

МИКРОБИОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2021

Борисова О.Ю.¹, Гадуа Н.Т.¹, Пименова А.С.¹, Шепелин А.П.², Полосенко О.В.², Требунских И.П.³, Сидорова Н.А.³, Борисова А.Б.¹, Миронов А.Ю.¹, Афанасьев С.С.¹

ВОЗМОЖНОСТИ ПРАКТИЧЕСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ РАЗНЫХ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД ДЛЯ ПЕРВИЧНОГО ПОСЕВА ПРИ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКЕ ДИФТЕРИИ

¹ФБУН «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Роспотребнадзора, 125212, г. Москва, Россия;

²ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, 142279, Московская область, пос. Оболенск, Россия;

³ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в городе Москве» Роспотребнадзора, 129626, г. Москва, Россия

*Цель работы – оценка культуральных и морфологических свойств клинически значимых видов коринебактерий на средах первичного посева при культуральной диагностике дифтерии. Использовано 9 питательных сред для первичного посева исследуемого материала на дифтерию: питательная среда для выделения коринебактерий (Коринебакагар); основы для приготовления кровяных теллуритовых питательных сред – Питательная среда № 1 ГРМ, Питательный агар для культивирования микроорганизмов (ГРМ агар), Питательная среда для определения чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам – среда АГВ, Питательный агар для культивирования микроорганизмов сухой (СПА), среда Клауберга II, Hoyle Medium agar (Oxoid), Blood agar base (Conda), Columbia Agar Base (Conda). Использовано 7 тест-штаммов микроорганизмов из Государственных коллекций патогенных микроорганизмов – *C. diphtheriae* биоваров *gravis*, *mitis*, *intermedius*, *belfanti* и подвида *lausannense*, *C. ulcerans*, *C. pseudotuberculosis*. Исследования проведены в соответствии с МУК 4.2.3065-13 «Лабораторная диагностика дифтерийной инфекции». Описаны культурально-морфологические свойства штаммов на всех испытываемых питательных средах первичного посева через 24 и 48 часов инкубации. Анализ результатов по основным ростовым свойствам питательных сред показал, что все питательные среды обладали высокой чувствительностью – из разведения 10^7 в отношении всех испытываемых штаммов. На питательных средах визуально обнаружены колонии коринебактерий уже через 19-20 часов культивирования. При культивировании взвеси коринебактерий из разведения 10^6 на питательных средах количество колоний составило от 95 ± 5 до 120 ± 10 . Заключение. Все питательные среды обладают дифференциально-диагностическими свойствами, обеспечивающими рост коринебактерий уже через сутки инкубации посевов.*

Ключевые слова: *C. diphtheriae*; бактериологическая диагностика; среды первичного посева; колонии; культурально-морфологические свойства.

Для цитирования: Борисова О.Ю., Гадуа Н.Т., Пименова А.С., Шепелин А.П., Полосенко О.В., Требунских И.П., Сидорова Н.А., Борисова А.Б., Миронов А.Ю., Афанасьев С.С. Возможности практического применения разных питательных сред для первичного посева при лабораторной диагностике дифтерии. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2021; 66 (7): 428-437. DOI: <http://dx.doi.org/10.51620/0869-2084-2021-66-7-428-437>

Borisova O.Yu.¹, Gadua N.T.¹, Pimenova A.S.¹, Shepelin A.P.², Polosenko O.V.², Trebunskich I.P.³, Sidorova N.A.³, Borisova A.B.¹, Mironov A.Yu.¹, Afanasiev S.S.¹

POSSIBILITIES OF PRACTICAL APPLICATION OF DIFFERENT CULTURE MEDIUMS FOR LABORATORY DIAGNOSTIC OF DIPHThERIA

¹G. N. Gabrichevsky Research Institute of Epidemiology and Microbiology, 125212, Moscow, Russian Federation;

²State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, 142279, Moscow region, Obolensk, Russian Federation;

³Center of Hygiene and Epidemiology in Moscow, 129626, Moscow, Russia

*The purpose of the work is to evaluate the cultural and morphological properties of colonies of clinically significant corynebacteria on culture mediums for the isolation of corynebacteria. The study used 9 culture mediums for the isolation of corynebacteria: a culture medium for the isolation of corynebacteria (Corynebacaagar); Tellurite-containing blood agars on base – Culture medium № 1 GRM, Culture agar for the cultivation of microorganisms (GRM agar), Culture medium for determining the sensitivity of microorganisms to antibacterial preparations – AGV, culture agar for the cultivation of dry microorganisms (SPA), Clauberg medium II, Hoyle Medium agar (Oxoid), Blood agar base (Conda), Columbia Agar Base (Conda). The work used 7 test strains of microorganisms from the State collections of pathogenic microorganisms – *C. diphtheriae* biovars *gravis*, *mitis*, *intermedius*, *belfanti* and subspecies *lausannense*, *C. ulcerans* and *C.pseudotuberculosis*. Studies were carried out in accordance with MUK 4.2.3065-13 «Laboratory diagnosis of diphtheria infection». We describe culture-morphological properties of strains on all tested culture mediums the isolation of corynebacteria after 24 and 48 hours of incubation. Analysis of the results on the growth properties of culture mediums showed that all culture mediums had high sensitivity – from dilution 10^7 for all test strains. Colonies of corynebacteria were visually detected on culture mediums after 19-20 hours of cultivation. When cultivating a suspension of corynebacteria from breeding 10^6 on culture mediums, the number of colonies ranged from*

95±5 to 120±10. Conclusion. All culture mediums had differential diagnostic properties that ensure the growth of corynebacteria after the day of incubation.

Key words: *C. diphtheriae*; bacteriological diagnosis; culture mediums for the isolation of corynebacteria; colonies; culture-morphological properties.

For citation: Borisova O.Yu., Gadua N.T., Pimenova A.S., Shepelin A.P., Polosenko O.V., Trebunskich I.P., Sidorova N.A., Borisova A. B., Mironov A.Yu., Afanasiev S.S. Possibilities of practical application of different culture mediums for laboratory diagnostic of diphtheria. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2021; 66 (7): 428-437 (in Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.51620/0869-2084-2021-66-7-428-437>

For correspondence: Borisova O.Yu., doctor of medicine (MD), professor, head of laboratory of diagnostic of diphtheria and pertussis infections; e-mail: olgborisova@mail.ru

Information about authors:

Borisova O.Yu., <https://orcid.org/0000-0001-6316-5046>;
Gadua N.T., <https://orcid.org/0000-0001-6247-6176>;
Pimenova A.S., <https://orcid.org/0000-0002-6914-3531>;
Shepelin A.P., <http://orcid.org/0000-0002-8253-7527>;
Polosenko O.V., <http://orcid.org/0000-0001-5961-9041>;
Borisova A.B., <https://orcid.org/0000-0003-4425-8428>;
Mironov A.Yu., <https://orcid.org/0000-0002-8544-5230>;
Afanasiev S.S., <https://orcid.org/0000-0001-6497-1795>.

