

ОРГАНИЗАЦИЯ ЛАБОРАТОРНОЙ СЛУЖБЫ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2024

Борисова О.Ю.¹, Пименова А.С.¹, Чагина И.А.¹, Гадуа Н.Т.¹, Андриевская И.Ю.¹, Миронов А.Ю.^{1,4},
Полосенко О.В.², Храмов М.В.², Требунских И.П.³, Сидорова Н.А.³

ОБЗОР НОВЫХ МЕТОДИЧЕСКИХ УКАЗАНИЙ ПО ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКЕ ДИФТЕРИЙНОЙ ИНФЕКЦИИ

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, п. Оболенск, Россия;

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

⁴Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий ФМБА, 115682, г. Москва, Россия

Проанализирован обзор изменений, которые введены в новом нормативном методическом документе МУК 4.2.3852-23 «Лабораторная диагностика дифтерийной инфекции». Представлен новый алгоритм лабораторной диагностики дифтерийной инфекции с учётом использования бактериологического метода, ПЦР-диагностики, серологических методов при обследовании с диагностической, профилактической целью и по эпидпоказаниям. Описан новый алгоритм бактериологического исследования с оценкой токсигенных свойств, постановкой тестов на цистиновую активность (проба Пизу), нитратредуктазную, уреазную, сахаролитическую активности с сывороточного агара. Проанализированы изменения по каждому разделу нового методического документа.

Ключевые слова: *Corynebacterium diphtheriae*; бактериологическая диагностика; ПЦР-диагностика; дифтерия; алгоритм

Для цитирования: Борисова О.Ю., Пименова А.С., Чагина И.А., Гадуа Н.Т., Андриевская И.Ю., Миронов А.Ю., Полосенко О.В., Храмов М.В., Требунских И.П., Сидорова Н.А. Обзор новых методических указаний по лабораторной диагностике дифтерийной инфекции. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2024; 69 (4): 169-173.

DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2024-69-4-169-173>

Для корреспонденции: Борисова Ольга Юрьевна, д-р мед. наук, проф., рук. лаборатории диагностики дифтерийной и коклюшной инфекций; e-mail: olgborisova@mail.ru

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование выполнено в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

Поступила 27.02.2024

Принята к печати 29.02.2024

Опубликовано 26.03.2024

*Borisova O.Yu.¹, Pimenova A.S.¹, Chagina I.A.¹, Gadua N.T.¹, Andrievskaya I.Yu.¹, Mironov A.Yu.^{1,4},
Polosenko O.V.², Khramov M.V.², Trebunsky I.P.³, Sidorova N.A.³*

REVIEW OF NEW GUIDELINES FOR LABORATORY DIAGNOSTICS OF DIPHTHERIA

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

²FBIS State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology Rospotrebnadzor, 142279, Moscow Region, Obolensk, Russia;

³FBUZ Center for Hygiene and Epidemiology in Moscow Rospotrebnadzor, 129626, Moscow, Russia;

⁴Federal Research and Clinical Center of Specialized Medical Care and Medical Technologies FMBA of Russia, Moscow, Russian Federation

A review of the changes introduced in the new regulatory methodological document MUK 4.2.3852-23 "Laboratory Diagnosis of Diphtheria Infection" was analyzed. A new algorithm for laboratory diagnostics of diphtheria infection was presented. New algorithm for laboratory diagnostics of diphtheria infection includes use of bacteriological method, PCR diagnostics and serological methods for examination with diagnostic, preventive purposes and epidemiological indications. A new algorithm of bacteriological examination with assessment of toxigenic properties, setting tests for cystinase activity (Pizu probe), nitrate reductase, urease and sucrose activity from serum agar is described. The changes for each section of the new methodological document were analyzed.

