

Le nouveau visage de la diphtérie

E. FARFOUR¹

RÉSUMÉ

La diphtérie est une maladie infectieuse, longtemps associée à de forts taux de morbidité et de mortalité. L'utilisation généralisée du vaccin laissait entrevoir son éradication dans les contrées où le taux de couverture vaccinale est élevé, l'Amérique du Nord et l'Europe de l'Ouest. La forme la plus connue de la diphtérie est une angine à fausses membranes. Néanmoins, la présentation clinique peut être moins caractéristique avec notamment des atteintes cutanées chroniques qui participent à la diffusion de la bactérie dans la population humaine. Dans les nations où le taux de couverture vaccinale est élevé, les cas observés de diphtérie à *Corynebacterium diphtheriae* sont importés de zones d'endémie et la majorité des infections autochtones est due à l'espèce *C. ulcerans*, second agent responsable de diphtérie. Il s'agit alors d'une zoonose transmise par les animaux de compagnie, infectés ou porteurs sains. Cette revue décrit les évolutions épidémiologique, clinique et microbiologique de la diphtérie et de ses agents étiologiques.

MOTS-CLÉS : diphtérie, *Corynebacterium diphtheriae*, *Corynebacterium ulcerans*, croup, anatoxine, vaccin.

I. - INTRODUCTION

La diphtérie est provoquée par deux corynebactéries du complexe *diphtheriae*, *Corynebacterium diphtheriae* et *C. ulcerans*, dont le facteur de virulence essentiel est la toxine diphtérique, responsable des symptômes les plus sévères de la maladie. Bien que tous les isolats bactériens puissent être responsables d'infections, seules les souches possédant le gène codant la toxine diphtérique (*tox+*) sont à l'origine d'épidémies. L'utilisation généralisée du vaccin antidiphtérique chez les nourrissons et les jeunes enfants a permis de contrôler cette maladie et laissait entrevoir son éradication dans les pays où la couverture vaccinale était élevée à la fin du XX^e siècle (Amérique du Nord et Europe de l'Ouest). Bien que la diphtérie soit devenue rare dans ces contrées, il est toujours nécessaire d'y maintenir une forte pression vaccinale et de connaître les moyens du diagnostic clinique et microbiologique ainsi que de la surveillance de cette maladie très contagieuse. En effet, des cas d'infections à *C. diphtheriae tox+*, non plus autochtones

mais importés de zone d'endémie (pays de l'ex-URSS ou régions tropicales), sont encore observés aujourd'hui chez des sujets âgés qui n'ont pas été revaccinés. De plus, la majorité des isolats *tox+* autochtones appartiennent actuellement à l'espèce *C. ulcerans* : transmis par des animaux de compagnie (infectés ou porteurs sains), ils sont responsables d'une authentique diphtérie avec syndrome toxique. Enfin, des isolats autochtones de *C. diphtheriae* et de *C. ulcerans* n'exprimant pas la toxine diphtérique (*tox-*) peuvent être associés, dans le cas de *C. diphtheriae*, à des infections non seulement ORL et cutanées, mais aussi invasives (arthrite, endocardite,...). Ainsi, le visage de la diphtérie a changé du fait de l'obligation de la vaccination antidiphtérique et du vieillissement de la population. Ces récentes modifications ont conduit, en 2011, à de nouvelles recommandations médicales (1).

¹ Service de Biologie Clinique, Hôpital Foch, Suresnes.

II. - HISTORIQUE

Les premières mentions de la diphtérie remontent à l'Antiquité, mais ce n'est qu'au XVI^e siècle que Guillaume de Baillou en fait la première description. En 1826, Bretonneau la caractérise et lui donne son nom (du grec, « membrane ») en raison des pseudo-membranes qui recouvrent les amygdales des malades. La fin du XIX^e siècle verra les premières grandes avancées dans la compréhension de la physiopathologie et les moyens du diagnostic et du traitement de la maladie (2). Klebs visualise des corynébactéries sur des pseudo-membranes en 1883 et, l'année suivante, Löffler isole, par culture, *C. diphtheriae*. En 1888, Roux et Yersin mettent en évidence la toxine diphtérique à partir du surnageant de culture de la bactérie. Deux ans plus tard, Von Behring et Kitasato immunisent des animaux de laboratoire en leur administrant des doses croissantes de toxine diphtérique et utilisent, en 1891, un sérum antitoxine pour traiter des enfants atteints de diphtérie. Von Behring recevra le premier prix Nobel de Physiologie en 1901 pour ses travaux pionniers sur la sérothérapie. Le premier vaccin antidiphtérique, composé d'un mélange équimolaire de toxine et d'antitoxine, est élaboré par Smith en 1909. En 1923, Ramon prépare un vaccin à partir de la toxine diphtérique traitée par le formol à chaud : il montre alors qu'elle n'est plus toxique, mais conserve son pouvoir immunogène et l'appelle anatoxine. Dans les années suivantes, l'anatoxine sera associée à des adjuvants, puis couplée à d'autres valences vaccinales. En 1995, par hybridation ADN-ADN, *C. ulcerans incertae sedis* est reconnue comme espèce propre du genre *Corynebacterium* par Riegel *et al* (3).

III. - MICROBIOLOGIE

Le genre *Corynebacterium* (dérivé du grec « coryne » qui signifie massue en référence à la morphologie bactérienne) réunit des bacilles à Gram positif, immobiles, de forme irrégulière, en « massue » ou en « altère ». Ils sont généralement disposés en « palissades » ou en « idéogrammes chinois ». Il rassemble près de 90 espèces dont environ la moitié a été associée à des infections humaines (4). Hormis les trois espèces du complexe *diphtheriae* - *C. diphtheriae*, *C. ulcerans* et *C. pseudotuberculosis*, ces bactéries sont des contaminants fréquents des prélèvements et elles sont le plus souvent associées à des infections opportunistes chez l'Homme.

C. diphtheriae, *C. ulcerans* et *C. pseudotuberculosis* ont un génome d'environ 2,4 mégabases avec un contenu moyen en GC de 53 %. Ils n'hébergent habituellement pas de plasmides (5), le seul élément génétique extra-chromosomique isolé à ce jour, pNG2, conférant la résistance bactérienne aux macrolides (6-7).