Acknowledgment. The work was carried out within the sectoral program of Rosпотребнадзор.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Received 27.04.2021
Accepted 10.05.2021

Введение. Эпидемические вспышки и спорадические случаи заболеваемости дифтерией фиксируются на протяжении многих десятилетий. Дифтерия являлась основной причиной детской смертности до наступления эпохи вакцинации. Масштабное применение вакцины против дифтерии в рамках плановых программ иммунизации помогло элиминировать это инфекционное заболевание в большинстве стран мира.

Внушает беспокойство возвращение дифтерии в страны, где население недостаточно охвачено медико-санитарной помощью [1–3]. Наиболее тяжёлое положение сложилось в Венесуэле, Йемене, Бангладеш (Кокс-Базаре), где интенсивный рост заболеваемости дифтерией начался в 2017 году. На население Венесуэлы пришлось 80% всех зарегистрированных случаев дифтерии в Латинской Америке. Несмотря на проводимую в настоящее время властями Венесуэлы вакцинацию населения, в 2018 г. зарегистрировано 1,2 тыс. случаев заболеваний дифтерией, из них более 80 случаев закончились летальным исходом. На Гаити зафиксировано порядка 250 случаев заболеваний, из которых 3 случая закончились летально. В Колумбии в указанный период зарегистрировано около 10 случаев заболеваний, связанных с вынужденной миграцией населения из стран, где регистрируются случаи заболевания дифтерией [1–3].

По данным Роспотребнадзора в Российской Федерации регистрируются единичные случаи заболеваемости дифтерией [4–8]. В 2017 году заболевших дифтерией лиц не зарегистрировано, в Самарской и Челябинской областях выявлено 2 бактерионосителя; в 2018 г. – зарегистрировано 4 случая заболевания (ХМАО-Югра, Новосибирская область, республика Северная Осетия-Алания) и 3 случая бактерионосительства (ХМАО-Югра), в 2019 г. – зарегистрирова-

но 5 случаев заболевания (ХМАО-Югра) и 2 случая бактерионосительства (ХМАО-Югра), в 2020 г. – 1 случай заболевания (ХМАО-Югра). Несмотря на резкое снижение заболеваемости дифтерией за последние десятилетия, данные генотипирования свидетельствуют о продолжающейся циркуляции возбудителя дифтерии на территории России – выявлены токсигенные штаммы трёх сиквенс-типов – ST25, ST8, ST67, которые входят в различные клональные комплексы и являются широко распространёнными в мире. Штаммы сиквенс-типа ST25 регистрируют на территории России, начиная с 1960-х годов по настоящее время, штаммы ST8 зарегистрированы на территории России только в 1980-е годы, вызвали эпидемический подъём заболеваемости дифтерией в 1990-х годах и до сих пор выделяются на территории нашей страны, штаммы ST67 зарегистрированы, начиная с 2012 г. [9].

Возбудитель дифтерии – *Corynebacterium diphtheriae*, продуцирующий дифтерийный токсин (экзотоксин). Источником инфекции является больной или бактерионоситель токсигенных штаммов *C. diphtheriae*. Основной механизм передачи – аэрозольный, реже контактный; механизмы передачи – воздушно-капельный и контактно-бытовой. Нетоксигенные штаммы *C. diphtheriae* не вызывают дифтерийную инфекцию. Вместе с тем, данные микроорганизмы могут выделяться при фарингите, артрите, эндокардите и других гнойно-воспалительных заболеваниях [10 – 12]. Таксономически близкими к виду *C. diphtheriae* являются *Corynebacterium ulcerans* и *Corynebacterium pseudotuberculosis* – патогены крупного и мелкого рогатого скота, лошадей, домашних животных, способные вырабатывать дифтериеподобный экзотоксин и вызывать заболевания у человека. Известны случаи выделения токсигенных штаммов *C. ulcerans* при

клинической картине заболевания, сходной с дифтерией (дифтериеподобное заболевание), токсигенных штаммов *C. pseudotuberculosis*, вызывающих лимфадениты [13 – 15].

Культуральный метод при лабораторной диагностике дифтерийной инфекции является ведущим [16]. Культуральное исследование проводят с целью лабораторной диагностики дифтерийной инфекции, выявления источников возбудителя инфекции, подтверждения эпидемиологических связей и наблюдения за циркуляцией токсигенных штаммов *C. diphtheriae* в соответствии с СП 3.1.2.3109-13 «Профилактика дифтерии» и МУК 4.2.3065-13 «Лабораторная диагностика дифтерийной инфекции».

Умение выделять коринеформные микроорганизмы (*Corynebacterium* spp.) служит критерием оценки качества работы бактериологических лабораторий, особенно в период снижения и спорадической заболеваемости дифтерией.

Использование высококачественных питательных сред составляет залог успеха микробиологических исследований, в том числе и при проведении исследований на дифтерию. Современная микробиология без питательных сред существовать не может, их качество во многом определяет информативность и точность микробиологического исследования. Выбор или разработка новых питательных сред для культивирования микроорганизмов основываются на точном знании биологического свойства каждого конкретного вида микроорганизма. Целью культурального исследования является выделение и идентификация возбудителя с применением минимального количества диагностических тестов, необходимых, достаточных и специфичных для получения достоверного ответа в максимально сжатые сроки.

Для выделения коринебактерий из исследуемого материала в практике здравоохранения используются селективные дифференциально-диагностические кровяные теллуриновые среды лабораторного приготовления – кровяной теллуриновый агар, среда Клауберга II. В качестве основы этих питательных сред используют различные агаровые основы, в которые *ex tempore* добавляют кровь для стимуляции роста культур коринебактерий, теллурит калия для подавления роста сопутствующей микрофлоры. Коринебакагар (КБА) широко используется в практике российских бактериологических лабораторий, поскольку он не требует внесения крови, так как в составе среды содержится стимулятор роста гемофильных микроорганизмов (СРГМ). Оригинальная технология приготовления препарата позволяет сохранить биологические свойства крови [17].

Цель работы – оценка культуральных и морфологических свойств клинически значимых видов коринебактерий на средах первичного посева при культуральной диагностике дифтерийной инфекции.

Материал и методы. Изучено 9 питательных сред, используемых на территории РФ для первичного посева исследуемого материала при исследовании на дифтерию: питательная среда для выделения коринебактерий (Коринебакагар) (ФСР 2007/00003);

кровяные теллуриновые питательные среды, где в качестве основ для их приготовления применены: Питательная среда для количественного определения микробной загрязнённости «Питательная среда № 1 ГРМ» (ФСР 2011/11415), Питательный агар для культивирования микроорганизмов (ГРМ-агар) (ФСР 2007/00001), Питательная среда для определения чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам – среда АГВ (ФСР 2012/13687), Питательный агар для культивирования микроорганизмов сухой (СПА) (ФСР 2008/02386), Среда Клауберга II, Hoyle Medium agar (Oxoid, Великобритания), Основа кровяного агара (Conda, Испания), Columbia Agar Base (Conda, Испания). В кровяные теллуриновые среды добавлена кровь крупного рогатого скота («Лейтран», Москва) и 2% теллурит калия (МиниМед РУ № ФСР 2009/05371). Все использованные в исследовании питательные среды приготовлены в соответствии с инструкциями производителей и МУК 4.2.3065-13 «Лабораторная диагностика дифтерийной инфекции».

