiphtheriticum* и *C. propinquum***Table 1. Characteristics of the assembly and genome sequences of clinical isolates of *C. pseudodiphtheriticum* and *C. propinquum***

| Показатели Indicators | <i>C. pseudodiphtheriticum</i> ШХ2 <i>C. pseudodiphtheriticum</i> SX2 | <i>C. pseudodiphtheriticum</i> ШХ3 <i>C. pseudodiphtheriticum</i> SX3 | <i>C. propinquum</i> ШХ4 <i>C. propinquum</i> SX4 | <i>C. pseudodiphtheriticum</i> ШХ6 <i>C. pseudodiphtheriticum</i> SX6 |
|---|--|--|--|--|
| Сборка геномов Genome assembly | | | | |
| Количество контигов Number of contigs | 42 | 41 | 21 | 38 |
| N50 | 165,3 | 157,4 | 422,1 | 135,6 |
| L50 | 5 | 6 | 2 | 6 |
| Глубина охвата Depth of coverage | 428 | 652 | 432 | 784 |
| Проекты последовательности геномов Genome Sequence Projects | | | | |
| Размер генома (пары оснований) Genome size (base pairs) | 2 534 548 | 2 290 963 | 2 444 908 | 2 290 099 |
| Содержание Г/Ц(%) G/C content (%) | 56,5 | 55,5 | 56,5 | 55,5 |
| Гены (всего) Genes (total) | 2337 | 2075 | 2216 | 2068 |
| Кодирующие последовательности ДНК (всего) DNA coding sequences (total) | 2284 | 2022 | 2164 | 2016 |
| Гены (кодирующие) Genes (coding) | 2232 | 1972 | 2124 | 1972 |
| Кодирующие последовательности ДНК (с белком) DNA coding sequences (with protein) | 2232 | 1972 | 2124 | 1972 |
| pPHK(5S, 16S, 23S) rRNA (5S, 16S, 23S) | 1, 1, 3 (5S, 16S, 23S) | 1, 1, 2 (5S, 16S, 23S) | 1, 1, 1 (5S, 16S, 23S) | 1, 1, 1 (5S, 16S, 23S) |
| pPHK (полные) rRNA (total) | 1, 1 (5S, 16S) | 1, 1 (5S, 16S) | 1, 1, 1 (5S, 16S, 23S) | 1, 1, 1 (5S, 16S, 23S) |
| tPHK tRNA | 45 | 46 | 46 | 46 |
| Псевдогены (всего) Pseudogenes (total) | 52 | 50 | 40 | 44 |

к выживанию в макрофагах, адгезии, формированию биопленки (табл. 2).

Исследованные штаммы *C. pseudodiphtheriticum* и *C. propinquum* содержали достаточно широкий набор связанных с метаболизмом железа генов, ответственных за поступление гемина в корине-бактерии, связывание железа, регулирование его уровня в бактериальной клетке, депонирование избыточного железа в нетоксичной форме (*hmuOUV*; *mntA,B,C,D*; *nrdH*; *poxB*; *catC,D,E*; *acn*; *ftnA*). Помимо

этого, все исследованные клинические изоляты содержали ген *dtxR* – железосвязывающий репрессор экспрессии гена дифтерийного токсина. Полифункциональные гены *potH,E*, кодирующие транспорт железа, повышенную агрегацию клеток, формирование биопленки, модуляцию ионных каналов, антиоксидантную и осморегулирующую активность, выявили только у штаммов *C. pseudodiphtheriticum* ШХ2 и *C. pseudodiphtheriticum* ШХ6. Ген *feoB*, кодирующий синтез пермеаз-переносчиков железа,

Таблица 2. Гены клинических изолятов *C. pseudodiphtheriticum* и *C. propinquum*, связанные с патогенностью
Table 2. Genes of clinical isolates of *C. pseudodiphtheriticum* and *C. propinquum* associated with pathogenicity

| Функция/гены Function/genes | <i>C. pseudodiphtheriticum</i> ШХ2 | <i>C. pseudodiphtheriticum</i> ШХ3 | <i>C. propinquum</i> ШХ4 | <i>C. pseudodiphtheriticum</i> ШХ6 |
|--|------------------------------------|------------------------------------|--------------------------|------------------------------------|
| Участие в метаболизме железа (поглощение, транспорт, окисление) Participation in iron metabolism (absorption, transport, oxidation) | | | | |
| <i>dtxR; hmuOUV; mntA,B,C,D; nrdH; poxB; catC,D,E; acn; ftnA</i> | + | + | + | + |
| <i>feoB</i> | | + | | |
| <i>potH, E</i> | + | | | + |
| <i>exbD</i> | | | | + |
| Синтез сидерофоров Siderophore synthesis | | | | |
| <i>entE</i> | | | + | |
| Выживаемость в макрофагах и их активация Survival in macrophages and their activation | | | | |
| <i>ktrAB; esxA,B; lipA</i> | + | + | + | + |
| <i>aphC</i> | + | | | |
| Адгезия Adhesion | | | | |
| <i>srtE; tuf; glfT1; tagH; mmpL3; yfiY; cugP; glf, dipZ</i> | + | + | + | + |
| <i>parC</i> | + | | | + |
| Переход от комменсализма к паразитизму Transition from commensalism to parasitism | | | | |
| <i>rpf2</i> | + | + | + | + |
| Формирование биопленки Biofilm formation | | | | |
| <i>rpf2; dnaK; groEL; katA; fadD_1</i> | + | + | + | + |
| Метаболизм с возможной функцией патогенности Metabolism with possible pathogenicity function | | | | |
| <i>cspA; groEL L1/2,S; opuAB; esxA,B; secA1,Y; bcr; accD5_1/accD5_</i> | + | + | + | + |
| <i>secA2</i> | + | + | | + |
| <i>opuAA</i> | + | | | |

обнаружен только у изолята *C. pseudodiphtheriticum* ШХ3. Ген *exbD*, ответственный за захват железа из ферритина, лактоферрина и трансферрина, обнаружен только у изолята *C. pseudodiphtheriticum* ШХ6. Ген *entE*, детерминирующий синтез ферментного комплекса, ответственного за синтез энтеробактина – мощного сидерофора, который используется бактериями для захвата железа из окружающей среды, выявлен только у изолята *C. propinquum* ШХ4.