Le principal facteur de virulence de *C. diphtheriae* et *C. ulcerans* est la toxine diphtérique, la mieux caractérisée des exotoxines bactériennes. Une seule molécule est suffisante pour induire l'apoptose d'une cellule (8) et la dose létale

de toxine pour l'Homme a été évaluée à 0,1 µg/kg de masse corporelle (9). Elle comprend trois domaines : récepteur, transmembranaire et catalytique. Après fixation à son récepteur cellulaire, le « *pro-heparin binding Epidermal Growth Factor* » (hb-EGF), la toxine est internalisée et son domaine catalytique est libéré dans le cytoplasme de la cellule. Celui-ci catalyse une réaction d'ADP-ribosylation du facteur d'élongation EF-2, à l'origine de l'arrêt de la synthèse protéique et de l'apoptose cellulaire (10). Comme pour d'autres exotoxines bactériennes, le gène *tox* est constitutif du génome d'un bactériophage (11). Tous les isolats de *C. diphtheriae* et de *C. ulcerans* n'ont cependant pas subi une conversion lysogénique et certains ne possèdent donc pas le gène *tox* et sont qualifiés *tox*-. La transcription du gène *tox* est contrôlée par le répresseur DtxR qui régule un régulon impliquant, outre *tox*, des gènes impliqués dans l'homéostasie du fer (12). Cette régulation dépend de la composition du milieu environnant en métaux divalents et plus particulièrement en fer. Si la concentration en fer est élevée, DtxR associé au fer ferreux se fixe sur le promoteur du gène *tox* et empêche sa transcription ; en cas de carence martiale, la protéine DtxR est alors libre et n'est plus fixée au promoteur du gène *tox* dont la transcription a ainsi lieu.

Les corynébactéries du complexe *diphtheriae* expriment d'autres facteurs de virulence qui expliquent probablement la pathogénicité des isolats *tox*-. Ce sont notamment des pili, des protéines d'adhésion au collagène et des systèmes d'acquisition et de transport du fer (13).

Les techniques de typage phénotypique ont un faible pouvoir discriminant et sont peu utiles pour la comparaison d'isolats. Néanmoins, la détermination des biotypes de *C. diphtheriae* (*mitis*, *intermedius*, *gravis*, *belfanti*), individualisés selon leur capacité à réduire les nitrates et à utiliser le glycogène, conserve encore un intérêt. Il convient de souligner que les isolats appartenant au biotype *belfanti* n'expriment pas la toxine diphtérique. Les méthodes de génotypage ont contribué à une meilleure compréhension de la structure des populations bactériennes : d'abord la ribotypie, puis l'analyse de la séquence nucléotidique de sept portions de gènes domestiques (*housekeeping genes*) conservés dans l'espèce et assurant des fonctions physiologiques essentielles sans être soumis à une forte pression de sélection, qui s'est révélée beaucoup plus discriminante. Pour chacun des sept gènes étudiés, les allèles sont identifiés par un numéro attribué arbitrairement et un génotype (*Sequence Type* ou ST) est défini par un code à 7 chiffres correspondant aux allèles identifiés. Cette méthode (*Multi-Locus Sequence Typing* ou MLST) est robuste, reproductible et permet une analyse phylogénétique.

IV. - HABITAT ET MODE DE TRANSMISSION

C. diphtheriae et *C. ulcerans* se distinguent par leurs réservoirs et leurs modes de transmissions. *C. diphtheriae* est considéré comme un pathogène strictement humain, même si de rares cas d'infection ont été décrits chez le chat et le cheval (15-17). L'oropharynx et la peau des malades

ainsi que des porteurs sains constituent le réservoir de cette espèce (18-19) ; une contamination de l'environnement de ces sujets par *C. diphtheriae* a été suggérée mais reste à préciser (20). Les modes de transmission prouvés sont donc strictement interhumains, par contact rapproché, cutané ou respiratoire.

C. ulcerans a été isolé de diverses espèces animales : bovins, porcins, singes, écureuils de laboratoires, loutres, épaulards et lions..., mais aussi chiens et chats (21-26). Une contamination humaine à partir de produits laitiers non pasteurisés avait initialement été évoquée ; mais une transmission de *C. ulcerans* à l'Homme au contact d'animaux malades ou porteurs sains de la bactérie, et plus particulièrement de chats et de chiens, a récemment été confirmée (22, 27-29). Une étude japonaise a montré un portage nasal asymptomatique chez 7 % des chiens (30). Aucun cas de transmission interhumaine de *C. ulcerans* n'a été décrit à ce jour. *C. ulcerans* est aujourd'hui le premier agent étiologique de diphtérie dans les pays à couverture vaccinale élevée (27, 31).

V. - ÉPIDÉMIOLOGIE

A) Période pré-vaccinale

Avant la mise au point du vaccin, la diphtérie existait à l'état d'endémie et des bouffées épidémiques survenaient, avec une incidence et un taux de mortalité très élevés. Elle était une des principales causes de mortalité infantile (32-33). La majorité des individus développait une immunité protectrice avant l'âge de 15 ans (34). La promiscuité et les mauvaises conditions socio-économiques étaient les facteurs de risque majeurs de la maladie, le pic annuel de cas observé en automne étant attribué à la réouverture des écoles. Bien que la vaccination n'ait été mise au point qu'en 1923, une diminution de l'incidence de la maladie a été constatée dès la fin du XIX^e siècle, probablement en raison de l'amélioration des conditions d'hygiène (33, 34). La diffusion de l'utilisation du vaccin a conduit à une réduction de l'incidence de la maladie qui reste hétérogène et fonction de la couverture vaccinale de chaque pays.

B) Période vaccinale

1) Europe de l'Ouest et Amérique du Nord : exemple de la France

Les cas autochtones de diphtérie causés par *C. diphtheriae tox+* ont disparu (ou presque) dans ces pays. En Europe de l'Ouest, la dernière épidémie de diphtérie remonte à la Seconde Guerre mondiale. En France, le nombre de cas est passé de plus de 45 000 (avec 3 000 décès) en 1945 à moins de 1 000 cas en 1960 et environ 5 cas par an dans les années 1980 (27). Le dernier cas d'infection autochtone à *C. diphtheriae tox+* a été déclaré en 1989. Cependant, depuis cette date, d'importantes modifications épidémiologiques ont été observées :

a) La réapparition de cas de diphtérie importés à *C. diphtheriae tox+*. Huit cas ont été déclarés depuis 2001 (4

infections respiratoires et 4 infections cutanées). Tous avaient été contractés lors d'un séjour en zone d'endémie et concernaient des sujets qui n'étaient pas vaccinés ou qui avaient été incomplètement vaccinés (27, 35).

b) L'émergence de cas autochtones de diphtérie à *C. ulcerans tox+*. Jusqu'en 2003, seules les infections à *C. diphtheriae tox+* étaient soumises à une déclaration obligatoire auprès des Agences Régionales de Santé. L'élargissement des critères de notification à *C. ulcerans tox+*, suivant les recommandations de l'*European Centre for Disease Prevention and Control* (ECDC), a permis de mieux identifier le rôle de cette espèce. Depuis 2003, 34 cas d'infection à *C. ulcerans tox+* ont été déclarés en France. Tous les patients étaient des adultes, et aucun n'avait séjourné dans une contrée où la diphtérie sévissait à l'état endémique (27, 29).

c) La persistance des infections à *C. diphtheriae tox-*. Ces isolats, contre lesquels la réponse immunitaire induite par le vaccin actuel (l'anatoxine diphtérique) est inefficace, continuent à circuler et sont responsables de diphtérie respiratoire et cutanée dont le diagnostic est parfois difficile (36).