Использованы 7 тест-штаммов микроорганизмов из Государственных коллекций патогенных микроорганизмов «ГКПМ-Оболенск» и ФГБУ «НЦЭСМП» МЗ РФ – *C. diphtheriae* биовар *gravis* № 665, *C. diphtheriae* биовар *mitis* № В-8628, *C. diphtheriae* биовар *belfanti* № В-8635, *C. diphtheriae* подвид *lausannense* № В-8755, *C. diphtheriae* биовар *intermedius* № 090093 (7227), *C. ulcerans* № 675, *C. pseudotuberculosis* № В-8640. Все тест-штаммы микроорганизмов типичны по своим культуральным, морфологическим, тинкториальным, биохимическим свойствам.

В соответствии с МУК 4.2.3065-13 «Лабораторная диагностика дифтерийной инфекции» суточные культуры штаммов, выращенные на 10% сывороточном агаре, смывали изотоническим раствором натрия хлорида. Готовили исходную взвесь каждой культуры (пробирка № 0): мутность полученной суспензии соответствовала 10 ед. оптического стандарта мутности (ОСО 42-28-85 П), что условно соответствует 1 млрд бактериальных клеток в 1 мл взвеси. Из исходных взвесей культур (пробирки № 0) готовили серийные разведения в изотоническом растворе натрия хлорида (табл. 1).

Из двух последних разведений (пробирки № 6 и № 7) по 0,1 мл суспензии культур бактерий вносили в две чашки с испытуемыми средами первичного посева, досуха втирали круговыми движениями при помощи шпателя. Посевы помещали в термостат, инкубировали 24-48 ч при температуре $+37\pm 1^\circ\text{C}$. Культуральные свойства выросших колоний оценивали с помощью стереоскопического микроскопа SteREO Discovery V12 (Carl Zeiss, Германия) (объектив PlanApo S 1,0× FWD 60 мм; окуляр PI 10x23 Br foc) и фотографировали.

Результаты. Описаны культуральные и морфологические свойства 7 штаммов: *C. diphtheriae* биовар *gravis*, *C. diphtheriae* биовар *mitis*, *C. diphtheriae* биовар *belfanti*, *C. diphtheriae* биовар *intermedius*, *C. diphtheriae* подвид *lausannense*, *C. ulcerans*, *C. pseudotuberculosis*, выросших на 9 плотных питательных

Приготовление разведений культур

№ пробирки	Количество физ. раствора, мл	Объём вносимой суспензии, мл	Условное количество микробных клеток в 1 мл взвеси
1	1,0	1,0 из исходной взвеси	5×10^8
2	4,5	0,5 из 1-й пробирки	5×10^7
3	4,5	0,5 из 2-й пробирки	5×10^6
4	4,5	0,5 из 3-й пробирки	5×10^5
5	4,5	0,5 из 4-й пробирки	5×10^4
6	4,5	0,5 из 5-й пробирки	5×10^3
7	2,0	0,5 из 6-й пробирки	10^3

средах первичного посева: кровяных теллуритовых средах, приготовленных на основе – ГРМ агара, Питательной среды № 1 ГРМ, среды Клауберга II, сухого питательного агара (СПА), Blood agar base,

Columbia Agar Base, Hoyle Medium agar, среды АГВ; и на Коринебакагаре. Культуральные и морфологические свойства описывали через 24 и 48 часов инкубации (табл. 2).

Культуральные свойства клинически значимых коринебактерий на плотных питательных средах первичного посева при просмотре в стереоскопическом микроскопе

Микроорганизмы	Время инкубации посевов	
	24 часа	48 часов
КТА на основе ГРМ агара		
<i>C. diphtheriae</i> биовар <i>gravis</i>	Колонии имеют серо-чёрную окраску, округлые, непрозрачные, приподнятые, начинают формироваться выпуклость центра колонии, лёгкая изрезанность края, маслянистые, слегка шероховатые, диаметром 1,5-2 мм	Колонии имеют серо-чёрную окраску с металлическим оттенком («цвет мокрого асфальта»), округлые, непрозрачные, матовые, приподнятые с выпуклым центром, слегка шероховатые, диаметром 2-3 мм, имеют радиальную исчерченность (форма «маргаритки») или выраженную краевую изрезанность, часто крошатся при прикосновении
<i>C. diphtheriae</i> биовар <i>mitis</i> и биовар <i>belfanti</i> , подвида <i>lausannense</i>	Колонии имеют серо-чёрную окраску, округлые, непрозрачные, приподнятые, иногда могут быть плоскими, мягкой, маслянистой консистенции, с ровным краем, слегка шероховатые, диаметром 1-1,5 мм	Колонии имеют серо-чёрную окраску («цвет мокрого асфальта»), округлые, непрозрачные, матовые, приподнятые, но могут остаться плоскими, слегка шероховатые, мягкой, маслянистой консистенции или могут крошиться при прикосновении, с ровным краем, диаметром 1,5-2 мм
<i>C. diphtheriae</i> биовар <i>intermedius</i>	Колонии имеют серо-чёрную окраску, мелкие, плоские, мягкой, маслянистой консистенции, диаметром 0,3-0,5 мм	Колонии имеют серо-чёрную окраску, мелкие, плоские, гладкие, с ровным краем, мягкой, маслянистой консистенции, диаметром 0,5-1,0 мм
<i>C. ulcerans</i>	Колонии имеют тёмно-серую окраску, округлые, непрозрачные, приподнятые, с ровным краем, маслянистые, диаметром 0,3-0,5 мм	Колонии имеют серо-чёрную или чёрную окраску с металлическим оттенком («цвет мокрого асфальта»), округлые, непрозрачные, матовые, выпуклые или приподнятые с выпуклым центром, мягкой, маслянистой консистенции, может быть лёгкая изрезанность края, диаметром 1-2 мм
<i>C. pseudotuberculosis</i>	Колонии имеют серую окраску, округлые, непрозрачные, приподнятые, с ровным краем, маслянистые, диаметром 0,3-0,5 мм	Колонии имеют серо-чёрную окраску, округлые, непрозрачные, приподнятые, с ровным краем, маслянистые, диаметром 0,8-1,0 мм

Продолжение табл. 2 см. на стр. 432.