У всех клинических изолятов обнаружены гены, кодирующие способность к выживанию внутри макрофагов (*ktrAB*, *esxA,B*, *lipA*), однако ген *aphC*, кодирующий защиту бактерий от окислительного стресса и восстановление их жизнеспособности в фагосомах, обнаружен только у штамма *C. pseudodiphtheriticum* ШХ2. Гены, связанные с адгезией (*srtE*; *tuf*; *glfT1*; *tagH*; *mmpL3*; *yfiY*; *cugP*; *glf*, *dipZ*), представлены

у всех изолятов, лишь ген *parC*, кодирующий выработку фимбриального протеина, обнаружен только у изолятов *C. pseudodiphtheriticum* ЩХ2 и *C. pseudodiphtheriticum* ЩХ6.

Примечательно, что все исследованные штаммы содержали ген *rpf2*, кодирующий переход коринебактерий от комменсализма к паразитизму и процессу биопленкообразования, а также достаточно широкий набор генов, непосредственно связанных с формированием биопленки (*dnaK*; *groEL*; *katA*; *fadD_1*).

У всех исследованных клинических изолятов *C. pseudodiphtheriticum* и *C. propinquum* с незначительными отличиями представлены разнообразные полифункциональные гены, определяющие как метаболические процессы, так и патогенность (*cspA*; *groEL L1/2,S*; *oriuAA,AB*; *esxA,B*; *secA1,A2,Y*; *bcr*; *accD5_1/accD5*). Функция этих генов, с одной стороны, состоит в защите бактериальной клетки от стресса, обеспечении стабильности собственных белков и восстановлении их третичной структуры после стрессорных воздействий (рефолдинг), осморегуляции, инкапсулировании чужеродных белков, обмене веществ и перемещении субстрата через мембрану. С другой стороны, указанные гены регулируют процессы адгезии, биопленкообразование, выделение факторов патогенности, формирование пор в клетках хозяина, разрушение фагосом, а также формирование иммунного ответа, в том числе, и гиперчувствительность замедленного типа.

При определении вирулентности исследованных изолятов *C. pseudodiphtheriticum* и *C. propinquum* на модели личинок восковой моли *Galleria*

mellonella установлено, что все они относились к категории низковирулентных (LD_{50} колебалась в пределах 1×10^8 – 3×10^8 КОЕ/мл).

Анализируя наличие генов резистентности к АМП установлено (табл. 3), что все исследованные изоляты содержали ген *blaTEM-116*, кодирующий продукцию β -лактамаз расширенного спектра действия. У штаммов *C. pseudodiphtheriticum* ЩХ2, ЩХ3, ЩХ6 обнаружены гены *ctx*, *ermX*, *sull9*, детерминирующие резистентность к левомицетину, клиндамицину и эритромицину, триметоприм-сульфометаксазолу. Помимо этого, у всех исследованных штаммов выявлены гены, которые являются полифункциональными и связаны с метаболическими процессами и формированием резистентности к АМП (*yidC*, *recA*). У изолята *C. propinquum* ЩХ4 обнаружен полифункциональный ген *cydA*, который не только играет роль в развитии резистентности к АМП, но и участвует в аэробной дыхательной цепи, являясь лигандом гема – небелковой части гемоглобина, миоглобина и цитохромов, обеспечивающих перенос кислорода и электронов в бактериальную клетку. Выявленные гены, предположительно связанные с резистентностью к АМП, встречаются, по данным NCBI, не только у коринебактерий, но также у микобактерий и грамотрицательных микроорганизмов (эшерихии, сальмонеллы, псевдомонады, шигеллы и др.).

При определении соответствия фено- и генотипа резистентности к АМП установлено (табл. 4), что ни у одного из исследованных клинических изолятов не обнаружено полного соответствия между этими параметрами. Следует отметить, что у трех штаммов выявлено фено- и генотипическое

Таблица 3. Гены клинических изолятов *C. pseudodiphtheriticum* и *C. propinquum*, связанные с резистентностью к АМП

Table 3. Genes of clinical isolates of *C. pseudodiphtheriticum* and *C. propinquum* associated with resistance to AMPs

| Функция/гены Function/genes | <i>C. pseudodiphtheriticum</i> ЩХ2 | <i>C. pseudodiphtheriticum</i> ЩХ3 | <i>C. pseudodiphtheriticum</i> ЩХ3 | <i>C. propinquum</i> ЩХ4 | <i>C. pseudodiphtheriticum</i> ЩХ6 |
|---|------------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|--------------------------|------------------------------------|
| Гены резистентности к АМП AMP resistance genes | | | | | |
| <i>blaTEM-116</i> | + | + | + | + | + |
| <i>ctx</i> , <i>ermX</i> , <i>sull_9</i> | + | + | | | + |
| Гены, предположительно связанные с резистентностью к АМП Genes putatively associated with AMP resistance | | | | | |
| <i>yidC</i> , <i>recA</i> | + | + | + | + | + |
| <i>cydA</i> | | + | | | |

Таблица 4. Соответствие фено- и генотипа резистентности к АМП клинических изолятов *C. pseudodiphtheriticum* и *C. propinquum***Table 4. Correspondence between the pheno- and genotype of resistance to AMPs of clinical isolates of *C. pseudodiphtheriticum* and *C. propinquum***

| Вид Type | Фенотип резистентности к АМП в соответствии с Клиническими рекомендациями Phenotype of resistance to AMP in accordance with Clinical guidelines | Категория Category | Гены Genes | Фенотип генов резистентности к АМП Phenotype of AMP resistance genes |
|--|--|-----------------------|--------------------|---|
| <i>C. pseudodiphtheriticum</i> ШХ2 <i>C. pseudodiphtheriticum</i> SX2 | Клиндамицин Clindamycin | - | <i>blaTEM-116_</i> | - |
| | | | <i>ermX</i> | Клиндамицин Clindamycin |
| | | | <i>sull_9</i> | Триметоприм-сульфометаксазол Trimethoprim-sulfamethoxazole |
| | | | <i>cmx</i> | - |
| <i>C. pseudodiphtheriticum</i> ШХ3 <i>C. pseudodiphtheriticum</i> SX3 | Ципрофлоксацин Клиндамицин Ciprofloxacin Clindamycin | - | <i>blaTEM-116_</i> | Бензилпенициллин Benzylpenicillin |
| | | | <i>erm(X)</i> | Клиндамицин Clindamycin |
| | | | <i>sull_9</i> | Триметоприм-сульфометаксазол Trimethoprim-sulfamethoxazole |
| | | | <i>cmx</i> | - |
| <i>C. propinquum</i> ШХ4 <i>C. propinquum</i> SX4 | - | - | <i>blaTEM-116_</i> | - |
| <i>C. pseudodiphtheriticum</i> ШХ6 <i>C. pseudodiphtheriticum</i> SX6 | Бензилпенициллин Ципрофлоксацин Рифампицин Benzylpenicillin Ciprofloxacin Rifampicin | МЛУ MDR | <i>blaTEM-116_</i> | Бензилпенициллин Benzylpenicillin |
| | | | <i>ermX</i> | - |
| | | | <i>sull_9</i> | Триметоприм-сульфометаксазол Trimethoprim-sulfamethoxazole |
| | | | <i>cmx</i> | - |

