

УДК_616.9

ДИФТЕРИЯ: ХАРАКТЕРИСТИКА ВОЗБУДИТЕЛЯ И ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА

Научный руководитель: Шамитова Е.Н

Автор: Минегалиева А.М. Чувашский государственный университет имени И. Н. Ульянова, г. Чебоксары, Россия, alsu_24_03@mail.ru

Аннотация: проблема дифтерийной инфекции остается актуальной, поскольку циркуляция токсигенных штаммов *Corynebacterium diphtheriae* сохраняется в организме бактерионосителей, несмотря на вакцинацию. Предрасполагающим фактором к этому заболеванию является отсутствие иммунизации в детстве. В основном она поражает дыхательную систему, покровную систему или протекает в бессимптомном состоянии носительства. Люди являются единственными хозяевами организма и присутствуют в верхних дыхательных путях. Микроорганизмы передаются воздушно-капельным путем. До введения всеобщей вакцинации в 1940-1950-х годах она была основной причиной заболеваний и смерти у детей и молодых взрослых. Однако после введения всеобщей иммунизации заболеваемость этим заболеванием резко сократилась. В статье изложены современные представления о свойствах возбудителя, и методы лабораторной диагностики.

Ключевые слова: *Corynebacterium diphtheriae*; дифтерийный токсин; кожная дифтерия; респираторная инфекция; патогенность; лабораторная диагностика.

DIPHTHERIA: CHARACTERISTICS OF THE PATHOGEN AND LABORATORY DIAGNOSTICS

Scientific supervisor: E.N. Shamitova

Minegalieva A.M. I. N. Ulyanov Chuvash State University, Cheboksary, Russia, alsu_24_03@mail.ru

Abstract: the problem of diphtheria infection remains relevant, since the circulation of toxigenic strains of *Corynebacterium diphtheriae* persists in the body of bacterial carriers, despite vaccination. The predisposing factor to this disease is the lack of immunization in childhood. Basically, it affects the respiratory system, the integumentary system or proceeds in an asymptomatic state of carriage. Humans are the only hosts of the body and are present in the upper respiratory tract. Microorganisms are transmitted by airborne droplets. Before the introduction of universal vaccination in the 1940s and 1950s, it was the main cause of illness and death in children and young adults. However, after the introduction of universal immunization, the incidence of this disease has sharply decreased. The article presents modern ideas about the properties of the pathogen, and methods of laboratory diagnostics.

Keywords: *Corynebacterium diphtheriae*; diphtheria toxin; respiratory infection; cutaneous diphtheria; pathogenicity; laboratory diagnostics.

Введение: дифтерия — это почти забытая болезнь, которая в свое время уносила жизни тысяч детей: в довакцинную эру даже с лечением умирал каждый десятый больной. Ее главная отличительная черта — закупорка дыхательных путей дифтерийными пленками. Почему они возникают? И угрожают ли нам новые эпидемии дифтерии сейчас, когда иммунизация против этой инфекции носит массовый характер? Именно поэтому важно знать не только методы лечения дифтерии, но и понимать саму ее суть, уметь распознавать ее в случае заражения и знать методы профилактики.

Цель: проанализировать теоретические вопросы диагностики, дифференциальной диагностики, лечения, специфической и неспецифической профилактики дифтерии при различной локализации патологического процесса.

Дифтерия – потенциально смертельная инфекция, которую вызывают коринебактерии *Corynebacterium diphtheria* и *Corynebacterium ulcerans*. Термин «дифтерия» происходит от греческого слова «дифтерия», что означает «шкура или кожа», из-за характеристик псевдомембраны, вырабатываемой самим организмом над местом колонизации [6]. Когда бактерии выделяют яд или токсин в организм, возникает настоящая болезнь. Лихорадка и синяки на горле являются начальными симптомами дифтерии. Кроме того, толстый серый слой вызывает “круп”, которая может блокировать дыхательные пути и вызывать лающий кашель. Эдвин Клебс впервые обнаружил дифтерийную коринебактерию в 1883 году на срезах плёнок, полученных из ротоглотки больных, а уже через год Фридрих Лёффлер выделил чистую культуру. Затем в 1888 году Э. Руи А. Иерсен доказали, что вызванные дифтерией поражения сердца и почек, а также паралич — следствие воздействия на организм бактериального токсина [3].