Микроорганизмы	Время инкубации посевов	
	24 часа	48 часов
КТА на основе Питательной среды № 1 ГРМ		
<i>C. diphtheriae</i> биовар <i>gravis</i>	Колонии имеют тёмно-серую окраску, округлые, непрозрачные, приподнятые, начинает формироваться выпуклость центра колонии, лёгкая изрезанность края, маслянистые, слегка шероховатые, слегка крошатся при прикосновении, диаметром 1,5-2 мм	Колонии имеют серо-чёрную окраску с металлическим оттенком («цвет мокрого асфальта»), округлые, непрозрачные, матовые, приподнятые с выпуклым центром, слегка шероховатые, диаметром 2-3 мм, имеют радиальную исчерченность (форма «маргаритки») или выраженную краевую изрезанность, часто крошатся при прикосновении
<i>C. diphtheriae</i> биовар <i>mitis</i> и биовар <i>belfanti</i> , подвид <i>lausannense</i>	Колонии имеют тёмно-серую окраску, округлые, непрозрачные, приподнятые, иногда могут быть плоскими, мягкой, маслянистой консистенции, с ровным краем, слегка шероховатые, диаметром 1-1,5 мм	Колонии имеют серо-чёрную окраску («цвет мокрого асфальта»), округлые, непрозрачные, матовые, приподнятые, но могут остаться плоскими, слегка шероховатые, мягкой, маслянистой консистенции или могут крошиться при прикосновении, с ровным краем, диаметром 1,5-2 мм
<i>C. diphtheriae</i> биовар <i>intermedius</i>	Колонии имеют тёмно-серую окраску, мелкие, плоские, мягкой, маслянистой консистенции, диаметром 0,3-0,5 мм	Колонии имеют серо-чёрную окраску, мелкие, плоские, гладкие, с ровным краем, мягкой, маслянистой консистенции, диаметром 0,5-1,0 мм
<i>C. ulcerans</i>	Колонии имеют тёмно-серую окраску, округлые, непрозрачные, приподнятые, слегка выпуклые, с ровным краем, маслянистые, диаметром 0,5-0,7 мм	Колонии имеют серо-чёрную или чёрную окраску с металлическим оттенком («цвет мокрого асфальта»), округлые, непрозрачные, матовые, выпуклые или приподнятые с выпуклым центром, мягкой, маслянистой консистенции, с ровным краем, диаметром 1-2 мм
<i>C.pseudotuberculosis</i>	Колонии имеют серую окраску, округлые, непрозрачные, с ровным краем, маслянистые, диаметром 0,5-0,7 мм	Колонии имеют серо-чёрную окраску, округлые, непрозрачные, приподнятые, с ровным краем, маслянистые, диаметром 0,8-1,0 мм
КТА на основе СПА		
<i>C. diphtheriae</i> биовар <i>gravis</i>	Колонии имеют тёмно-серую окраску, округлые, непрозрачные, приподнятые, начинает формироваться выпуклость центра колонии, лёгкая изрезанность края, маслянистые, слегка шероховатые, слегка крошатся при прикосновении, диаметром 1,5-2 мм	Колонии имеют серо-чёрную окраску с металлическим оттенком («цвет мокрого асфальта»), округлые, непрозрачные, матовые, приподнятые с выпуклым центром, шероховатые, диаметром 2-4 мм, имеют радиальную исчерченность (форма «маргаритки») или выраженную краевую изрезанность, часто крошатся при прикосновении
<i>C. diphtheriae</i> биовар <i>mitis</i> и биовар <i>belfanti</i> , подвид <i>lausannense</i>	Колонии имеют тёмно-серую окраску, округлые, непрозрачные, приподнятые, маслянистой консистенции, с ровным краем, слегка шероховатые, диаметром 1-1,5 мм	Колонии имеют серо-чёрную окраску («цвет мокрого асфальта»), округлые, непрозрачные, матовые, приподнятые, но могут остаться плоскими, слегка шероховатые, мягкой, маслянистой консистенции или могут крошиться при прикосновении, с ровным краем, диаметром 2-3 мм
<i>C. diphtheriae</i> биовар <i>intermedius</i>	Колонии имеют тёмно-серую окраску, мелкие, плоские, мягкой консистенции, диаметром 0,3-0,5 мм	Колонии имеют серо-чёрную окраску, мелкие, плоские, гладкие, с ровным краем, мягкой, маслянистой консистенции, диаметром 0,8-1,0 мм
<i>C. ulcerans</i>	Колонии имеют серо-чёрную окраску, округлые, непрозрачные, приподнятые, слегка выпуклые, с ровным краем, блестящие, маслянистые, диаметром 0,5-0,8 мм	Колонии имеют серо-чёрную или чёрную окраску с металлическим оттенком («цвет мокрого асфальта»), округлые, непрозрачные, матовые, выпуклые или приподнятые с выпуклым центром, мягкой, маслянистой консистенции, с ровным краем, диаметром 1-2 мм
<i>C.pseudotuberculosis</i>	Колонии имеют тёмно-серую окраску, округлые, непрозрачные, с ровным краем, маслянистые, диаметром 0,5-0,8 мм	Колонии имеют серо-чёрную окраску, округлые, непрозрачные, приподнятые, с ровным краем, маслянистые, диаметром 0,8-1,0 мм

Продолжение табл. 2 см. на стр. 433.