соответствие – наличие гена *sull9*, кодирующе го резистентность к триметоприм-сульфометаксазолу. При этом определение чувствительности *Corynebacterium* spp. к этому препарату не регламентируется Клиническими рекомендациями [27]. Штамм *C. pseudodiphtheriticum* ШХ6 относится к категории МЛУ, проявляя фенотипическую резистентность к бензилпенициллину, ципрофлоксацину и рифампицину.

У всех исследованных клинических изолятов *C. pseudodiphtheriticum* ШХ2, ШХ3, ШХ6 и *C. propinquum* ШХ4 обнаружены гены, детерминирующие синтез незаменимых (аргинин, валин, лейцин, изолейцин, лизин, фенилаланин, триптофан) и заменимых аминокислот (аланин, глутаминовая кислота, глицин, орнитин, пролин, тирозин), витаминов и терпенов (табл. 5).

Все исследованные клинические изоляты про дуцировали валин и глицин (табл. 6), изоляты *C. pseudodiphtheriticum* ШХ2, ШХ6 и *C. propinquum* ШХ4 – аланин. Уровень продукции этих аминокислот в надосадочной жидкости сывороточного

бульона варьировал, причем наиболее высоким он оказался у штамма *C. pseudodiphtheriticum* ШХ2. Уровень других аминокислот в условиях культивирования в надосадочной жидкости напротив, снижался, несмотря на наличие генов, кодирующих их синтез.

Обсуждение

Известно, что микроорганизмы, относящиеся к виду *C. pseudodiphtheriticum*, имеют двойственную природу. С одной стороны, они способны проявлять патогенные свойства и вызывать у людей гнойно-воспалительные заболевания различной локализации [10]. Несмотря на это, в настоящее время не существует инструктивных документов, регламентирующих лабораторную диагностику инфекций, вызываемых *C. pseudodiphtheriticum*. Обнаружение их в клиническом материале расценивают как загрязнение и не принимают во внимание. С другой стороны, имеются указания на способность штаммов *C. pseudodiphtheriticum* проявлять полезные свойства, и они рассматриваются

Таблица 5. Гены клинических изолятов *C. pseudodiphtheriticum* и *C. propinquum*, связанные с синтезом полезных веществ**Table 5. Genes of clinical isolates of *C. pseudodiphtheriticum* and *C. propinquum* associated with the synthesis of useful substances**

| Функция/гены Function/genes | <i>C. pseudodiphtheriticum</i> ШХ2 <i>C. pseudodiphtheriticum</i> SX2 | <i>C. Pseudodiphtheriticum</i> ШХ3 <i>C. pseudodiphtheriticum</i> SX3 | <i>C. propinquum</i> ШХ4 <i>C. propinquum</i> SX4 | <i>C. Pseudodiphtheriticum</i> ШХ6 <i>C. pseudodiphtheriticum</i> SX6 |
|---|--|--|--|--|
| Незаменимые аминокислоты (аргинин, валин, лейцин, изолейцин, лизин, фенилаланин, триптофан) Essential amino acids (arginine, valine, leucine, isoleucine, lysine, phenylalanine, tryptophan) | | | | |
| <i>argB, D, F, G, H, J, R; ilv; leuA, B, C, D; lysS1; pheS; trpB, G</i> | + | + | + | + |
| Заменимые аминокислоты (аланин, глутаминовая кислота, глицин, орнитин, пролин, тирозин) Replaceable amino acids (alanine, glutamic acid, glycine, ornithine, proline, tyrosine) | | | | |
| <i>alaC, S, gdhA; glnA, gdh; glyA; argB, C, D, J; proA, B; tyrA, S</i> | + | + | + | + |
| Витамины (B7, B9, B12, K) Vitamins (B7, B9, B12, K) | | | | |
| <i>bioB; folE, C; btuD; menA, B, F, G</i> | + | + | + | + |
| Терпены Terpenes | | | | |
| <i>dxs; dxr; ispA, D, E, F, G, H; fni; idi; uppS; hepT</i> | + | + | + | + |

как потенциальные пробиотики [16]. Для доказательства участия этих микроорганизмов в патологическом процессе или, напротив, полезного потенциала для организма человека необходим подробный анализ их генетической структуры и фенотипа.

Учитывая возможный переход штаммов *C. pseudodiphtheriticum*, составляющих значительную часть микрофлоры различных биотопов человеческого организма, от комменсализма к паразитизму, представлялось интересным оценить патогенный и полезный потенциал клинических изолятов этих микроорганизмов от практически здоровых людей. В исследование включены штаммы *C. pseudodiphtheriticum* и *C. propinquum*, выделенные со слизистой оболочки ротоглотки здоровых людей. Это обусловлено тем, что наиболее часто они вызывают развитие воспалительных заболеваний именно дыхательных путей [1]. Все исследованные штаммы имели относительно небольшие размеры генома, схожие с *C. diphtheriae*, что косвенно указывает на возможность проявления патогенных свойств [28]. Незначительно отличался от прочих штамм *C. pseudodiphtheriticum* ШХ2, размеры генома которого несколько больше и составили 2 534 548 п.н.