Дифтерия под воздействием формальдегида теряет ферментативную активность и больше не может связываться с клетками, но сохраняет иммуногенность — способность вызывать иммунный ответ. Так получают анатоксин, или токсид, который в наши дни используют для иммунизации против дифтерии. Впервые дифтерийный анатоксин получил в 1922 г. Гастон Рамон [3]. Так же в первой половине XX века для лечения дифтерии применяли препарат сыворотки крови иммунизированных животных, содержащий обезвреживающие токсин антитела — антитоксины. Пауль Эрлих и Эмиль фон Беринг вместе разработали сыворотку от дифтерии, многократно вводя смертельный токсин лошадям и отбирая кровь иммунизированных таким образом животных. Эта сыворотка эффективно использовалась во время эпидемии в Германии.

По данным исследования до введения всеобщей вакцинации в 1940-1950 годах она была основной причиной заболеваний и смерти у детей и молодых людей. Однако после введения всеобщей иммунизации заболеваемость этим заболеванием резко сократилась почти до 5000 в год во всем мире [8].

Недавние исследования заболеваемости дифтерией в России указывают на то, что от начала массовой иммунизации детей до настоящего времени и проанализированы результаты многолетних исследований уровня охвата прививками и состояние антитоксического противодифтерийного иммунитета у населения страны. По итогам обследования 367 031 человека (65 557 детей, 74 033 подростков и 277 441 взрослых) и исследования 13 785 контрольных сывороток крови от лиц из индикаторных групп населения 52 субъектов РФ

(2888 сывороток от детей, 1639 – от подростков и 9258 – от взрослых) проведена оценка качества серомониторинга в субъектах РФ и эти данные сопоставлены с уровнем привитости населения. Проведенная работа позволила объективно оценить высокий уровень специфической защиты населения страны от дифтерии [2].

Corynebacterium diphtheria представляет собой неинкапсулированную, неподвижную грамположительную бациллу, имеющую булавовидную форму. На поверхности у них есть специальные нитевидные белковые структуры (пили), которые позволяют бактериям связываться с эпителиальными клетками глотки, легких и гортани [3]. Клеточная стенка бактерий рода *Corynebacterium* имеет сложное строение: содержит пептидогликан, миколовые кислоты, арабиногалактан, димиколаттрегалозы (корд-фактор), липидоманнан и липоарабиноманнан. Оболочка пронизана белками-пори́нами. Имеют заостренные или булавовидные концы, внутри которых расположены зёрна «волютина», (метахроматиновые гранулы полиметафосфата). Зёрна волютина выявляют путём окраски препаратов щелочным метиленовым синим по Леффлеру. Гранулы полиметафосфата воспринимают краситель интенсивнее, чем цитоплазма клетки, обуславливая метахромазию. Зёрна волютина обнаруживают и при использовании окраски по Нейссеру, и люминесцентной микроскопии. Дифтерия является острой респираторной инфекцией, характеризующейся образованием псевдомембраны в горле, но возможны кожные инфекции. Передается инфекция воздушно-капельным путём. Также возможен контактно-бытовой путь передачи, чаще в жарких районах, где нередко встречаются кожные формы дифтерии, когда ранее существовавшие повреждения кожи, например, раны или укусы насекомых, становятся пустулезными и превращаются в болезненные незаживающие язвы. Эта форма чаще встречается среди мигрантов и групп населения, находящихся в неблагоприятном положении.