2) Pays de l'ex-URSS

Après un relatif contrôle de la maladie à la fin des années 1970, les pays de l'ex-URSS ont connu une importante épidémie de diphtérie dans les années 1990. Elle a résulté de plusieurs facteurs concomitants : (a) les modifications socio-économiques et les mouvements de populations après le démantèlement de l'URSS, (b) l'émergence d'une population bactérienne particulièrement virulente et surtout, (c) la baisse de la couverture vaccinale dans la population générale et particulièrement chez les enfants (30 à 40 % des enfants n'étaient pas ou incomplètement vaccinés à Moscou en 1980) (37-38), qui permit à cette population bactérienne d'émerger et de se propager. Bien que l'épidémie ait été contrôlée à la fin des années 1990, la diphtérie reste endémique dans plusieurs pays atteints par l'épidémie, notamment en Russie, en Ukraine et en Lettonie, où son incidence avait été la plus forte en Europe dans les années 2000 et 2010 (39).

La majorité de ces isolats forme un complexe clonal. Les isolats *tox+* sont localisés à la région épidémique avec quelques cas importés en Europe de l'Ouest (40-42). En revanche, plusieurs infections autochtones liées à des isolats *tox-* ont été identifiées en Pologne, pays à couverture vaccinale élevée, épargné par l'épidémie (43). Ce constat souligne la capacité de *C. diphtheriae* à diffuser en absence de son principal facteur de virulence, probablement perdu du fait de la forte pression liée au taux élevé de couverture vaccinale.

3) Reste du Monde

En raison d'une couverture vaccinale insuffisante, la diphtérie reste endémique dans de nombreux pays. Parmi les 4 680 cas déclarés à l'OMS en 2013, environ 85 % l'ont

été par des pays du Sud-Est asiatique et notamment ceux du sous-continent indien (44-45). Néanmoins, la présentation parfois atypique ou frustrante de la maladie ainsi que l'indisponibilité des moyens techniques nécessaires à son diagnostic biologique contribuent à une sous-déclaration des cas à l'OMS. Au cours des 25 dernières années, des épidémies ont été observées en Algérie, au Brésil, en Équateur, en Haïti, en République Dominicaine, au Yémen, en Mongolie, en Irak, au Soudan, et en Thaïlande (46-50), et chaque fois que les isolats ont été typés, un clone prédominait (46-47, 49).

C) Cas des isolats de *C. diphtheriae tox-*

Les isolats *tox-* ont longtemps fait l'objet de peu d'attention du fait de leur pouvoir pathogène plus faible. Cependant, la quasi-disparition des isolats autochtones *tox+* dans les pays où la couverture vaccinale est élevée a porté un éclairage nouveau sur ces isolats.

Les souches de *C. diphtheriae tox-* sont responsables de diverses infections allant d'authentiques cas de diphtérie ORL ou cutanée à des infections invasives (endocardite, ostéo-arthrite, septicémie). Dans ces cas, une porte d'entrée cutanée est probable. En zone tempérée, les cas de diphtérie cutanée et un portage asymptomatique ont été constatés dans des communautés précaires : toxicomanes (par voie intraveineuse) à Zurich, sans domicile fixe à Vancouver (51-52). En France métropolitaine, un groupe clonal (ST 130) a été responsable d'une trentaine d'infections invasives, sans lien épidémiologique entre elles, entre 1991 et 1993 (36).

VI. - PRÉSENTATION CLINIQUE

A) Atteintes ORL

L'angine diphtérique est la présentation clinique la mieux connue de la maladie. Sa sévérité est variable, allant de la forme commune locale à des formes sévères avec atteintes régionales (liées à l'extension des fausses membranes au larynx) et générales (dues à l'action de la toxine). Les isolats *tox+* sont responsables des angines diphtériques simples et sévères, tandis que les formes atténuées impliquent des isolats *tox-* voire *tox+*.

Angine diphtérique commune. Elle se manifeste habituellement par une angine à « fausses membranes » bilatérale. Après une période d'incubation de 2 à 5 jours, les premiers symptômes de la maladie s'installent progressivement : fièvre, malaise général, irritation pharyngée et dysphagie. À la phase d'état, de fausses membranes, épaisses et adhérentes, blanches, puis grisâtres, enduisent les amygdales. Elles sont extensives et recouvrent rapidement le voile du palais, puis le pharynx. L'angine pseudo-membraneuse est habituellement associée à un coryza et à des adénopathies cervicales.

Angine diphtérique maligne. La gravité de la maladie est liée à deux principales complications : la laryngite diphtérique et le syndrome toxinique.

Secondaire à l'extension des fausses membranes vers le larynx, la laryngite diphtérique (ou croup) est le plus souvent combinée à des signes locaux (œdème cervical et volumineuses adénopathies cervicales formant le cou proconsulaire) et généraux marqués (fièvre élevée, altération de l'état général). Le croup annonce ou s'accompagne fréquemment d'un syndrome toxinique (cf. paragraphe dédié). Le taux de mortalité de cette forme est élevé, entre 2 et 10 %.

Angine diphtérique atténuée. Les formes atténuées sont caractérisées par l'absence de fausses membranes. Elles sont plus fréquentes chez les malades incomplètement vaccinés et leur taux de mortalité est plus faible. Elles ont concerné jusqu'à deux-tiers des cas survenus en Russie il y a une vingtaine d'années. En raison de leur présentation atypique, leur diagnostic est difficile, et une vigilance médicale particulière doit être portée devant toute angine survenant chez un patient n'ayant pas été revacciné et qui revient d'un séjour dans une zone endémique de diphtérie.