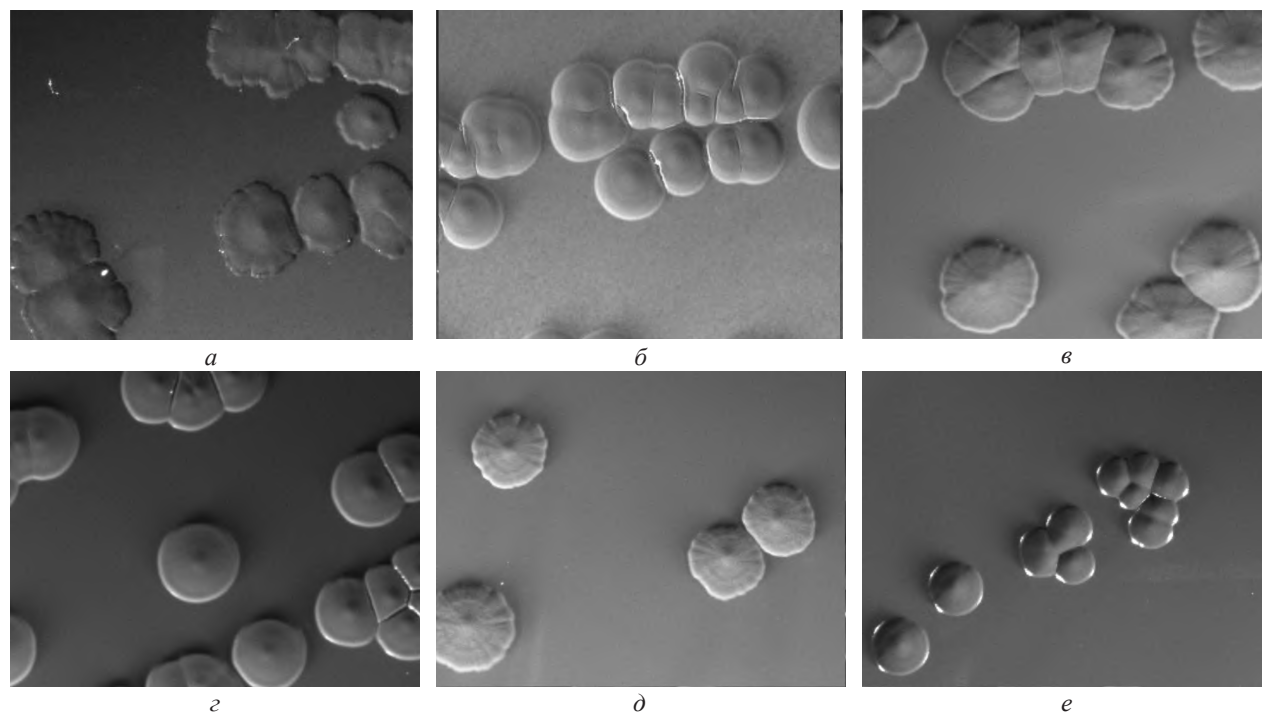
Микроорганизмы	Время инкубации посевов	
	24 часа	48 часов
		Среда Клауберга II
<i>C. diphtheriae</i> биовар <i>gravis</i>	Колонии имеют тёмно-серую окраску, округлые, непрозрачные с блестящей поверхностью, слегка приподнятые, начинает формироваться выпуклость центра колонии, лёгкая изрезанность края, иногда может просматриваться светлая периферия, маслянистые, иногда крошатся при прикосновении или имеют «водянистую» консистенцию, чаще мелкие, диаметром до 0,5-1 мм	Колонии имеют серо-чёрную или черную окраску округлые, непрозрачные, матовые, приподнятые с выпуклым центром, шероховатые, иногда наблюдаются «гигантские» плоские колонии, диаметр колоний увеличивается в 2-3 раза и через 48 ч может достигать до 2-4 мм, имеют радиальную исчерченность (форма «маргаритки») или выраженную краевую изрезанность, может просматриваться тонкая светлая периферия, крошатся при прикосновении, часто расположены группами по несколько сливающихся колоний в виде «гусеницы»
<i>C. diphtheriae</i> биовар <i>mitis</i> и биовар <i>belfanti</i> , подвид <i>lausannense</i>	Колонии имеют тёмно-серую окраску, округлые, непрозрачные, приподнятые, маслянистой консистенции, с ровным краем, слегка шероховатые, диаметром 1-1,5 мм	Колонии имеют серо-чёрную окраску («цвет мокрого асфальта»), округлые, непрозрачные, матовые, приподнятые, но могут остаться плоскими, слегка шероховатые, мягкой, маслянистой консистенции или могут крошиться при прикосновении, с ровным краем, диаметром 2-3 мм
<i>C. diphtheriae</i> биовар <i>intermedius</i>	Колонии имеют тёмно-серую окраску, мелкие, плоские, мягкой консистенции, диаметром 0,3-0,5 мм	Колонии имеют серо-чёрную окраску, мелкие, плоские, гладкие, с ровным краем, мягкой, маслянистой консистенции, диаметром 0,8-1,0 мм
<i>C. ulcerans</i>	Колонии имеют серо-чёрную окраску, округлые, непрозрачные, приподнятые, слегка выпуклые, с ровным краем, блестящие, маслянистые, иногда может просматриваться светлая периферия, диаметром 0,4-0,5 мм	Колонии имеют серо-чёрную окраску или чёрную окраску, с металлическим оттенком («цвет мокрого асфальта»), округлые, непрозрачные, матовые, выпуклые или приподнятые с выпуклым центром, мягкой, маслянистой консистенции, с ровным краем, иногда может просматриваться светлая периферия, диаметром 1-2 мм
<i>C.pseudotuberculosis</i>	Колонии имеют серо-чёрную окраску, округлые, непрозрачные, с ровным краем, блестящие, диаметром 0,5-0,8 мм	Колонии имеют серо-чёрную окраску, округлые, непрозрачные, приподнятые, с ровным краем, шероховатые, могут крошиться при прикосновении, диаметром 0,8-1,0 мм
		Коринебакагар (КБА)
<i>C. diphtheriae</i> биовар <i>gravis</i>	Колонии имеют тёмно-серую окраску, округлые, непрозрачные, несколько уплощены со слегка неровными краями, слегка шероховатые, диаметром не менее 0,6 мм	Колонии имеют тёмно-серую окраску, округлые, непрозрачные, шероховатые, со складчатой поверхностью и неровными (изрезанными) краями (форма «маргаритки»), диаметром 2-3,5 мм
<i>C. diphtheriae</i> биовар <i>mitis</i> и биовар <i>belfanti</i> , подвид <i>lausannense</i>	Колонии имеют тёмно-серую окраску, округлые, непрозрачные, выпуклые, блестящие, с ровным краем, диаметром не менее 0,5 мм	Колонии имеют тёмно-серую окраску, округлые, непрозрачные, гладкие, блестящие, с ровным краем, диаметром 1,5-3 мм
<i>C. diphtheriae</i> биовар <i>intermedius</i>	Колонии имеют тёмно-серую окраску, мелкие, плоские, диаметром 0,5 мм	Колонии имеют серо-чёрную окраску, мелкие, плоские, гладкие, с ровным краем, мягкой, маслянистой консистенции, диаметром 0,5-1,0 мм
<i>C. ulcerans</i>	Колонии имеют тёмно-серую окраску, округлые, непрозрачные, выпуклые, с ровным краем, с серебристым ободком по краю, блестящие, диаметром не менее 0,5 мм	Колонии имеют серо-чёрную окраску с металлическим оттенком («цвет мокрого асфальта»), округлые, непрозрачные, выпуклые, блестящие, с ровным краем, диаметром 0,5-1,5 мм
<i>C.pseudotuberculosis</i>	Колонии имеют серую окраску, округлые, непрозрачные, с ровным краем, диаметром не менее 0,5 мм	Колонии имеют серо-чёрную окраску, округлые, непрозрачные, выпуклые, с ровным краем, шероховатые, диаметром 0,7-1,0 мм

Продолжение табл. 2 см. на стр. 434.