Вид *C. pseudodiphtheriticum* не имеет истинных генов патогенности, кодирующих продукцию экзотоксинов (дифтерийного, PLD), поэтому при анализе патогенного потенциала исследованных штаммов проводили поиск генов, которые могут быть связаны с патогенностью, регулируя метаболизм железа, способность к выживанию в макрофагах, адгезию, формирование биопленки и др. Как правило, эти гены полифункциональны, помимо их возможной связи с патогенностью, они участвуют и в регулировании процессов жизнедеятельности бактериальной клетки. Эти гены, по данным NCBI, встречаются не только у коринебактерий, но часто у микобактерий, что свидетельствует о близком филогенетическом родстве этих микроорганизмов, а также у грамотрицательных (эшерихии, сальмонеллы, шигеллы, протей, ацинетобактерии, псевдомонады, легионеллы и др.) и грамположительных бактерий (стафилококки, стрептококки, лактобактерии, клостридии, бациллы, листерии и др.), сахаромицет, аспергилл и др.

Анализ содержания у исследованных клинических изолятов *C. pseudodiphtheriticum* и *C. propinquum* генов, предположительно связанных с патогенностью, показал, что все они имели в составе генома достаточно широкий набор генов, связанных

Таблица 6. Уровень продукции аминокислот штаммами *C. pseudodiphtheriticum* и *C. propinquum* (мМоль/л)
Table 6. Level of amino acid production by *C. pseudodiphtheriticum* and *C. propinquum* strains (mmol/l)

| Наименование аминокислот Name of amino acids | <i>C. pseudodiphtheriticum</i> ШХ2 <i>C. pseudodiphtheriticum</i> SX2 | <i>C. Pseudodiphtheriticum</i> ШХ3 <i>C. pseudodiphtheriticum</i> SX3 | <i>C. propinquum</i> ШХ4 <i>C. propinquum</i> SX4 | <i>C. Pseudodiphtheriticum</i> ШХ6 <i>C. pseudodiphtheriticum</i> SX6 |
|--|--|--|--|--|
| Аланин Alanine | 38,5 | -7,5 | 44,0 | 17,5 |
| Аргинин Arginine | -40,0 | -80,0 | -66,5 | -65,5 |
| Аргинин-янтарная кислота Arginine-succinic acid | -0,8 | -1,1 | -1,1 | -0,8 |
| Цитрулин Citrulline | -7,8 | -4,6 | -2,9 | -2,0 |
| Глутамин/лизин Glutamine/Lysine | -46,5 | -60,0 | -11,0 | -47,5 |
| Глутаминовая кислота Glutamic acid | -133,7 | -88,9 | -53,0 | -30,0 |
| Глицин Glycine | 228,5 | 120,5 | 89,5 | 87,5 |
| Лейцин/изолейцин/гидроксипролин Leucine/isoleucine/hydroxyproline | -45,0 | -125,0 | -65,0 | -135,0 |
| Метионин Methionine | -10,5 | -12,5 | -11,5 | -8,5 |
| Орнитин Ornithine | -38,2 | -39,4 | -33,9 | -38,4 |
| Фенилаланин Phenylalanine | -68,5 | -65,5 | -43,5 | -51,5 |
| Пролин Proline | -106,8 | -92,8 | -25,0 | -20,5 |
| Тирозин Tyrosine | -23,0 | -30,0 | -12,5 | -24,0 |
| Валин Valin | 113,5 | 39,5 | 50,0 | 39,0 |

с метаболизмом железа (*hmuOUV*; *mntA,B,C,D*; *nrdH*; *roxB*; *catC,D,E*; *acn*; *ftnA*), способностью к выживанию в макрофагах (*ktrAB*, *esxA,B*, *lipA*), адгезией (*srtE*; *tuf*; *glfT1*; *tagH*; *mmpL3*; *yfiY*; *cugP*; *glf*, *dipZ*), формированием биопленки (*dnaK*; *groEL*; *katA*; *fadD_1*), а также регулированием метаболических процессов с возможной функцией патогенности (*cspA*; *groEL L1/2,S*; *oriuAA,AB*; *esxA,B*; *secA1,A2,Y*; *bcr*; *accD5_1/accD5*). Различия между исследованными штаммами *C. pseudodiphtheriticum* и *C. propinquum* по наличию иных генов, возможно, связанных с патогенностью, не существенны, однако обнаружены. Так, у клинического изолята *C. pseudodiphtheriticum* ШХ2, помимо перечисленных, выявлены полифункциональные гены *potH,E*

(транспорт железа, повышенная агрегация клеток, формирование биопленки, модуляция ионных каналов, антиоксидантная и осморегулирующая активность), *aphC* (защита бактерий от окислительного стресса и восстановление их жизнеспособности в фагосомах), *secA1,A2* (секреция белков, обеспечивающих устойчивость к стрессу и патогенность, модификация клеточной мембранны, метаболизм), *oriuAA* (защита от осмотического стресса, адгезия, трансмембранный перенос субстрата в бактериальную клетку) и ген *rapC* (выработка фимбриального протеина). Штамм *C. pseudodiphtheriticum* ШХ3 имел также ген *feoB* (синтез пермеаз-переносчиков железа) и *secA1,A2*; *C. propinquum* ШХ4 – ген *entE* (синтез ферментного комплекса, ответственного за

синтез энтеробактина – мощного сидерофора, используемого бактериями для захвата железа из окружающей среды); *C. pseudodiphtheriticum* ЩХ6 – гены *potH,E, exbD* (захват железа из ферритина, лактоферрина и трансферрина), *rapC, secA1,A2*.

Следует особо подчеркнуть, что все изоляты содержали ген *rpf2*, регулирующий синтез белка адаптации, активирующего «спящие» клетки и регулирующего переход оппортунистических патогенов от комменсализма к инфекционной интервенции. Этот ген полифункционален и обеспечивает также устойчивость к колистину, вирулентность по отношению к личинкам восковой моли *Galleria mellonella* и формирование биопленки. Все исследованные клинические изоляты *C. pseudodiphtheriticum* оказались низковирулентными при использовании модели *Galleria mellonella*, что может быть связано с пребыванием этих штаммов в неактивном состоянии в организме практически здоровых людей. В предыдущем нашем исследовании показано, что результаты полногеномного секвенирования не выявили существенных отличий в содержании генов патогенности изолятов от больных с воспалительными заболеваниями респираторного тракта и практически здоровых лиц, однако их фенотипические проявления (адгезивная, инвазивная, цитотоксическая, гемолитическая и уреазная активность) значительно более выражены у изолятов от больных [7].