B) Diphtérie cutanée

La diphtérie cutanée est la plus fréquente des manifestations extra-respiratoires de la diphtérie. Siégeant préférentiellement aux membres, elle résulte le plus souvent de la surinfection d'un traumatisme cutané, d'une plaie chirurgicale, d'une dermatose (gale, impétigo, eczéma) ou d'une piqûre d'insecte (53-56).

Elle débute habituellement par une lésion vésiculeuse ou pustuleuse, qui se rompt rapidement pour laisser la place à un ulcère communément recouvert d'une fausse membrane. Après deux semaines d'évolution, il ne reste plus qu'un ulcère à fond hémorragique, indolore. Les berges de l'ulcère sont légèrement surélevées et irrégulières ; la peau péri-lésionnelle est plus ou moins inflammatoire (57). Néanmoins, cette présentation classique est assez rare et les lésions cutanées sont souvent peu spécifiques.

La présentation clinique de la diphtérie cutanée est similaire pour les isolats *tox-* ou *tox+*. Pour ces derniers, les complications « toxiques » sont beaucoup plus rares que dans les atteintes ORL, probablement en raison de la diffusion plus lente de la toxine diphtérique qui, ainsi, laisserait le temps à l'organisme de synthétiser des anticorps neutralisants (58-59).

La diphtérie cutanée est donc une infection chronique, jouant un rôle important dans la propagation de la bactérie. Son diagnostic est difficile tant pour le microbiologiste que pour le clinicien : (a) la présentation clinique n'est pas spécifique et le caractère indolore des lésions peut différer le diagnostic, (b) l'isolement (par culture) de *C. diphtheriae* à partir du prélèvement cutané par écouvillonnage est presque toujours associé à celui de *Staphylococcus aureus* ou de *Streptococcus pyogenes* (groupe A de Lancefield) (52, 58-60). De plus, de nombreuses espèces de corynébactéries sont des commensales de la peau et sont considérées

comme contaminants des prélèvements. Ainsi, l'étiologie de la lésion peut être attribuée à tort à *S. aureus* ou à *S. pyogenes*.

Dans les pays à couverture vaccinale élevée, la diphthérie cutanée est actuellement rencontrée dans deux contextes :

- les cas autochtones, surviennent chez des sujets vivant dans des conditions socio-économiques défavorisées et impliquent des isolats *tox-* (52, 55-56, 58),
- les cas importés, sont observés chez des sujets revenant de zone d'endémie et plus particulièrement de régions tropicales, et des isolats *tox+* ou *tox-* sont incriminés (14, 54, 58, 60-61).

Dans les zones de faible endémie, le portage cutané pourrait jouer un plus grand rôle dans la propagation de la bactérie dans la population que le portage nasopharyngé, via la transmission à des sujets sains et la contamination de l'environnement (18-19). Par conséquent, une vigilance médicale doit être accrue face à une lésion ulcéreuse chronique chez un patient revenant d'une zone tropicale ou vivant dans des conditions précaires (52, 56, 61).

C) Syndrome toxinique

Le syndrome toxinique est une complication grave de la diphthérie, frappant principalement le cœur et le système nerveux.

La myocardite apparaît une à trois semaines après le début des symptômes (62-63). Elle se manifeste par des troubles du rythme (bradycardie sinusale, dissociation auriculo-ventriculaire) et de la conduction (bloc auriculo-ventriculaire, bloc de branche), et elle impose une étroite surveillance clinique et électrocardiographique. Le taux de mortalité est élevé, estimé entre 40 et 50 %, les principales causes de décès étant le choc cardiogénique et la fibrillation ventriculaire.

Des paralysies vélo-palatines et/ou oculomotrices apparaissent vers le dixième jour et sont annonciatrices de complications neurologiques et cardiaques plus sévères. La polyradiculonévrite diphthérique (syndrome malin de Grenet et Mézart) survient six à huit semaines après le début des symptômes (64) et débute par une atteinte ascendante des nerfs périphériques. Elle peut être associée à une atteinte des nerfs crâniens conduisant à des troubles de la déglutition et de la ventilation. Une assistance respiratoire est nécessaire pour 20 % des patients. La phase d'état est atteinte vers le 50^e jour et dure environ 4 semaines. Elle est suivie par une longue phase de récupération, allant de quelques semaines à plusieurs mois. La polyradiculonévrite diphthérique présente donc des similitudes cliniques et paracliniques avec le syndrome de Guillain-Barré (64), les modifications du LCR et de l'électromyogramme étant identiques pour ces deux maladies. Cependant, au cours de la polyradiculonévrite diphthérique, les troubles respiratoires et de la déglutition sont plus fréquents, l'évolution est plus lente, le taux de mortalité est plus élevé et les séquelles sont plus fréquentes.

D) Autres présentations cliniques

À côté des formes ORL et cutanées, les isolats *tox-* de *C. diphtheriae* peuvent être également à l'origine d'infections invasives, septicémie, endocardite, arthrite (56, 65-67), dont la porte d'entrée est souvent cutanée.

VII. - DIAGNOSTIC MICROBIOLOGIQUE

Tout cas suspect de diphthérie justifie la réalisation d'une analyse microbiologique des produits pathologiques, afin de confirmer le diagnostic de la maladie, de rechercher d'éventuelles résistances aux antibiotiques de la souche de *C. diphtheriae* (ou de *C. ulcerans*) isolée, et de débiter une enquête épidémiologique pour les sujets infectés par des isolats *tox+*.

A) Prélèvement des produits pathologiques

L'écouvillonnage des lésions est le moyen le plus simple pour rechercher l'agent étiologique. Dans les atteintes ORL, on prélèvera la surface des fausses membranes et des amygdales, et dans les atteintes cutanées, le fond d'un ulcère. En cas d'obstruction des voies respiratoires hautes nécessitant l'excision des fausses membranes, un fragment de celles-ci sera envoyé au laboratoire de microbiologie.

B) Examen microscopique

L'examen microscopique, après coloration des produits prélevés sur les fausses membranes ou sur les amygdales, met généralement en évidence une disparition de la flore de Veillon et la présence quasi-exclusive de bacilles à Gram positif, corynéformes. Cet examen est nettement moins contributif pour les produits prélevés de lésions cutanées du fait du caractère poly-microbien de l'infection.