Микроорганизмы	Время инкубации посевов	
	24 часа	48 часов
КТА на основе Hoyle Medium agar (Oxoid)		
<i>C. diphtheriae</i> биовар <i>gravis</i>	Колонии имеют серо-чёрную окраску, округлые, непрозрачные, приподнятые, слегка шероховатые, имеют легкую изрезанность края, маслянистой консистенции, могут крошиться при прикосновении, диаметром 0,8-1 мм	Колонии имеют серо-чёрную окраску с металлическим оттенком («цвет мокрого асфальта»), округлые, непрозрачные, матовые, приподнятые с выпуклым центром, шероховатые, диаметром 2-4 мм, имеют радиальную исчерченность (форма «маргаритки») или выраженную краевую изрезанность, часто крошатся при прикосновении
<i>C. diphtheriae</i> биовар <i>mitis</i> и биовар <i>belfanti</i> , подвид <i>lausannense</i>	Колонии имеют тёмно-серую окраску, округлые, непрозрачные, слегка выпуклые, слегка шероховатые, с ровным краем, маслянистой консистенции, диаметром 0,7-1 мм	Колонии имеют серо-чёрную окраску с металлическим оттенком («цвет мокрого асфальта»), округлые, непрозрачные, матовые, приподнятые с выпуклым центром, шероховатые, диаметром 2-3 мм, с ровными краями, часто крошатся при прикосновении
<i>C. diphtheriae</i> биовар <i>intermedius</i>	Колонии имеют серую окраску, мелкие, округлые, полупрозрачные, блестящие, диаметром 0,5-0,8 мм	Колонии имеют серо-чёрную окраску, округлые, непрозрачные, выпуклые, шероховатые, с ровным краем, маслянистой консистенции, диаметром 0,8-1,2 мм
<i>C. ulcerans</i>	Колонии имеют тёмно-серую окраску, округлые, непрозрачные, выпуклые, с ровным краем, блестящие, маслянистой консистенции, диаметром 0,3-0,5 мм	Колонии имеют серо-чёрную окраску, округлые, непрозрачные, выпуклые, слегка шероховатые, с неровной поверхностью, с ровным краем, диаметром 1,0-1,5 мм
<i>C.pseudotuberculosis</i>	Колонии имеют серую окраску, округлые, приподнятые, непрозрачные, с ровным краем, слегка шероховатые, диаметром 0,3-0,5 мм	Колонии имеют серо-чёрную окраску, округлые, непрозрачные, выпуклые, с ровным краем, шероховатые, могут крошиться при прикосновении, диаметром 0,8-1,2 мм
КТА на основе Columbia agar base (Conda)		
<i>C. diphtheriae</i> биовар <i>gravis</i>	Колонии имеют тёмно-серую окраску, округлые, непрозрачные, приподнятые, слегка шероховатые, имеют лёгкую изрезанность края, могут крошиться при прикосновении, диаметром 1-1,5 мм	Колонии имеют серо-чёрную окраску с металлическим оттенком («цвет мокрого асфальта»), округлые, непрозрачные, приподнятые с выпуклым центром, шероховатые, диаметром 2-2,5 мм, имеют радиальную исчерченность (форма «маргаритки»), часто крошатся при прикосновении
<i>C. diphtheriae</i> биовар <i>mitis</i> и биовар <i>belfanti</i> , подвид <i>lausannense</i>	Колонии имеют тёмно-серую окраску, округлые, непрозрачные, приподнятые, слегка шероховатые, с ровным краем, маслянистой консистенции, диаметром 0,7-1 мм	Колонии имеют серо-чёрную окраску с металлическим оттенком («цвет мокрого асфальта»), округлые, непрозрачные, приподнятые с выпуклым центром, шероховатые, с ровными краями, диаметром 1,5-2 мм, часто крошатся при прикосновении
<i>C. diphtheriae</i> биовар <i>intermedius</i>	Колонии имеют тёмно-серую окраску, округлые, слегка приподнятые, блестящие, маслянистой консистенции, диаметром 0,3-0,5 мм	Колонии имеют серо-чёрную окраску, округлые, непрозрачные, выпуклые, шероховатые, с ровным краем, маслянистой консистенции, диаметром 0,8-1,0 мм
<i>C. ulcerans</i>	Колонии имеют серо-чёрную окраску, округлые, непрозрачные, слегка выпуклые, с ровным краем, блестящие, маслянистой консистенции, диаметром 0,5-0,8 мм	Колонии имеют серо-чёрную окраску, округлые, непрозрачные, выпуклые, блестящие, но могут быть слегка шероховатыми, с неровной поверхностью, ровными краями, маслянистой консистенции, диаметром 1,0-1,5 мм
<i>C.pseudotuberculosis</i>	Колонии имеют серую окраску, округлые, слегка приподнятые, полупрозрачные, с ровным краем, блестящие, диаметром 0,5-0,7 мм	Колонии имеют серо-чёрную окраску, округлые, непрозрачные, выпуклые, с ровным краем, блестящие, но могут быть слегка шероховатыми, могут крошиться при прикосновении, диаметром 1,0-1,2 мм

Продолжение табл. 2 см. на стр. 435.