Для оценки патогенного потенциала недифтерийных коринебактерий важно определять и резистентность к АМП, так как установлено, что у *Corynebacterium* spp. обнаружена взаимосвязь патогенности и резистентности к АМП [15], а также известно, что проведение антимикробной терапии способствует колонизации *C. pseudodiphtheriticum* организма человека [14]. Результаты показали, что клинические изоляты *C. pseudodiphtheriticum* ЩХ2, ЩХ3, ЩХ6 содержали гены *blaTEM-116, ctm, ermX, sulI9*, кодирующие резистентность к различным АМП (бензилпенициллину, левомицетину, клиндамицину и эритромицину, триметоприм-сульфометаксазолу), *C. propinquum* ЩХ4 – только ген *blaTEM-116*. Фенотипически гены проявляли свою активность не всегда, однако изолят *C. pseudodiphtheriticum* ЩХ6 отнесен к категории МЛУ, хотя и выделен от практически здорового человека. У всех исследованных штаммов обнаружены полифункциональные гены, связанные с метаболизмом (энергетический метаболизм, поддержание целостности мембран, передача сигналов, транспорт молекул, устойчивость к стрессу, горизонтальный перенос генов, репарация ДНК) и формированием резистентности к АМП (*yidC, recA*). У изолята *C. pseudodiphtheriticum* ЩХ3 обнаружен полифункциональный ген *cydA*, кодирующий резистентность к АМП и функционирование аэробной дыхательной цепи.

В ходе оценки предполагаемого полезного потенциала установлено, что у всех исследованных

клинических изолятов *C. pseudodiphtheriticum* и *C. propinquum* обнаружены гены, детерминирующие синтез незаменимых (аргинин, лизин, фенилаланин, триптофан) и заменимых аминокислот, витаминов и терпенов. Результаты недериватизированной тандемной масс-спектрометрии показали, что все штаммы *C. pseudodiphtheriticum* продуцировали в различной степени глицин и валин, изоляты *C. pseudodiphtheriticum* ЩХ2, *C. propinquum* ЩХ4 и *C. pseudodiphtheriticum* ЩХ6 – аланин. Уровень продукции этих аминокислот оказался выше у штамма *C. pseudodiphtheriticum* ЩХ2, имеющего несколько большие размеры генома по сравнению с другими изолятами. Однако в процессе культивирования на сывороточном бульоне штаммы *C. pseudodiphtheriticum* и *C. propinquum* поглощали из питательной среды другие аминокислоты. Результаты *in vitro* и *in vivo* совпадают не всегда, а продукция коринебактериями полезных веществ регулируется условиями культивирования. Изоляты *C. pseudodiphtheriticum*, имея соответствующие гены, не только продуцируют аминокислоты, но и активно поглощают их. Это может использоваться *C. pseudodiphtheriticum* как для поддержания метаболизма, так и для реализации патогенного потенциала.

Исследователи сообщают о наличии у *C. pseudodiphtheriticum* способности оказывать антагонистическое воздействие на патогены (*Staphylococcus aureus, Streptococcus pneumoniae, Moraxella catarrhalis*) [29]. Способность *C. pseudodiphtheriticum* ингибировать рост различных патогенных бактерий, безусловно, является полезным свойством. В то же время, это способ выживания *C. pseudodiphtheriticum*, направленный на реализацию конкурентных взаимоотношений с другими представителями микробиоты и освобождение экологической ниши в организме человека для проявления, в том числе, и патогенных свойств. У *C. pseudodiphtheriticum* обнаружена адьювантная и иммуномодулирующая активность, связанная с активацией TLR и клеток иммунной системы [30]. Это согласуется с результатами геномного анализа, свидетельствующими об обнаружении у исследованных штаммов *C. pseudodiphtheriticum* и *C. propinquum* гена *cspA*, вовлеченного в процессы вирулентности и регулирующего, помимо устойчивости к температурному, окислительному и осмотическому стрессу, формирование гиперчувствительности замедленного типа.

Заключение

Двойственность природы *C. pseudodiphtheriticum* характеризуется наличием тесной связи между его полезными и патогенными свойствами. Это обусловлено сложными метаболическими процессами, протекающими в бактериальной клетке: поглощение железа и аминокислот из организма хозяина, устойчивость к стрессу, способность обеспечивать стабильность собственных

белков и восстанавливать их третичные структуры после повреждения, осморегуляция, инкапсулирование чужеродных белков, обмен веществ, перемещение субстратов через мембрану и др. Реализация патогенного потенциала клинических изолятов *C. pseudodiphtheriticum* и *C. propinquum* при отсутствии истинных генов патогенности может происходить при активации генов, предположительно связанных с патогенностью. Исследованные штаммы *C. pseudodiphtheriticum* и *C. propinquum* содержат большое количество полифункциональных генов, регулирующих не только метаболизм и синтез полезных для человека веществ (аминоислоты, витамины, терпены), но также патогенность и резистентность к АМП. Переключение функционирования этих генов на детерминирование патогенных свойств возможно благодаря нахождению коринебактерий этого вида в восприимчивом организме, где создаются условия для усиленного размножения. Усиленное размножение *C. pseudodiphtheriticum* (как

правило, 10^5 КОЕ/мл и выше) может говорить об активации гена *rpf2*, кодирующего переход коринебактерий от комменсализма к паразитизму, поэтому такие штаммы нужно учитывать при проведении лабораторной диагностики инфекционной патологии. Сложные межмикробные взаимодействия *C. pseudodiphtheriticum* с другими представителями микробиоты предполагают симбиотические и/или конкурентные взаимоотношения, а также обмен генами. Учитывая наличие взаимосвязи фенотипа патогенности и резистентности к АМП, необходимо принимать во внимание изоляты, проявляющие резистентность и, особенно, МЛУ, при лабораторной диагностике и проведении антимикробной терапии.

Вышеизложенное свидетельствует о необходимости осторожного подхода при оценке штаммов *C. pseudodiphtheriticum* как потенциальных пробиотиков даже при наличии широкого спектра полезных свойств, учитывая их способность к переходу от комменсализма к паразитизму.