C) Culture

C. diphtheriae et *C. ulcerans* sont des bactéries aéro-anaérobies facultatives, dont la réplique *in vitro* n'exige pas de facteurs nutritifs particuliers. Le milieu de Tinsdale (qui contient du sang laqué, du tellurite de potassium et de la L-cystéine) permet un repérage rapide des colonies suspectes, noires (par réduction du tellurite) et entourées d'un halo brun (lié à l'activité cystinase de la bactérie). L'incidence de la maladie étant faible, la péremption rapide du milieu Tinsdale fait qu'il n'est pas toujours disponible en routine dans les laboratoires de biologie médicale. À défaut, la culture peut être réalisée sur une gélose trypticase soja et une gélose Columbia additionnée de sang, milieux à la surface desquels sera déposé un disque de fosfomycine, antibiotique inactif sur les corynébactéries, ce qui facilite ainsi leur détection.

D) Identification

Un système d'identification phénotypique automatisé pour l'identification microbienne de routine (par exemple, VITEK® 2 Compact), la spectrométrie de masse MALDI-TOF, ou le séquençage des gènes codant la sous-

unité bêta de l'ARN polymérase (*rpoB*) ou l'ARN 16S (*16Srrn*) permettent l'identification des trois espèces du complexe *diphtheriae* (68-71). Cependant *C. ulcerans* et *C. pseudotuberculosis*, phylogénétiquement proches puisqu'elles partagent 99,3 % du gène *16Srrn*, ne peuvent être distinguées que par spectrométrie de masse ou séquençage de *rpoB* (70). Dans tous les cas, ces méthodes permettent d'identifier la bactérie suspecte comme appartenant au complexe *diphtheriae* et de donner l'alerte. L'isolat doit être systématiquement transmis au Centre National de Référence (CNR) des corynébactéries du complexe *diphtheriae* (Institut Pasteur) pour confirmation de son identité et détermination de son statut toxinique.

E) Détermination du statut toxinique

La détermination du statut toxinique est une urgence thérapeutique et épidémiologique. Elle est établie, au CNR, par le test d'Elek (modifié) et par amplification (PCR) du gène *tox* (72-74). Seuls les isolats possédant le gène *tox* justifient une sérothérapie chez les malades et la réalisation d'une enquête épidémiologique.

F) Sensibilité aux antibiotiques

C. diphtheriae et *C. ulcerans* sont naturellement sensibles à de nombreuses classes d'antibiotiques, dont les bêta-lactamines (excepté l'aztréonam) et les macrolides. Elles sont naturellement résistantes aux quinolones et à la fosfomycine. La résistance aux bêta-lactamines (indépendante de l'expression de bêta-lactamases) et aux macrolides est rare pour les isolats autochtones, mais a été décrite en zone d'endémie, surtout pour les macrolides (75). Cependant, les résistances croisées entre ces deux classes d'antibiotiques restent exceptionnelles (76-77). Les résistances aux cyclines, à la rifampicine et au cotrimoxazole ne sont pas rares (78).

VIII. - TRAITEMENT

La prise en charge d'un cas de diphtérie comprend deux volets, curatif (antibiothérapie et parfois sérothérapie) et préventif (en cas d'infection à *C. diphtheriae tox+*).

A) Antibiothérapie

Elle est débutée après la réalisation des prélèvements à visée diagnostique. L'amoxicilline (3 g/j chez l'adulte ; 100 mg/kg/j chez l'enfant) est administrée en 3 prises pendant 15 jours. Les macrolides sont les antibiotiques de seconde intention et utilisés en cas d'allergie aux bêta-lactamines : azithromycine (500 mg x 1/j chez l'adulte) pendant 3 jours ou clarithromycine pendant 15 jours (250 mg x 2/j chez l'adulte ; 7,5 mg x 2/j chez l'enfant).

B) Sérothérapie

Le sérum antidiphthérique est un sérum disponible sous ATU (autorisation temporaire d'utilisation). Il est administré aux seuls patients infectés par un isolat *tox+* et à ceux présentant un syndrome toxinique avant même la confir-

mation du statut toxinique de la souche infectante. Du fait d'un risque de réaction anaphylactique sévère, il est administré de manière fractionnée par voie-sous-cutanée (technique de Besredka). En pratique, 0,1 ml de sérum antidiphthérique est d'abord injecté puis, en l'absence de réaction du malade dans les 15 minutes suivantes, 0,25 ml, et enfin le volume restant de sérum si aucune manifestation allergique n'est survenue 15 minutes après la deuxième injection. Les immunoglobulines spécifiques sont d'autant plus efficaces qu'elles sont précocement administrées.

C) Mesures associées

1) Signalement, Déclaration Obligatoire

Tout cas suspect de diphtérie doit être signalé dans les plus brefs délais à l'Agence Régionale de Santé et l'isolat clinique doit être envoyé au CNR pour la confirmation de son identité et de la détermination de son statut toxinique. Seuls les cas d'infection par *C. diphtheriae tox+* sont soumis à une déclaration obligatoire.

2) Vaccination

La réponse immunitaire du malade contre *C. diphtheriae* étant faible, une vaccination de rappel est impérative chez le convalescent, un mois après la maladie. C'est l'occasion de mettre à jour les autres vaccinations et chez un adulte entouré par des enfants, le vaccin quadrivalent comprenant le vaccin coquelucheux acellulaire sera préconisé.

3) Suivi clinique et microbiologique

Après l'instauration de l'antibiothérapie, une consultation de suivi est nécessaire afin de réaliser des contrôles microbiologiques au quinzième jour (au septième pour l'azithromycine), ainsi qu'au trentième jour pour vérifier l'éradication de la bactérie du foyer infectieux.

4) Enquête épidémiologique

Elle est menée par les autorités de santé, en collaboration avec les cliniciens et les microbiologistes ayant fait le diagnostic ainsi qu'avec le CNR. Ses objectifs sont d'identifier l'origine du cas, de dépister les cas secondaires et de repérer les porteurs sains éventuels afin de limiter la diffusion de la bactérie dans la population. L'investigation des cas secondaires et des porteurs asymptomatiques concerne les sujets ayant eu un contact rapproché avec le cas initial dans les sept jours précédant son diagnostic. Une surveillance clinique pendant sept jours, ainsi qu'un écouvillonnage des fosses nasales et d'éventuelles plaies cutanées (pour examen bactériologique) seront effectués. Une mise à jour des vaccinations est également préconisée.

L'antibioprophylaxie n'est recommandée que pour les personnes ayant eu des contacts rapprochés avec un malade infecté par une souche toxigène de *C. diphtheriae*. L'amoxicilline (3 g/j chez l'adulte ou 100 mg/kg/j chez l'enfant, en trois prises), ou un macrolide en cas d'allergie aux bêta-lactamines, est alors prescrite pendant 7 à 10 jours.