Микроорганизмы	Время инкубации посевов	
	24 часа	48 часов
КТА на основе Blood agar base (Conda)		
<i>C. diphtheriae</i> биовар <i>gravis</i>	Колонии имеют тёмно-серую окраску, округлые, непрозрачные, приподнятые, слегка шероховатые, имеют легкую изрезанность края, маслянистой консистенции, могут крошиться при прикосновении, диаметром 0,8-1,0 мм	Колонии имеют серо-чёрную окраску с металлическим оттенком («цвет мокрого асфальта»), округлые, непрозрачные, приподнятые с выпуклым центром, шероховатые, с легкой изрезанностью края, могут иметь лёгкую радиальную исчерченность, диаметром 1,8-2 мм, часто крошатся при прикосновении
<i>C. diphtheriae</i> биовар <i>mitis</i> и биовар <i>belfanti</i> , подвид <i>lausannense</i>	Колонии имеют тёмно-серую окраску, округлые, непрозрачные, приподнятые, слегка шероховатые, с ровным краем, маслянистой консистенции, диаметром 0,7-0,8 мм	Колонии имеют серо-чёрную окраску с металлическим оттенком («цвет мокрого асфальта»), округлые, непрозрачные, приподнятые с выпуклым центром, шероховатые, с легкой изрезанностью края, диаметром 1,8-2,1 мм, часто крошатся при прикосновении
<i>C. diphtheriae</i> биовар <i>intermedius</i>	Колонии имеют тёмно-серую окраску, округлые, слегка приподнятые, блестящие, маслянистой консистенции, диаметром 0,3-0,5 мм	Колонии имеют серо-чёрную окраску, округлые, непрозрачные, приподнятые, слегка шероховатые, с ровным краем, маслянистой консистенции, диаметром 0,8-1,0 мм
<i>C. ulcerans</i>	Колонии имеют тёмно-серую окраску, округлые, непрозрачные, слегка выпуклые, с ровным краем, блестящие, маслянистой консистенции, диаметром 0,5-0,8 мм	Колонии имеют серо-чёрную окраску, округлые, непрозрачные, выпуклые, слегка шероховатыми, с неровной поверхностью, маслянистой консистенции, диаметром 1,0-1,3 мм
<i>C.pseudotuberculosis</i>	Колонии имеют серую окраску, округлые, слегка приподнятые, непрозрачные, с ровным краем, блестящие, диаметром 0,3-0,5 мм	Колонии имеют серо-чёрную окраску, округлые, непрозрачные, выпуклые, с легкой краевой изрезанностью, слегка шероховатые, диаметром 1,2-1,7 мм
КТА на основе среды АГВ		
<i>C. diphtheriae</i> биовар <i>gravis</i>	Колонии имеют тёмно-серую окраску, округлые, непрозрачные, приподнятые, слегка шероховатые, имеют лёгкую изрезанность края, маслянистой консистенции, могут крошиться при прикосновении, диаметром 1,0-1,2 мм	Колонии имеют серо-чёрную окраску с металлическим оттенком («цвет мокрого асфальта»), округлые, непрозрачные, приподнятые, шероховатые, с изрезанным краем, могут иметь лёгкую радиальную исчерченность, диаметром 1,7-1,8 мм, часто крошатся при прикосновении
<i>C. diphtheriae</i> биовар <i>mitis</i> и биовар <i>belfanti</i> , подвид <i>lausannense</i>	Колонии имеют тёмно-серую окраску, округлые, непрозрачные, выпуклые, слегка шероховатые, с ровным краем, маслянистой консистенции, слегка крошится при прикосновении, диаметром 0,8-0,9 мм	Колонии имеют серо-чёрную окраску с металлическим оттенком («цвет мокрого асфальта»), округлые, непрозрачные, приподнятые, шероховатые, с ровным краем, диаметром 1,7-1,8 мм, часто крошатся при прикосновении
<i>C. diphtheriae</i> биовар <i>intermedius</i>	Колонии имеют тёмно-серую окраску, округлые, блестящие, маслянистой консистенции, диаметром 0,5-0,7 мм	Колонии имеют серо-чёрную окраску, округлые, непрозрачные, приподнятые, слегка шероховатые, с ровным краем, маслянистой консистенции, диаметром 0,8-1,0 мм
<i>C. ulcerans</i>	Колонии имеют серо-чёрную окраску, округлые, непрозрачные, выпуклые, с ровным краем, блестящие, маслянистой консистенции, диаметром 0,5-0,8 мм	Колонии имеют серо-чёрную окраску, округлые, непрозрачные, выпуклые, слегка шероховатыми, с ровным краем, маслянистой консистенции, диаметром 1,1-1,2 мм
<i>C.pseudotuberculosis</i>	Колонии имеют тёмно-серую окраску, округлые, выпуклые, непрозрачные, с ровным краем, блестящие, маслянистой консистенции, диаметром 0,5-0,7 мм	Колонии имеют серо-чёрную окраску, округлые, непрозрачные, выпуклые, с ровным краем, шероховатые, диаметром 0,8-1,0 мм
<i>C.pseudotuberculosis</i>	Колонии имеют тёмно-серую окраску, округлые, выпуклые, непрозрачные, с ровным краем, блестящие, маслянистой консистенции, диаметром 0,5-0,7 мм	Колонии имеют серо-чёрную окраску, округлые, непрозрачные, выпуклые, с ровным краем, шероховатые, диаметром 0,8-1,0 мм



Характер роста штаммов *C. diphtheriae* на питательных средах.

a – рост колоний *C. diphtheriae* биовар *gravis* № 665 на Коринебакагаре, *б* – рост колоний *C. diphtheriae* биовар *mitis* B-8628 на Коринебакагаре, *в* – рост колоний *C. diphtheriae* биовар *gravis* № 665 на КТА на основе Hoyle Medium agar, *г* – рост колоний *C. diphtheriae* биовар *mitis* B-8628 на основе Hoyle Medium agar, *д* – рост колоний *C. diphtheriae* биовар *gravis* № 665 на основе Columbia Agar Base, *е* – рост колоний *C. diphtheriae* биовар биовар *mitis* B-8628 на основе Columbia Agar Base.

Обсуждение. Цель культурального исследования на дифтерию – выделение и идентификация чистой культуры *C. diphtheriae* с применением минимального количества диагностических тестов, необходимых, достаточных и специфичных для получения достоверного ответа в максимально сжатые сроки: не менее 3 сут – отрицательный ответ, 3-4 сут – ответ о выделении токсигенных штаммов *C. diphtheriae*, 4-5 сут – ответ о выделении нетоксигенных штаммов *C. diphtheriae* или других представителей рода *Corynebacterium*. Несвоевременное выявление носителей токсигенных штаммов *C. diphtheriae* культуральным методом может привести к «скрытому» распространению *C. diphtheriae* и формированию новых очагов дифтерийной инфекции. Чтобы добиться максимальной высеваемости *C. diphtheriae* из исследуемого материала и роста колоний, видимых невооруженным глазом через 24 ч, необходимо создать оптимальные условия для роста, размножения этих бактерий, сохранения их биологических свойств, для ингибирования роста сопутствующей микрофлоры. Учитывая большое разнообразие питательных основ, представлена характеристика культурально-морфологических свойств штаммов *C. diphtheriae* разных биоваров и клинически значимых коринебактерий на средах первичного посева – Коринебакагаре и кровяных теллуритовых средах на различных питательных основах, которые используются на территории России. Анализ результатов по основным ростовым свойствам питательных сред, полученных при прове-

дении лабораторных исследований на тест-штаммах коринебактерий, свидетельствует о том, что все питательные среды обладают высокой чувствительностью – из разведения 10^{-7} (пробирка № 7) в отношении всех испытуемых штаммов. На питательных средах визуально обнаружен рост колоний коринебактерий уже через 19-20 часов культивирования. При культивировании взвеси бактерий из разведения 10^{-6} (пробирка № 6) на питательных средах количество колоний составило от 95 ± 5 до 120 ± 10 . Все питательные среды обладают дифференциально-диагностическими свойствами, обеспечивающими рост коринебактерий уже через сутки инкубации посевов, что сокращает сроки выдачи окончательного ответа.

На ряде питательных сред: Коринебакагаре (см. рисунки, *a*, *б*), кровяных теллуритовых средах на основе – СПА, Hoyle Medium agar (Oxoid) (см. рисунок *в*, *г*), Columbia Agar Base (Conda) (см. рисунок, *д*, *е*) – морфология колоний *C. diphtheriae* двух биоваров более выражена: колонии биовара *gravis* – шероховатые, со складчатой поверхностью и неровными (изрезанными) краями – тип «маргаритки» (рис. *a*, *в*, *д*), колонии штаммов биовара *mitis* – гладкие с ровными краями (рис. *б*, *г*, *е*).

Заключение. Все исследованные питательные среды – Коринебакагар и кровяные теллуритовые среды на различных питательных основах – обладают хорошими дифференциально-диагностическими свойствами, обеспечивающими рост *C. diphtheriae* и клинически значимых видов коринебактерий уже через сутки инкубации посевов, и могут быть использованы

в качестве сред для первичного посева патологического материала. При равном качестве характеристик исследованных питательных сред, Коринебакагар выгодно отличается простотой приготовления, исключающей необходимость внесения крови в питательную среду.