Литература

1. Andrade-Silva M., dos Santos L.S., Mattos-Guaraldi A.L. *Corynebacterium pseudodiphtheriticum* as etiologic agent of human infections worldwide: a review of case reports within the last 40 years (1983–2023) // *Braz. J. Microbiol.* 2025. Vol. 56. P. 1929–1947.
2. Silva-Santana G., Silva C.M.F., Olivella J.G.B., et al. Worldwide survey of *Corynebacterium striatum* increasingly associated with human invasive infections, nosocomial outbreak, and antimicrobial multidrug-resistance, 1976–2020 // *Arch. Microbiol.* 2021. Vol. 203, N5. P. 1863–1880.
3. Sugumaran R., Sistla S., Chavhan P., Deb A.K. *Corynebacterium amycolatum*: an unusual cause of corneal ulcer // *B.M.J. Case. Rep.* 2020. Vol. 13. P. e237818.
4. Wallet F., Vanagt S., Alaoui M., et al. An unusual case of native aortic endocarditis due to *Corynebacterium pseudodiphtheriticum*. *New Microbiol.* 2023. Vol. 46, N2. P. 223–225.
5. Chrustek A., Dombrowska-Pali A., Olszewska-Slonina D., et al. Human milk microbiome from polish women giving birth via vaginal delivery-pilot study. *Biology (Basel)*. 2025. Vol. 14, N4. P.332.
6. Tran T.H., Escapa I., Roberts A.Q., et al. Metabolic capabilities are highly conserved among human nasal-associated *Corynebacterium* species in pangenomic analyses. *Preprint. bioRxiv.* 2024;2023.06.05. P.e543719. Published 2024 Aug 27.
7. Мангулов Э. О., Харссеева Г. Г., Подойница О. А. и др. *Corynebacterium spp.*: отмежа фено- и генотипических маркеров патогенности изолятов от больных с воспалительными заболеваниями респираторного тракта и практически здоровых лиц // Клиническая лабораторная диагностика. 2023. Т. 68, №10. С. 604–612.
8. Idumathi V.A., Shikha R., Suryaprakash D.R. Diphtheria-like illness in a fully immunised child caused by *Corynebacterium pseudodiphtheriticum*. *Indian journal of medical microbiology*. 2014. Vol. 32, N4. P. 443–445.
9. Weil L.M., Williams M.M., Shirin T., et al. Investigation of a large diphtheria outbreak and cocirculation of *Corynebacterium pseudodiphtheriticum* among forcibly displaced myanmar nationals, 2017–2019. *The Journal of infectious diseases*. 2020. Vol. 224, N2. P. 318–325.
10. Gompelmann D., Kappes J., Heubel C.P., et al. *Corynebacterium pseudodiphtheriticum* causing severe pneumonia in secondary immunoglobulin deficiency. *Dtsch. Med. Wochenschr.* 2011. Vol. 136, N48. P. 2503–2506.
11. Souza M.C., dos Santos L.S., Sousa L.P., et al. Biofilm formation and fibrinogen and fibronectin binding activities by *Corynebacterium pseudodiphtheriticum* invasive strains. *Antonie Van Leeuwenhoek*. 2015. Vol. 107, N6. P.1387–1399.
12. Ramos J. N., Souza C., Faria Y. V., et al. Bloodstream and catheter-related infections due to different clones of multi-drug resistant and biofilm producer *Corynebacterium striatum*. *BMC Infectious Diseases*. 2019. Vol. 19, N1. P. 672.
13. Reddy B.S., Chaudhury A., Kalawat U., et al. Isolation, speciation, and antibiogram of clinically relevant non-diphtherial *Corynebacteria* (Diphtheroids). *Indian J. Med. Microbiol.* 2012. Vol. 30, N1. P.52–57.
14. Camello T. C., Souza M. C., Martins C. A., et al. *Corynebacterium pseudodiphtheriticum* isolated from relevant clinical sites of infection: a human pathogen overlooked in emerging countries. *Letters in applied microbiology*. 2009. Vol. 48, N4. P. 458–464.
15. Мангулов Э. О., Алиева А. А., Харссеева Г. Г. и др. *Corynebacterium spp.*: взаимосвязь патогенных свойств и резистентности к антимикробным препаратам. Клиническая лабораторная диагностика. 2022. Т. 67, № 9. С. 519–524.
16. Moyano R. O., Tonetti F. R., Fukuyama K., et al. The Respiratory Commensal Bacterium *Corynebacterium pseudodiphtheriticum* as a Mucosal Adjuvant for Nasal Vaccines. *Vaccines*. 2023. Vol.11. P.611.
17. Bankevich A., Nurk S., Antipov D., et al. SPAdes: a new genome assembly algorithm and its applications to single-cell sequencing. *J. Comput. Biol.* 2012. Vol.19, N5. P.455–477.
18. Prijibelski A., Antipov D., Meleshko D., et al. Using SPAdes De Novo Assembler. *Curr. Protoc. Bioinformatics*. 2020. Vol. 70, N1. Pe102.
19. Gurevich N., Saveliev V., Vyahhi N., et al. QUAST: quality assessment tool for genome assemblies. *Bioinformatics*. 2013. Vol. 28, N8. P.1072–1075.
20. Page A.J., Cummins C.A., Hunt M., et al. Roary: rapid large-scale prokaryote pan genome analysis. *Bioinformatics*. 2015. Vol. 31, N22. P.3691–3693.
21. Database of virulence factors (VFDB). Доступно на: <http://www.mgc.ac.cn/VFs/>. Ссылка активна на 21.08.2025.
22. Seemann T. Prokka: rapid prokaryotic genome annotation. *Bioinformatics*. 2014. Vol. 30, N14. P. 2068–2069.
23. Feldgarden M., Brover V., Haft D.H., et al. Validating the AMRFinder Tool and Resistance Gene Database by Using Antimicrobial Resistance Genotype-Phenotype Correlations in a Collection of Isolates. *Antimicrob Agents Chemother*. 2019. Vol. 63, N11. P. e00483–19.
24. Kumar S., Stecher G., Li M., et al. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across Computing Platforms. *Mol. Biol. Evol.* 2018. Vol. 35, N6. P. 1547–1549.
25. Tamura K., Peterson D., Peterson N., et al. MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods // *Mol. Biol. Evol.* 2011. Vol. 28, N10. P. 2731–2739.
26. Мангулов Э. О., Харссеева Г. Г., Подойница О. А. и др. *Corynebacterium spp.*: отмежа фено- и генотипических маркеров патогенности изолятов от больных с воспалительными заболеваниями респираторного тракта и практически здоровых лиц. Клиническая лабораторная диагностика. 2023. Т. 68, № 10. С. 604–612.
27. Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам: клинические рекомендации (EUCAST, 2024). Доступно на: <https://www.antibiotic.ru/library/eucast-eucast-clinical-breakpoints-bacteria-13-0-rus/>. Ссылка активна на 21.08.2025.
28. Larzin-Laborder S., Imran M., Bonaiti C., et al. Surface microbial consortia from Livarot, a French smear-ripened cheese. *Can. J. Microbiol.* 2011. Vol.57, N8. P.651–660.
29. Maidana S. D., Moyano R. O., Vargas J. M., et al. Respiratory Commensal Bacteria Increase Protection against Hypermucoviscous Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae* ST25 Infection // *Pathogens*. 2022. Vol. 11. P. 1063.