По данным статистики прогрессирование до смерти от асфиксии из-за обструкции дыхательных путей в течение 1-2 недель после появления симптомов является причиной 60%-65% смертей и связано с инфекцией гортани. Токсическая кардиомиопатия возникает через 7-14 дней после появления респираторных симптомов у 10-25% пациентов и является причиной 20-25% смертей. Неврологические расстройства, такие как гипестезия, полиневропатия и краниальные невропатии, развиваются от недель до месяцев спустя и встречаются в 20-25% нелеченных случаев и являются причиной до 15% смертей [6].

Начальная стадия заболевания характеризуется отеком и гиперемией пораженной эпителиальной поверхности, за которыми следует некроз и образование фибринозного гнойного экссудата. Затем эти экссудаты коагулируют, создавая на пораженном участке характерную прочную псевдомембрану серовато-беловатого цвета. Псевдомембрана состоит из фибрина, некротических эпителиальных клеток и бактерий *C. diphtheria*. Мембрана над

голосовыми связками состоит в основном из фибрина, в то время как на бронхах она состоит как из фибрина, так и из нейтрофилов. Проявления могут быть бессимптомным носительством, кожной инфекцией или фарингитом с такими проявлениями, как боль в горле, лихорадка, недомогание и шейная лимфаденопатия [6].

Типичная форма дифтерии сопровождается явлениями выраженной интоксикации и фибринозным воспалением слизистой оболочки и/или кожи в области входных ворот, при генерализации – выходом процесса за пределы первичного очага, триадой специфических острых поражений органов-мишеней: сердца (дифтерийные мио- и перикардиты), нервной системы (дифтерийная полинейропатия), почек (дифтерийная нефропатия). Характерно образование плёнок – фибринозных наложений беловато-серого цвета с чёткой границей краёв наложений, возвышающихся над эпителием первичного очага, при локализации в дыхательных путях – с возможной их обструкцией. Высокие показатели смертности 5-10% связаны с обструкцией дыхательных путей и местными и системными эффектами дифтерийного токсина. В месте внедрения (чаще всего слизистые зева) микробы размножаются и через 2-4 дня инкубационного периода начинают вырабатывать экзотоксин, экзотоксин, гемолизин и гиалуронидазу. Повышается проницаемость сосудов, происходит пропотевание жидкой части крови в ткани. Фибриноген плазмы под влиянием тромбокиназы некротизированных клеток превращается в фибрин. В результате на поверхности слизистых образуется плотная фибринозная пленка. Дифтерийный токсин вызывает порозность кровеносных сосудов и парез лимфатических сосудов, что является причиной формирования отека слизистых и подкожной клетчатки. Экзотоксин попадает в лимфо- и кровоток, разносится по всему организму, поражая сердечно-сосудистую, нервную, мочевыделительную системы [1].

Кожные формы неспецифичны и обычно развиваются на конечностях после ран. Классические признаки включают одну или несколько четко очерченных язв, классически покрытых псевдомембранами. Поскольку *C. diphtheriae* от природы чувствителен к амоксициллину, который является обычным средством лечения кожных инфекций, кожную дифтерию можно вылечить до определения возможной токсигенной природы возбудителя.

Были рассмотрены три клинических случая кожной дифтерии: 1. 16-летний афганский беженец, который прибыл во Францию месяцем ранее по сухопутному маршруту. Он обратился в больницу с болью в горле и паронихией левого большого пальца стопы, которая была удалена хирургическим путем. Он начал курс антибиотиков с амоксициллином и клавуланатной кислотой, прежде чем хирургическое взятие проб из паронихии выявило неделю спустя коинфекцию метициллиночувствительным золотистым стафилококком, *Streptococcus pyogenes* и

токсигенной *Corynebacterium diphtheriae* (положительный результат Elek). Мазок из горла, взятый после шести дней антибиотикотерапии, дал отрицательный результат на *C. diphtheriae*. Во время госпитализации не было отмечено токсигенных осложнений. Антитоксинавая сыворотка хорошо переносилась, и антибиотикотерапия была заменена только на амоксициллин общей продолжительностью 14 дней. Его статус вакцинации был неизвестен.