IX. - VACCINATION

Le schéma vaccinal pour la diphthérie, le tétanos et la poliomyélite a été simplifié en 2013 et 2014. La primo-vaccination est obligatoire chez le nourrisson et comprend désormais deux (et non plus trois) injections, au deuxième et quatrième mois, et une vaccination de rappel au onzième mois. Les rappels ultérieurs sont recommandés à 6 ans, puis entre 11 et 13 ans. Chez l'adulte un rappel

est conseillé tous les 20 ans à partir de 25 ans, puis tous les 10 ans à partir de 65 ans.

Remerciement

Je remercie le Dr Nicole Guiso (CNR des Corynébactéries du complexe *diphtheriae*) pour la relecture de cette revue.

Conflit d'intérêt : aucun.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- (1) Haut Conseil de la Santé Publique. Conduite à tenir lors de l'apparition d'un cas de diphthérie, 2011.
- (2) Patey O, Dellion S. Diphtheria and infections caused by *Corynebacterium diphtheriae* in 1997. *Rev Méd Interne* 1999 ; **20** (1) : 39-49.
- (3) Riegel P, Ruimy R, de Briel D, Prévost G, Jehl F, Christen R, et al. Taxonomy of *Corynebacterium diphtheriae* and related taxa, with recognition of *Corynebacterium ulcerans* sp. nov. nom. rev. *FEMS Microbiol Lett* 1995 ; **126** (3) : 271-6.
- (4) Bernard K. The genus *Corynebacterium* and other medically relevant coryneform-like bacteria. *J Clin Microbiol* 2012 ; **50** (10) : 3152-8.
- (5) Zasada AA, Baczewska-Rej M, Wardak S. An increase in non-toxicogenic *Corynebacterium diphtheriae* infections in Poland - molecular epidemiology and antimicrobial susceptibility of strains isolated from past outbreaks and those currently circulating in Poland. *Int J Infect Dis* 2010 ; **14** (10) : e907-12.
- (6) Schiller J, Groman N, Coyle M. Plasmids in *Corynebacterium diphtheriae* and diphtheroids mediating erythromycin resistance. *Antimicrob Agents Chemother* 1980 ; **18** (5) : 814-21.
- (7) Tauch A, Bischoff N, Brune I, Kalinowski J. Insights into the genetic organization of the *Corynebacterium diphtheriae* erythromycin resistance plasmid pNG2 deduced from its complete nucleotide sequence. *Plasmid* 2003 ; **49** (1) : 63-74.
- (8) Uchida T. Diphtheria toxin. *Pharmacol Ther* 1982 ; **19** (1) : 107-22.
- (9) Holmes RK. Biology and molecular epidemiology of diphtheria toxin and the *tox* gene. *J Infect Dis* 2000 ; **181** Suppl 1 : S156-67.
- (10) Oppenheimer NJ, Bodley JW. Diphtheria toxin. Site and configuration of ADP-ribosylation of diphthamide in elongation factor 2. *J Biol Chem* 1981 ; **256** (16) : 8579-81.
- (11) Freeman VJ. Studies on the virulence of bacteriophage-infected strains of *Corynebacterium diphtheriae*. *J Bacteriol* 1951 ; **61** (6) : 675-88.
- (12) Mokrousov I. *Corynebacterium diphtheriae*: genome diversity, population structure and genotyping perspectives. *Infect Genet Evol* 2009 ; **9** (1) : 1-15.
- (13) Trost E, Blom J, de Castro Soares C, Huang IH, Al-Dilaimi A, Schröder J, et al. Pangenomic study of *Corynebacterium diphtheriae* that provides insights into the genomic diversity of pathogenic isolates from cases of classical diphtheria, endocarditis, and pneumonia. *J Bacteriol* 2012 ; **194** (12) : 3199-215.
- (14) Farfour E, Badell E, Jacques Natali L, Dommergues MA, Blot S, Guiso N, et al. Photo quiz: multiple skin lesions on a 9-year-old boy returning from Mali. *J Clin Microbiol* 2014 ; **52** (10) : 3523.
- (15) Hall AJ, Cassiday PK, Bernard KA, Bolt F, Steigerwalt AG, Bixler D, et al. Novel *Corynebacterium diphtheriae* in domestic cats. *Emerg Infect Dis* 2010 ; **16** (4) : 688-91.
- (16) Henricson B, Segarra M, Garvin J, Burns J, Jenkins S, Kim C, et al. Toxicogenic *Corynebacterium diphtheriae* associated with an equine wound infection. *J Vet Diagn Invest* 2000 ; **12** (3) : 253-7.
- (17) Leggett BA, De Zoysa A, Abbott YE, Leonard N, Markey B, Efstratiou A. Toxicogenic *Corynebacterium diphtheriae* isolated from a wound in a horse. *Vet Rec* 2010 ; **166** (21) : 656-7.