Practical Aspects of Epidemiology and Vaccine Prevention

30. Roy S, Marla S, Praneetha D. C. Recognition of *Corynebacterium pseudodiphtheriticum* by Toll-like receptors and upregulation of antimicrobial peptides in human corneal epithelial cells // *Virulence*. 2015. Vol. 6. N7. P. 716–721.
31. References
32. Andrade-Silva M, dos Santos LS, Mattos-Guaraldi AL. *Corynebacterium pseudodiphtheriticum* as etiologic agent of human infections worldwide: a review of case reports within the last 40 years (1983–2023). *Braz. J. Microbiol.* 2025;56:1929–7. doi.org/10.1007/s42770-025-01739-1.
33. Silva-Santana G, Silva CMF, Olivella JGB, et al. Worldwide survey of *Corynebacterium striatum* increasingly associated with human invasive infections, nosocomial outbreak, and antimicrobial multidrug-resistance, 1976–2020. *Arch. Microbiol.* 2021;203(5):1863–1880. doi.org/10.1007/S00203-021-02246-1.
34. Sugumaran R, Sistla S, Chavhan P, Deb AK. *Corynebacterium amycolatum*: an unusual cause of corneal ulcer. *BMJ Case Rep.* 2020; 13:e237818. doi:10.1136/bcr-2020-237818.
35. Wallet F, Vanagt S, Alaoui M, et al. An unusual case of native aortic endocarditis due to *Corynebacterium pseudodiphtheriticum*. *New Microbiol.* 2023;46(2):223–225.
36. Chrustek A, Dombrowska-Pali A, Olszewska-Slonina D, et al. Human milk microbiome from polish women giving birth via vaginal delivery–pilot study. *Biology (Basel)*. 2025; 14(4): 332. doi.org/10.3390/BIOLOGY14040332.
37. Tran TH, Escapa IF, Roberts AQ, et al. Metabolic capabilities are highly conserved among human nasal-associated *Corynebacterium* species in pangenomic analyses. *Preprint. bioRxiv*. 2024;2023.06.05.543719. Published 2024 Aug 27. doi:10.1101/2023.06.05.543719.
38. Mangutov EO, Kharseeva GG, Podoynitsyna OA, 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 (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2023; 68 (10): 604–611 (in Russ.). doi.org/10.51620/0869-2084-2023-68-10-604-611.
39. Indumathi VA, Shikha R, Suryaprakash DR. Diphtheria-like illness in a fully immunised child caused by *Corynebacterium pseudodiphtheriticum*. *Indian J Med Microbiol.* 2014;32(4):443–445. doi:10.4103/0255-0857.142250.
40. Weil LM, Williams MM, Shirin T, et al. Investigation of a Large Diphtheria Outbreak and Cocirculation of *Corynebacterium pseudodiphtheriticum* Among Forcibly Displaced Myanmar Nationals. 2017–2019. *J Infect Dis.* 2021;224(2):318–325. doi:10.1093/infdis/jiaa729.
41. Gompelmann D, Kappes J, Heussel CP, Schnabel PA, Herth FJ. *Corynebacterium pseudodiphtheriticum* als Erreger einer schwerwiegenden Pneumonie bei sekundärem Immunglobulinmangel [*Corynebacterium pseudodiphtheriticum* causing severe pneumonia in secondary immunoglobulin deficiency]. *Dtsch Med Wochenschr.* 2011;136(48):2503–2506. doi:10.1055/s-0031-1297277.
42. Souza MC, dos Santos LS, Sousa LP, et al. Biofilm formation and fibrinogen and fibronectin binding activities by *Corynebacterium pseudodiphtheriticum* invasive strains. *Antonie Van Leeuwenhoek.* 2015;107(6):1387–1399. doi:10.1007/s10482-015-0433-3.
43. Ramos JN, Souza C, Faria YV, et al. Bloodstream and catheter-related infections due to different clones of multidrug-resistant and biofilm producer *Corynebacterium striatum*. *BMC Infect Dis.* 2019;19(1):672. Published 2019 Jul 29. doi:10.1186/s12879-019-4294-7.
44. Reddy BS, Chaudhury A, Kalawat U, Jayaprada R, Reddy G, Ramana BV. Isolation, speciation, and antibiogram of clinically relevant non-diphtherial *Corynebacteria* (Diphtheroids). *Indian J Med Microbiol.* 2012;30(1):52–57. doi:10.4103/0255-0857.93033.
45. Camello TC, Souza MC, Martins CA, et al. *Corynebacterium pseudodiphtheriticum* isolated from relevant clinical sites of infection: a human pathogen overlooked in emerging countries. *Lett Appl Microbiol.* 2009;48(4):458–464. doi:10.1111/j.1472-765X.2009.02553.x.
46. Mangutov EO, Alieva AA, Kharseeva GG, et al. *Corynebacterium* spp.: relationship of pathogenic properties and antimicrobial resistance. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2022; 67 (9): 519–524 (in Russ.). doi.org/10.51620/0869-2084-2022-67-9-519-524.
47. Moyano RO, Tonetti FR, Fukuyama K, et al. The Respiratory Commensal Bacterium *Corynebacterium pseudodiphtheriticum* as a Mucosal Adjuvant for Nasal Vaccines. *Vaccines.* 2023;11:611.
48. Bankevich A, Nurk S, Antipov D, et al. SPAdes: a new genome assembly algorithm and its applications to single-cell sequencing. *J Comput Biol.* 2012; 19(5):455–77. doi:10.1089/cmb.2012.0021.
49. Prijbelski A, Antipov D, Meleshko D, et al. Using SPAdes De Novo Assembler. *Curr Protoc Bioinformatics.* 2020;70(1):e102. doi:10.1002/cpbi.102.
50. Gurevich A, Saveliev V, Vyahhi N, et al. QUAST: quality assessment tool for genome assemblies. *Bioinformatics.* 2013;29(8):1072–5. doi: 10.1093/bioinformatics/btt086.
51. Page AJ, Cummins CA, Hunt M, et al. Roary: rapid large-scale prokaryote pan genome analysis. *Bioinformatics.* 2015;31(22):3691–3. doi: 10.1093/bioinformatics/btv421.
52. Database of virulence factors (VFDB). Available at: <http://www.mgc.ac.cn/VFs/>. Accessed: 21.08.2025.
53. Seemann T. Prokka: rapid prokaryotic genome annotation. *Bioinformatics.* 2014; 30(14):2068–9. doi: 10.1093/bioinformatics/btu153.
54. Feldgarden M, Brover V, Haft DH, et al. Validating the AMRFinder Tool and Resistance Gene Database by Using Antimicrobial Resistance Genotype-Phenotype Correlations in a Collection of Isolates. *Antimicrob Agents Chemother.* 2019;63(11):e00483–19. doi:10.1128/AAC.00483-19.
55. Kumar S, Stecher G, Li M, et al. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across Computing Platforms. *Mol Biol Evol.* 2018;35(6):1547–1549. doi: 10.1093/molbev/msy096.
56. Tamura K, Peterson D, Peterson N, et al. MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Mol Biol Evol.* 2011;28(10):2731–9. doi: 10.1093/molbev/msr121.
57. Mangutov EO, Kharseeva GG, Podoynitsyna OA, 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. *Clinical laboratory diagnostics.* 2023; 68(10): 604–612. (In Russ.).
58. Determination of susceptibility of microorganisms to antimicrobial drugs: clinical recommendations (EUCAST, 2024). Available at: [https://www.antibiotic.ru/library/euCAST-euCAST-clinical-breakpoints-bacteria-13-0-rus/](https://www.antibiotic.ru/library/eucast-euCAST-clinical-breakpoints-bacteria-13-0-rus/). Accessed: 21.08.2025.
59. Larpin-Laborde S, Imran M, Bonaiti C, et al. Surface microbial consortia from Livarot, a French smear-ripened cheese. *Can J Microbiol.* 2011;57(8):651–60. doi: 10.1139/w11-050.
60. Dentice Maidana S, Ortiz Moyano R, Vargas JM, et al. Respiratory Commensal Bacteria Increase Protection against Hypermucoviscous Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae* ST25 Infection. *Pathogens.* 2022;11(9):1063. Published 2022 Sep 19. doi:10.3390/pathogens11091063.
61. Roy S, Marla S, Praneetha DC. Recognition of *Corynebacterium pseudodiphtheriticum* by Toll-like receptors and up-regulation of antimicrobial peptides in human corneal epithelial cells. *Virulence.* 2015;6(7):716–721. doi:10.1080/21505594.2015.1066063.