2.33-летний мужчина, родившийся во Франции, малиец по происхождению, без какой-либо предшествующей истории болезни. Он провел в Мали 3 недели как в городских, так и в сельских районах, где попал в аварию на мотоцикле, приведшую к ранениям конечностей. Через два дня после возвращения во Францию пациент обратился в больницу, потому что раны не зажили после трех недель эволюции. Обследование показало чистые поверхностные изъязвления, и местный отбор проб не проводился. В образцах, взятых при хирургическом вмешательстве, были обнаружены *S. pyogenes* и токсигенный *C. diphtheriae* (положительный результат Elek), что привело к 14-дневному курсу инфузии амоксициллина и антитоксинавой сыворотки. У него не было никаких системных осложнений дифтерии. Мазки из горла подтвердили носительство *C. diphtheriae* в глотке, и было добавлено 3-дневное лечение азитромицином.

3.52-летняя женщина, живущая со многими домашними животными (кошками, собаками, крысами и хомяками), основной историей болезни которой были нанесенные самому себе кожные повреждения, приведшие к нескольким хирургическим вмешательствам, включая ампутацию правого запястья и множество антибиотикотерапий. Из-за новой язвы на культе ампутации у нее взяли мазок с кожи, выявивший инфекцию чувствительным к метициллину золотистым стафилококком и токсигенной *Corynebacterium ulcerans* (Elek положительный, последовательность типа ST 332). Мазок из горла выявил носительство в глотке того же штамма *C.* К 14-дневному курсу амоксициллина и местного лечения были добавлены язвы (без каких-либо респираторных или системных симптомов) и 3-дневное лечение азитромицином. Пациент не был вакцинирован против дифтерии более 30 лет. У всех трех пациентов контрольные мазки из горла после лечения дали отрицательный результат, и местные раны развивались благоприятно, хотя третьему пациенту потребовался дополнительный 2-недельный курс амоксициллина для лечения кожного носительства. Их прививки были обновлены в соответствии с французскими рекомендациями [8].

Исходя из этого мы приходим к тому, что миграция, бедность и геополитические конфликты, особенно в лагере беженцев с плохой гигиеной, могут способствовать повторному появлению дифтерии, а точнее, ее кожной форме, отраженный пациентом из Афганистана. Глобализация и путешествия, что касается второго пациента, который родился во Франции, но был родом из страны с высокой распространенностью и мог заразиться во время поездки туда, учитывая

низкий охват вакцинацией Мали (76% в 2016 году) по сравнению с Францией (96% в 2016 году). Важную роль играет постоянное снижение охвата вакцинацией с течением времени, и благоприятствует местной инфекции с риском токсигенной инфекции, что касается третьего пациента, который никогда не покидал Францию и, вероятно, заболел, заражение при контакте с домашними животными. Пример Франции является показательным, поскольку это европейская страна с самым высоким скептицизмом к вакцинам [8].

Лабораторные исследования должны быть сопоставлены с результатами физического обследования для постановки быстрого и окончательного диагноза. Бактериологическое тестирование: мазок из образца горла окрашивают по Граму и метиленовым синим. Хотя окрашивание по Граму не подтверждает диагноз, это первоначальный тест, который проводится в подозреваемых случаях. На окраске по Граму видны клубовидные, неинкапсулированные, неподвижные бациллы, обнаруженные в скоплениях. На метиленовом синем пятне видны типичные метакрохроматические гранулы. Культура: Культура из мазка из горла проводится либо на среде Лоффлера, либо на среде Тиндейла, на планшете с теллуридом и кровяном агаре. Черная колония с ореолами на среде Тиндейла, метакрохроматические гранулы, видимые на среде Лоффлера, типичный серо-черный цвет теллура показывает присутствие организма в этих средах. Тестирование на токсины: обнаружение токсина в случае *C. diphtheria* помогает отличить токсигенный штамм от нетоксигенного варианта. Это может быть достигнуто с помощью теста Elek, ПЦР-тестирования и иммуноферментного анализа (EIA) [4].