Key words: *Corynebacterium diphtheriae*; bacteriological diagnostics; PCR diagnostics; diphtheria infection; algorithm

For citation: Borisova O.Yu., Pimenova A.S., Chagina I.A., Gadua N.T., Andrievskaya I.Yu., Mironov A. Yu., Polosenko O.V., Khramov M.V., Trebunsky I.P., Sidorova N.A. Review of new guidelines for laboratory diagnosis of diphtheria. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2024; 69 (4): 169-173 (in Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2024-69-4-169-173>

For correspondence: Borisova Olga Yurievna, Dr. Sci. Med., Professor, Head of laboratory for the diagnosis of diphtheria and pertussis infections G. N. Gabrichevsky Research Institute of Epidemiology and Microbiology; e-mail: olgborisova@mail.ru

Information about authors:

Borisova O.Yu., <https://orcid.org/0000-0001-6316-5046>;
Pimenova A.S., <https://orcid.org/0000-0002-6914-3531>;
Chagina I.A., <https://orcid.org/0000-0003-2867-9548>;
Gadua N.T., <https://orcid.org/0000-0001-6247-6176>;
Andrievskaya I.Yu., <https://orcid.org/0000-0003-2997-942X>;
Mironov A.Yu., <https://orcid.org/0000-0002-8544-5230>;
Polosenko O.V., <http://orcid.org/0000-0001-5961-9041>;
Khramov M.V., <https://orcid.org/0000-0002-4553-3826>;
Trebunsky I.P. <http://orcid.org/0009-0005-5581-6191>;
Sidorova N.A., <http://orcid.org/0009-0000-9868-7805>.

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

Acknowledgment. *The work was performed within the framework of the sectoral program of Rosпотребнадзор.*

Received 27.02.2024

Accepted 29.02.2024

Published 26.03.2024

Введение. Становление системы лабораторной диагностики дифтерийной инфекции в России имеет длительную историю и осуществлялось несколькими поколениями бактериологов нашей страны. Первая инструкция по бактериологическому исследованию на дифтерию опубликована в 1951 году, в которой лабораторное исследование проводили путём посева биологического материала с тампона на свёрнутую сыворотку лошади, быка или человека, последующей микроскопией и идентификацией на средах Гисса с глюкозой, мальтозой, галактозой, сахарозой при добавлении в питательные среды 10% нормальной лошадиной сыворотки. Вирулентность возбудителя оценивали на морских свинках путём внутрикожного введения материала и выявления некроза в месте укола [1].

Следующая инструкция опубликована в 1959 году, согласно которой производили посев на свёрнутую сыворотку и теллуритовую агаровую среду, далее проводили микроскопию подозрительных колоний. Подозрительные колонии отсеивали для постановки пробы на токсигенность, которую впервые ввели в качестве теста *in vitro* и осуществляли с использованием бумажных полосок, пропитанных антитоксической противодифтерийной сывороткой «Диаферм-3», и посевом культур «линиями», перпендикулярно к полоске. Также колонии отсеивали на свёрнутую сыворотку для получения чистой культуры и на среды Гисса с глюкозой и сахарозой. В качестве дополнительных тестов впервые введено определение цистиной (проба Пизу) и уреазной активности [2].

Актуализация алгоритма бактериологического исследования проведена в 1967 году в инструкции № 690-67. Согласно данной инструкции подозрительные колонии, выросшие на средах первичного посева, рекомендовалось пересевать на три питательные среды: для определения токсигенности, не прожигая петли в столбик среды для определения цистиной и на поверхность сы-

вороточного агара или свёрнутой сыворотки; при отсутствии среды для определения цистиной, отсеивать из колоний следовало производить на среды Гисса с сахарозой и глюкозой. Определение токсигенных свойств также проводили с использованием бумажных полосок, но посев культуры осуществляли уже только «бляшками» диаметром 1 см. В этой инструкции определение цистиной активности в пробе Пизу стало использоваться в качестве дифференцирующего теста для подозрительных колоний. Для улучшения ростовых свойств и выявления дифференцирующих признаков рекомендовалось использование Мартеновского агара [3].

Далее небольшие изменения произведены в приказе Минздрава № 580 от 1974 г., которые касались применения Мартеновского агара для постановки пробы на токсигенность и пробы Пизу, а также использования контрольного штамма в пробе на токсигенность [4].