- (18) Koopman JS, Campbell J. The role of cutaneous diphtheria infections in a diphtheria epidemic. *J Infect Dis* 1975 ; **131** (3) : 239-44.
- (19) Pedersen AH, Spearman J, Tronca E, Bader M, Harnisch J. Diphtheria on Skid Road, Seattle, Wash., 1972-75. *Public Health Rep* 1977 ; **92** (4) : 336-42.
- (20) Walther BA, Ewald PW. Pathogen survival in the external environment and the evolution of virulence. *Biol Rev Camb Philos Soc* 2004 ; **79** (4) : 849-69.
- (21) Hrabák J, Walková R, Studentová V, Chudáková E, Bergerová T. Carbapenemase activity detection by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. *J Clin Microbiol* 2011 ; **49** (9) : 3222-7.
- (22) Corti MA, Bloemberg GV, Borelli S, Kutzner H, Eich G, Hoelzle L, et al. Rare human skin infection with *Corynebacterium ulcerans*: transmission by a domestic cat. *Infection* 2012 ; **40** (5) : 575-8.
- (23) Seto Y, Komiya T, Iwaki M, Kohda T, Mukamoto M, Takahashi M, et al. Properties of coryneophage attachment site and molecular epidemiology of *Corynebacterium ulcerans* isolated from humans and animals in Japan. *Jpn J Infect Dis* 2008 ; **61** (2) : 116-22.
- (24) Foster G, Patterson T, Howie F, Simpson V, Davison N, Efstratiou A, et al. *Corynebacterium ulcerans* in free-ranging otters. *Vet Rec* 2002 ; **150** (16) : 524.
- (25) Schuëgger R, Schoerner C, Dlugaiczyk J, Lichtenfeld I, Trouillier A, Zeller-Peronnet V, et al. Pigs as source for toxicogenic *Corynebacterium ulcerans*. *Emerg Infect Dis* 2009 ; **15** (8) : 1314-5.
- (26) Venezia J, Cassiday PK, Marini RP, Shen Z, Buckley EM, Peters Y, et al. Characterization of *Corynebacterium* species in macaques. *J Med Microbiol* 2012 ; **61** (10) : 1401-8.
- (27) Bonmarin I, Guiso N, Le Flèche-Matéos A, Patey O, Grimont PA, Lévy-Bruhl D. Diphtheria: a zoonotic disease in France? *Vaccine* 2009 ; **27** (31) : 4196-200.
- (28) Hogg RA, Wessels J, Hart J, Efstratiou A, De Zoysa A, Mann G, et al. Possible zoonotic transmission of toxicogenic *Corynebacterium ulcerans* from companion animals in a human case of fatal diphtheria. *Vet Rec* 2009 ; **165** (23) : 691-2.
- (29) Lartigue MF, Monnet X, Le Flèche A, Grimont PA, Benet JJ, Durbach A, et al. *Corynebacterium ulcerans* in an immunocompromised patient with diphtheria and her dog. *J Clin Microbiol* 2005 ; **43** (2) : 999-1001.
- (30) Katsukawa C, Komiya T, Yamagishi H, Ishii A, Nishino S, Nagahama S, et al. Prevalence of *Corynebacterium ulcerans* in dogs in Osaka, Japan. *J Med Microbiol* 2012 ; **61** (2) : 266-73.
- (31) Both L, Collins S, de Zoysa A, White J, Mandal S, Efstratiou A. Molecular and epidemiological review of toxicogenic diphtheria infections in England between 2007 and 2013. *J Clin Microbiol* 2015 ; **53** (2) : 567-72.
- (32) Vitek CR, Wharton M. Diphtheria in the former Soviet Union: reemergence of a pandemic disease. *Emerg Infect Dis* 1998 ; **4** (4) : 539-50.
- (33) Schuman LM, Doull JA. Diphtheria infection and morbidity in Cleveland, 1937-1939. *Am J Public Health Nations Health* 1940 ; **30** (3 suppl) : 16-24.
- (34) Lane EA. Trends in diphtheria mortality, 1933. *Public Health Rep* 2006 ; **121** (Suppl 1) : 207-11.
- (35) Rousseau C, Belchior E, Broche B, Badell E, Guiso N, Laharie I, et al. Diphtheria in the south of France, March 2011. *Euro Surveill* 2011 ; **16** (19) : pii=19867.
- (36) Farfour E, Badell E, Dinu S, Guillot S, Guiso N. Microbiological changes and diversity in autochthonous non-toxicogenic *Corynebacterium diphtheriae* isolated in France. *Clin Microbiol Infect* 2013 ; **19** (10) : 980-7.
- (37) Markina SS, Maksimova NM, Vitek CR, Bogatyreva EY, Monisov AA. Diphtheria in the Russian Federation in the 1990s. *J Infect Dis* 2000 ; **181** (Suppl 1) : S27-34.
- (38) WHO. Expanded programme on immunization. Outbreak of diphtheria. *Wkly Epidemiol Rec* 1991 ; **66** (25) : 181-5.