Об авторах

- Галина Георгиевна Харссеева – д. м. н., профессор, заведующая кафедрой микробиологии и вирусологии №2, ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России. +7 (918) 575-44-65, galinagh@bk.ru. ORCID: 0000-0002-6226-2183.
- Ольга Сергеевна Щербатая – старший лаборант кафедры микробиологии и вирусологии №2, ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России. +7 (961) 316-71-45, olgo4ka86@rambler.ru. ORCID: 0000-0002-0507-3853.
- Эльвира Львовна Аlutina – доцент кафедры микробиологии и вирусологии №2, ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России. +7 (918) 897-79-79, alutina_el@rostgmu.ru. ORCID: 0000-0001-6968-0583.
- Вероника Викторовна Балахнова – доцент кафедры микробиологии и вирусологии №2, ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России. +7 (905) 452-41-96, balahnovavv@gmail.com. ORCID: 0000-0001-8832-7419.
- Светлана Юрьевна Тюкавкина – доцент кафедры микробиологии и вирусологии №2, ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России. +7 (904) 444-77-21, svetlanava@mail.ru. ORCID: 0000-0002-4490-7013.

About the Authors

- Galina G. Kharseeva – Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of the Department of Microbiology and Virology № 2, Rostov State Medical University of the Russian Ministry of Health. +7 (918) 575-44-65, galinagh@bk.ru. ORCID: 0000-0002-6226-2183.
- Olga S. Shcherbataya – Senior Laboratory Assistant, Department of Microbiology and Virology № 2, Rostov State Medical University of the Russian Ministry of Health. +7 (961) 316-71-45, olgo4ka86@rambler.ru. ORCID: 0000-0002-0507-3853.
- Elvira L. Alutina – Associate Professor, Department of Microbiology and Virology № 2, Rostov State Medical University of the Russian Ministry of Health. +7 (918) 897-79-79, alutina_el@rostgmu.ru. ORCID: 0000-0001-6968-0583.
- Veronika V. Balakhnova – Associate Professor of the Department of Microbiology and Virology № 2, Rostov State Medical University of the Russian Ministry of Health. +7 (905) 452-41-96, balahnovavv@gmail.com. ORCID: 0000-0001-8832-7419.
- Svetlana Yu. Tyukavkina – Associate Professor of the Department of Microbiology and Virology № 2, Rostov State Medical University of the Russian Ministry of Health. +7 (904) 444-77-21, svetlanava@mail.ru. ORCID: 0000-0002-4490-7013.
- Anna V. Chepusova – Associate Professor of the Department of Microbiology and Virology № 2, Rostov State Medical University of the Russian Ministry

- **Анна Владимировна Чепусова** – доцент кафедры микробиологии и вирусологии №2, ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России. +7 (928) 192-88-08, chepusova_av@rosrgmu.ru. ORCID: 0000-0002-4490-7013.
- **Татьяна Дмитриевна Гасретова** – доцент кафедры микробиологии и вирусологии №2, ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России. +7 (918) 545-28-57, gasretova2017@yandex.ru. ORCID: 0000-0002-9191-0848.
- **Ольга Ивановна Сылка** – доцент кафедры микробиологии и вирусологии №2, ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России. +7 (928) 229-71-63, sylkao@bk.ru. ORCID: 0000-0001-6351-8630.