В Методических рекомендациях 1980 г. при проведении бактериологического исследования на дифтерию предложено с чашек первичного посева с подозрительных колоний ставить пробу на токсигенность и не прожигая петли производить посев на среду Пизу, вторую половину колонии отсеивать на сывороточный агар. В документе также рекомендовалась использование Мартеновского агара с добавлением сыворотки для постановки пробы на токсигенность и пробы Пизу [5].

Наиболее подробная инструкция по бактериологической диагностике дифтерии представлена в приказе Минздрава СССР от 02.04.1986 г. № 450, где сохраняется ранее описанный алгоритм проведения исследования, а также перечень питательных сред для постановки пробы на токсигенность и использование бумажных полосок [6].

В МУК 4.2.698-98 [7] и МУК 4.2.3065-13 «Лабораторная диагностика дифтерийной инфекции» [8] сохраняется алгоритм, предложенный в раннем доку-

менте [6]. В данных документах расширяется перечень питательных сред для первичного посева и постановки биохимических тестов за счёт использования коммерческих питательных сред. Для постановки пробы на токсигенность предлагалось два метода – с использованием бумажных полосок, пропитанных дифтерийным антитоксином, и индикаторных бумажных дисков с дифтерийным антитоксином, предложенных Ю.Г.Фельдманом [9].

Вместе с тем, в последние десятилетия отмечается резкий рост промышленного производства коммерческих питательных сред, наборов реагентов и тест-систем, используемых в бактериологических исследованиях, что делает необходимым и совершенствование методологических подходов и в бактериологической диагностике дифтерии. Интенсивное развитие ПЦР-технологий и оснащение лабораторий страны оборудованием для молекулярно-генетических исследований также послужило основанием для внедрения этих технологий в лабораторную диагностику дифтерийной инфекции с целью расширения возможностей обследования пациентов с диагностической, профилактической целью и по эпидпоказаниям.

Цель исследования – анализ изменений, вошедших в методические указания МУК 4.2.3852-23 «Лабораторная диагностика дифтерийной инфекции».

Материал и методы. В исследовании проведён анализ изменений, введённых в новые методические указания МУК 4.2.3852-23 «Лабораторная диагностика дифтерийной инфекции».

Результаты и обсуждение. Новые методические указания 4.2.3852-23 «Лабораторная диагностика дифтерийной инфекции», разработанные большим коллективом специалистов Роспотребнадзора, утверждён Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации Поповой А.Ю. и введён в действие взамен МУ 4.2.3065-13 «Лабораторная диагностика дифтерийной инфекции».

В разделе II «Сущность метода» представлен новый алгоритм лабораторной диагностики дифтерийной инфекции с использованием бактериологического и молекулярно-генетического методов диагностики с учётом проведения исследований с диагностической и профилактической целями, а также по эпидпоказаниям. Основным методом лабораторной диагностики дифтерийной инфекции с диагностической целью остается бактериологический метод. Впервые в алгоритм диагностики введён молекулярно-генетический метод (ПЦР-диагностика). Так, для лабораторной диагностики дифтерии с диагностической целью регламентируется параллельное использование бактериологического метода и ПЦР-диагностики; при проведении исследований с профилактической целью и по эпидпоказаниям – бактериологическое исследование и (или) ПЦР-исследование. Осуществление ПЦР-исследования регламентируется в течение 24 часов с момента взятия биологического материала. Учитывая новый алгоритм лабораторной диагностики, определён порядок взаимодействия учреждений, проводящих исследования на дифтерийную инфекцию, с Референс-центром по мониторингу за коклюшем и дифтерией Роспотребнадзора при получении положительных результатов бактериоло-

гического и ПЦР-исследования. В рамках лабораторной диагностики дифтерии впервые определены возможности применения масс-спектрометрических технологий (MALDI-ToF масс-спектрометрии) и автоматических бактериологических анализаторов, которые могут быть использованы для видовой идентификации коринебактерий. Также впервые представлено обоснование ограничений при использовании лошадиной сыворотки при постановке пробы на токсигенность и возможностях определения цистиназной активности в пробе Лизу.