- (39) WHO. WHO vaccine-preventable diseases monitoring system, 2010 global summary. Accessible à l'adresse : http://whqlibdoc.who.int/hq/2010/WHO_IVB_2010_eng.pdf
- (40) Rasmussen I, Wallace S, Mengshoel AT, Høiby EA, Brandtzaeg P. Diphtheria outbreak in Norway: lessons learned. *Scand J Infect Dis* 2011 ; **43** (11-12) : 986-9.
- (41) Handysides S. Woman from England acquired diphtheria on a Baltic cruise. *Euro Surveill* 1997 ; **1** (7) : pii=1094.
- (42) Rey M. Resurgence of diphtheria in Europe. *Clin Microbiol Infect* 1996 ; **2** (1) : 71-2.
- (43) Farfour E, Badell E, Zasada A, Hotzel H, Tomaso H, Guillot S, et al. Characterization and comparison of invasive *Corynebacterium diphtheriae* isolates from France and Poland. *J Clin Microbiol* 2012 ; **50** (1) : 173-5.
- (44) WHO. WHO vaccine-preventable diseases monitoring system 2014. http://www.who.int/immunization/monitoring_surveillance/data/g_s_seaprofile.pdf?ua=1
- (45) WHO. WHO vaccine-preventable diseases monitoring system 2014. http://www.who.int/immunization/monitoring_surveillance/data/g_s_gloprofile.pdf?ua=1
- (46) Santos LS, Sant'anna LO, Ramos JN, Ladeira EM, Stavracakis-Peixoto R, Borges LL, et al. Diphtheria outbreak in Maranhão, Brazil: microbiological, clinical and epidemiological aspects. *Epidemiol Infect* 2015 ; **143** (4) : 791-8.
- (47) Belhocine S, Rahal K. L'épidémiologie de diphtérie en Algérie (1993-1995). Données bactériologiques. *Méd Mal Infect* 1997 ; **27** (10) : 842-7.
- (48) Besa NC, Coldiron ME, Bakri A, Raji A, Nsuami MJ, Rousseau C, et al. Diphtheria outbreak with high mortality in northeastern Nigeria. *Epidemiol Infect* 2014 ; **142** (4) : 797-802.
- (49) Bolt F, Cassidy P, Tondella ML, Dezoysa A, Efstratiou A, Sing A, et al. Multilocus sequence typing identifies evidence for recombination and two distinct lineages of *Corynebacterium diphtheriae*. *J Clin Microbiol* 2010 ; **48** (11) : 4177-85.
- (50) Galazka A. The changing epidemiology of diphtheria in the vaccine era. *J Infect Dis* 2000 ; **181** (Suppl 1) : S2-9.
- (51) Gubler J, Huber-Schneider C, Gruner E, Altwegg M. An outbreak of nontoxicogenic *Corynebacterium diphtheriae* infection: single bacterial clone causing invasive infection among Swiss drug users. *Clin Infect Dis* 1998 ; **27** (5) : 1295-8.
- (52) Lowe CF, Bernard KA, Romney MG. Cutaneous diphtheria in the urban poor population of Vancouver, British Columbia, Canada: a 10-year review. *J Clin Microbiol* 2011 ; **49** (7) : 2664-6.
- (53) Cockcroft WH, Boyko WJ, Allen DE. Cutaneous infections due to *Corynebacterium diphtheriae*. *Can Med Assoc J* 1973 ; **108** (3) : 329-31.
- (54) González-Ruiz A, Newsholme WA, Tan GD, Bahl M, Bryceson A, Ridgway GL. Tropical ulcers and diphtheria. *J R Soc Med* 1997 ; **90** (11) : 631-2.
- (55) Monsuez JJ, Mathieu D, Arnoult F, Passeron J. Cutaneous diphtheria in a homeless man. *Lancet* 1995 ; **346** (8975) : 649-50.
- (56) Patey O, Bimet F, Riegel P, Halioua B, Emond JP, Estrangin E, et al. Clinical and molecular study of *Corynebacterium diphtheriae* systemic infections in France. Coryne Study Group. *J Clin Microbiol* 1997 ; **35** (2) : 441-5.
- (57) Hadfield TL, McEvoy P, Polotsky Y, Tzinslering VA, Yakovlev AA. The pathology of diphtheria. *J Infect Dis* 2000 ; **181** (Suppl 1) : S116-20.
- (58) de Benoist AC, White JM, Efstratiou A, Kelly C, Mann G, Nazareth B, et al. Imported cutaneous diphtheria, United Kingdom. *Emerg Infect Dis* 2004 ; **10** (3) : 511-3.
- (59) Harnisch JP, Tronca E, Nolan CM, Turk M, Holmes KK. Diphtheria among alcoholic urban adults. A decade of experience in Seattle. *Ann Intern Med* 1989 ; **111** (1) : 71-82.
- (60) May ML, McDougall RJ, Robson JM. *Corynebacterium diphtheriae* and the returned tropical traveler. *J Travel Med* 2014 ; **21** (1) : 39-44.
- (61) Sing A, Heeseemann J. Imported cutaneous diphtheria, Germany, 1997-2003. *Emerg Infect Dis* 2005 ; **11** (2) : 343-4.
- (62) Loukoushkina EF, Bobko PV, Kolbasova EV, Kazakova LV, Krasnov VV, Shipova LG, et al. The clinical picture and diagnosis of diphtheritic carditis in children. *Eur J Pediatr* 1998 ; **157** (7) : 528-33.
- (63) Kneen R, Nguyen MD, Solomon T, Pham NG, Parry CM, Nguyen TT, et al. Clinical features and predictors of diphtheritic cardiomyopathy in Vietnamese children. *Clin Infect Dis* 2004 ; **39** (11) : 1591-8.
- (64) Logina I, Donaghy M. Diphtheritic polyneuropathy: a clinical study and comparison with Guillain-Barré syndrome. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1999 ; **67** (4) : 433-8.
- (65) Barakett V, Morel G, Lesage D, Petit JC. Septic arthritis due to a nontoxicogenic strain of *Corynebacterium diphtheriae* subspecies mitis. *Clin Infect Dis* 1993 ; **17** (3) : 520-1.
- (66) Damade R, Pouchot J, Delacroix I, Boussougant Y, Vinceneux P. Septic arthritis due to *Corynebacterium diphtheriae*. *Clin Infect Dis* 1993 ; **16** (3) : 446-7.
- (67) Viguetti SZ, Pacheco LG, Santos LS, Soares SC, Bolt F, Baldwin A, et al. Multilocus sequence types of invasive *Corynebacterium diphtheriae* isolated in the Rio de Janeiro urban area, Brazil. *Epidemiol Infect* 2012 ; **140** (4) : 617-20.
- (68) Funke G, Renaud FN, Freney J, Riegel P. Multicenter evaluation of the updated and extended API (RAPID) Coryne database 2.0. *J Clin Microbiol* 1997 ; **35** (12) : 3122-6.
- (69) Farfour E, Leto J, Barritault M, Barberis C, Meyer J, Dauphin B, et al. Evaluation of the Andromas matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry system for identification of aerobically growing Gram-positive bacilli. *J Clin Microbiol* 2012 ; **50** (8) : 2702-7.
- (70) Khamis A, Raoult D, La Scola B. Comparison between *rpoB* and 16S rRNA gene sequencing for molecular identification of 168 clinical isolates of *Corynebacterium*. *J Clin Microbiol* 2005 ; **43** (4) : 1934-6.
- (71) Rennie RP, Brosnikoff C, Turnbull L, Reller LB, Mirrett S, Janda W, et al. Multicenter evaluation of the Vitek 2 anaerobe and *Corynebacterium* identification card. *J Clin Microbiol* 2008 ; **46** (8) : 2646-51.
- (72) Engler KH, Glushkevich T, Mazurova IK, George RC, Efstratiou A. A modified Elek test for detection of toxigenic corynebacteria in the diagnostic laboratory. *J Clin Microbiol* 1997 ; **35** (2) : 495-8.
- (73) Hauser D, Popoff MR, Kiredjian M, Boquet P, Bimet F. Polymerase chain reaction assay for diagnosis of potentially toxinogenic *Corynebacterium diphtheriae* strains: correlation with ADP-ribosylation activity assay. *J Clin Microbiol* 1993 ; **31** (10) : 2720-3.
- (74) Schuegger R, Linder Mayer M, Kugler R, Heeseemann J, Busch U, Sing A. Detection of toxigenic *Corynebacterium diphtheriae* and *Corynebacterium ulcerans* strains by a novel real-time PCR. *J Clin Microbiol* 2008 ; **46** (8) : 2822-3.
- (75) Kneen R, Pham NG, Solomon T, Tran TM, Nguyen TT, Tran BL, et al. Penicillin vs. erythromycin in the treatment of diphtheria. *Clin Infect Dis* 1998 ; **27** (4) : 845-50.
- (76) Pereira GA, Pimenta FP, Santos FR, Damasco PV, Hirata Júnior R, Mattos-Guaraldi AL. Antimicrobial resistance among Brazilian *Corynebacterium diphtheriae* strains. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2008 ; **103** (5) : 507-10.
- (77) Mina NV, Burdz T, Wiebe D, Rai JS, Rahim T, Shing F, et al. Canada's first case of a multidrug-resistant *Corynebacterium diphtheriae* strain, isolated from a skin abscess. *J Clin Microbiol* 2011 ; **49** (11) : 4003-5.
- (78) Barraud O, Badell E, Denis F, Guiso N, Ploy MC. Antimicrobial drug resistance in *Corynebacterium diphtheriae* mitis. *Emerg Infect Dis* 2011 ; **17** (11) : 2078-80.