Финансирование. Работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА (пп. 1-3, 10-15 см. REFERENCES)

4. О заболеваемости дифтерией, мониторинге за возбудителем и состоянием антитоксического противодифтерийного иммунитета населения России. Информационное письмо № 01/13216-17-27 от 29.09.2017 г. Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. Available at: <https://www.rosпотребнадзор.ru/> (дата обращения: 18.03.2021).
5. О заболеваемости дифтерией, мониторинге за возбудителем и состоянием антитоксического противодифтерийного иммунитета населения России. Информационное письмо № 01/16590-2018-27 от 19.12.2018 г. Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. Available at: <https://www.rosпотребнадзор.ru/> (дата обращения: 18.03.2021).
6. О заболеваемости дифтерией и состоянии антитоксического противодифтерийного иммунитета населения России. Информационное письмо № 02/14390-2019-27 от 10.10.2019 г. Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. Available at: <https://www.rosпотребнадзор.ru/> (дата обращения: 18.03.2021).
7. О заболеваемости дифтерией и состоянии антитоксического противодифтерийного иммунитета населения России. Информационное письмо № 02/24680-2020-27 от 02.12.2020 г. Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. Available at: <https://www.rosпотребнадзор.ru/> (дата обращения: 18.03.2021).
8. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия в Российской Федерации в 2019 году: Государственный доклад. Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2020. Available at: https://www.rosпотребнадзор.ru/documents/details.php?ELEMENT_ID=14933 (дата обращения: 15.04.2021).
9. Борисова О.Ю., Гадуа Н.Т., Пименова А.С., Чаплин А.В., Чагина И.А., Урбан Ю.Н. и др. Характеристика токсигенных штаммов *Corynebacterium diphtheriae*, выделенных на территории России. *Инфекция и иммунитет*. 2020. <https://doi.org/10.15789/2220-7619-2019-0>.
10. Шепелин А.П., Полосенко О.В., Борисова О.Ю., Пименова А.С., Гадуа Н.Т. Сравнительная характеристика питательных сред для выделения коринебактерий. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2016;1: 59-64.
11. Шепелин А.П. Отечественная питательная среда – Коринебакагар для выделения возбудителя дифтерии. *Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье»*. 2012; 4: 108-10.

REFERENCES

1. World Health Organization. Who vaccine-preventable diseases: Monitoring system 2020 global summary. Available at: https://apps.who.int/immunization_monitoring/globalsummary (accessed: 18.03.2021).
2. Centers for Disease Control and Prevention. Diphtheria [Электронный ресурс] // Manual for the surveillance of vaccine-preventable diseases. – Atlanta: Centers for Disease Control and Prevention. – Chap. 1. Available at: <https://www.cdc.gov/vaccines/pubs/surv-manual/chpt01-dip.pdf> (accessed: 18.03.2021).
3. Centers for Disease Control and Prevention. Diphtheria [Электронный ресурс] // Yellow Book 2020: health information

- for international travel. – New York: Oxford University Press, 2020. – Chap. 4. Available at: <https://wwwnc.cdc.gov/travel/yellowbook/2020/travel-related-infectious-diseases/diphtheria> (accessed: 18.03.2021).
4. On the incidence of diphtheria, monitoring the causative agent and the state of antitoxic antidiphtheria immunity of the Russian population. Information letter № 01/13216-17-27 from 29.09.2017 Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing. Available at: <https://www.rosпотребнадзор.ru/> (accessed: 18.03.2021). (in Russian)
5. On the incidence of diphtheria, monitoring the causative agent and the state of antitoxic antidiphtheria immunity of the Russian population. Information letter № 01/16590-2018-27 from 19.12.2018 Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing. Available at: <https://www.rosпотребнадзор.ru/> (accessed: 18.03.2021). (in Russian)
6. On the incidence of diphtheria and the state of antitoxic antidiphtheria immunity of the Russian population. Information letter № 02/14390-2019-27 from 10.10.2019 Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing. Available at: <https://www.rosпотребнадзор.ru/> (accessed: 18.03.2021). (in Russian)
7. On the incidence of diphtheria and the state of antitoxic antidiphtheria immunity of the Russian population. Information letter № 02/24680-2020-27 from 02.12.2020 Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing. Available at: <https://www.rosпотребнадзор.ru/> (accessed: 18.03.2021). (in Russian)
8. On the state of sanitary and epidemiological well-being in the Russian Federation in 2019: State Report. Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, 2020. Available at: https://www.rosпотребнадзор.ru/documents/details.php?ELEMENT_ID=14933 (accessed: 15.04.2021). (in Russian)
9. Borisova O. Yu., Gadua N. T., Pimenova A. S., Shepelin A. P., Chaplin A. V., Chagina I. A., Urban Yu. N. Characterization of toxigenic *Corynebacterium diphtheriae* strains isolated in Russia. *Infektsiya i immunitet*. 2020. <https://doi.org/10.15789/2220-7619-2019-0>. (in Russian)
10. Zasada A. A., Rzczkowska M. Nontoxigenic *Corynebacterium diphtheriae* infections, Europe. *Emerging Infectious Diseases*. 2019; 25(7): 1437-8.
11. Czajka U., Wiatrzyk A., Mosiej E., Forminska K., Zasada A.A. Changes in MLST profiles and biotypes of *Corynebacterium diphtheriae* isolates from the diphtheria outbreak period to the period of invasive infections caused by nontoxigenic strains in Poland (1950-2016). *BMC Infectious Diseases*. 2018; 18(1): 121.
12. Dangel A., Berger A., Konrad R., Bischoff H., Sing A. Geographically Diverse Clusters of Nontoxigenic *Corynebacterium diphtheriae* Infection, Germany, 2016-2017. *Emerging Infectious Diseases*. 2018; 24(7): 1239-45.
13. Hacker E., Antunes C.A., Mattos-Guaraldi A.L., Burkovski A., Tauch A. *Corynebacterium ulcerans*, an emerging human pathogen. *Future Microbiology*. 2016; 11: 1191-1208.
14. Moore L.S.P., Leslie A., Meltzer M., Sandison A., Efstratiou A., Sriskandan S. *Corynebacterium ulcerans* cutaneous diphtheria. *The Lancet Infectious Diseases*. 2015; 15(9): 1100-7.
15. De Oliveira Dias A.A.D.S., Santos L.S., Sabbadini P.S., Santos C.S., Silva Junior F.C., Napoleao F. et al. *Corynebacterium ulcerans* diphtheria: an emerging zoonosis in Brazil and worldwide. *Revista de Saude Publica*. 2011; 45(6): 1176-91.
16. Shepelin A.P., Polosenko O.V., Borisova O.Yu., Pimenova A.S., Gadua N.T. The comparative characteristic of growth mediums for separation of *Corynebacteria*. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2016; 1: 59-64. (in Russian)
17. Shepelin A.P. National nutrient environment – Corynebacterial to highlight the causative agent of diphtheria *Kurskiy nauchno-prakticheskiy vestnik «Chelovek i ego zdorov'e»*. 2012; 4:108-10. (in Russian)

Поступила 25.04.21

Принята к печати 10.05.21