По данным исследования в России в настоящее время случаи заболевания дифтерией почти не регистрируются. Подъем заболеваемости наблюдается в Индии, Индонезии, Нигерии, Йемене, странах Латинской Америки и, особенно, в Венесуэле. Резервуар инфекции сохраняется в странах Европейского Союза (Германия, Великобритания, Латвия и др.). Следует принимать во внимание тот факт, что антитоксический иммунитет, формирующийся в ответ на введение препаратов дифтерийного анатоксина, не препятствует адгезии и колонизации возбудителя на слизистой оболочке респираторного тракта прививаемых. У лиц с защитным уровнем антитоксина могут развиваться как бессимптомные формы заболевания (бактерионосительство), так и клинически выраженные. При выполнении физической нагрузки в организме повышается скорость катаболических процессов, сопровождающихся выделением энергии и синтезом АТФ, при одновременном снижении скорости анаболизма, потребляющего значительное количество АТФ для обеспечения различных синтезов [4].

Таким образом была проведена важная работа по нахождению, отбору и систематизации информации о таком интересном заболевании, как дифтерия. В современных условиях возможны вновь вспышки дифтерии. Чтобы это не происходило, необходимо усилить

профилактические мероприятия, убедить население не отказываться от профилактических прививок. И злоупотребление алкоголем продолжает оставаться важной медицинской, и социальной проблемой, вносящей свой вклад в распространение любых заболеваний [5]. При любых подозрениях на дифтерию сразу проводить противоэпидемические мероприятия.

Список источников.

1. Иванова В.В., Камальдинова Э.г. Дифтерия // Детские инфекции. 2004. с.52-55
URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/difteriya>
2. Н.М. Максимова, Т.Н. Якимова, С.С. Маркина, К.А. Яцковский, С.Э. Адугюзелов//Дифтерия в России в 21 веке// 2017 ФБУН «Московский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н.Габричевского».
URL:<https://cyberleninka.ru/article/n/difteriya-v-rossii-v-21-veke/viewer>
3. Д.Моргачева Дифтерия: больная бактерия, способная убивать. -2021г.
URL:<https://biomolecula.ru/articles/difteriia-bolnaia-bakteriia-sposobnaia-ubivat>
4. Шамитова Е.Н., Александрова Н.Л., Михайлова К.Н. Биохимический контроль реакции организма на повышенную нагрузку//Научное обозрение. Биологические науки. 2018. № 2. С. 27-31. URL: <https://elibrary.ru/item.asp?id=35128321>
5. Биохимические аспекты злоупотребления алкоголем. Шамитова Е.Н., Гурьянова Е.А. Биохимические аспекты злоупотребления алкоголем.Здравоохранение Чувашии. 2018. № 5. С. 73-82. URL:<https://elibrary.ru/item.asp?id=36773960>
6. Anmol Chaudhary, Shival Pandey. Corynebacterium Diphtheriae.2022Aug. PMID: 32644441 Bookshelf ID: NBK559015
URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32644441/>
7. Lamichhane A, Radhakrishnan S. Diphtheria [Updated 2022 Aug 8]. In: StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan-. URL: URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK560911/>
8. Levi LI, Barbut F, Chopin D, Rondeau P, Lalande V, Jolivet S, Badell E, Brisse S, Lacombe K, Surgers L. Cutaneous diphtheria: three case-reports to discuss determinants of re-emergence in resource-rich settings. Emerg Microbes Infect. 2021 Dec;10(1):2300-2302. doi: 10.1080/22221751.2021.2008774. PMID: 34792439; PMCID: PMC8654395.
URL:<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34792439/>

9. Truelove SA, Keegan LT, Moss WJ, Chaisson LH, Macher E, Azman AS, Lessler J. Clinical and Epidemiological Aspects of Diphtheria: A Systematic Review and Pooled Analysis. *Clin Infect Dis*. 2020 Jun 24;71(1):89-97. doi: 10.1093/cid/ciz808. PMID: 31425581; PMCID: PMC7312233. URL:<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31425581/>