В разделе III представлена микробиологическая характеристика возбудителя дифтерийной инфекции и клинически значимых коринебактерий с учётом современных знаний. Впервые представлены культурально-морфологические свойства этих микроорганизмов на кровяных теллуритовых средах первичного посева с разными агаровыми основами – среда Клауберга II, Коринебакагар, сухой питательный агар (ГРМ-агар, питательная среда № 1 ГРМ), сухой питательный агар (СПА), Основа кровяного агара (*англ.* Blood agar base), Колумбийский агар (*англ.* Columbia agar base), агар Хойла (*англ.* Hoyle Medium Agar), среда для определения чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам (далее – среда АГВ). Охарактеризован рост коринебактерий на жидких питательных средах – ГРМ-бульон, сердечно-мозговой бульон, на сывороточном и кровяных агарах. Впервые представлена информация о биохимических свойствах клинически значимых коринебактерий с подразделением на основные тесты, которые необходимо проводить при бактериологической диагностике дифтерии, и дополнительные тесты, осуществляемые при дифференциации коринебактерий на уровне Референс-центра.

В разделе IV «Показания к обследованию» уточнена информация о спектре показаний к обследованию на дифтерийную инфекцию в соответствии с Международной классификацией болезней и СанПин 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней» раздел XXXVIII «Профилактика дифтерии».

В разделе V «Организационно-методическая работа» представлены новые расширенные формы направления на проведение исследования и ответа по его результатам; периодичность инструктажа по взятию и транспортированию биологического материала в соответствии с СанПин 3.3686-21. Впервые определены требования к квалификации специалистов и видам проводимых ими исследований. Уточнён порядок взаимодействия учреждений с Референс-центром Роспотребнадзора по мониторингу за коклюшем и дифтерией по вопросам верификации биологических образцов.

Впервые введены разделы VI «Требования безопасности» и VII «Условия проведения исследований».

В разделе VIII «Бактериологическая диагностика» представлен модернизированный алгоритм проведения исследования, продолжительность которого составляет 3-5 дней. Расширен раздел по взятию и транспортированию биологического материала для бактериологического исследования на дифтерию. Уточнено использование сухих тампонов для взятия биологического материала с учётом материала тампона. Определены условия использования жидких транспортных сред и жидких транспортных систем, а также условий их хранения и транспортировки. Согласно новому алгорит-

му, в первый день производится посев биологического материала на питательные среды первичного посева. Определены методология приготовления чашек со средами первичного посева, техника посева биологического материала и условия инкубирования. Также представлены условия высева биологического материала из жидких транспортных сред. Во второй день исследования просматривают чашки с помощью микроскопа бинокулярного стереоскопического и производят отбор подозрительных колоний для дальнейшей идентификации культуры по всем тестам. В случае роста подозрительных по культуральным свойствам колоний, похожих на колонии коринебактерий, сразу приступают к оценке их токсигенных свойств, которые изучают не менее чем у 2-х изолированных колоний путём посева одной половины каждой колонии на среду для определения токсигенности, а другой половины колонии – в пробирку со скошенным сывороточным агаром для сохранения и накопления чистой культуры. В третий день исследования при появлении специфических линий преципитации в пробе на токсигенность, изучаемую культуру идентифицируют как коринебактерии токсигенные и выдают предварительный ответ о выделении токсигенной культуры. При отсутствии специфических линий преципитации на среде для определения токсигенности чашки инкубируют ещё 24 часа. Культуру, выросшую на скошенном сывороточном агаре, засевают на среды для определения фермента цистиназы (среда Пизу), ферментов уреазы и нитратредуктазы, биохимического варианта (ферментация глюкозы, сахарозы, крахмала). Со скошенного сывороточного агара наличие фермента цистиназы на среде Пизу можно идентифицировать уже через 6 часов после посева по появлению облачка по ходу укола в среду. При отсутствии колоний, подозрительных на коринебактерии дифтерии, выдают окончательный ответ, что коринебактерии дифтерии не выявлены. На четвёртый день при появлении специфических линий преципитации в пробе на токсигенность выдают документированный ответ о выделении токсигенных коринебактерий дифтерии и производят учёт биохимических тестов. Также на четвёртый-пятый день проводят исследования, аналогичные проводимым на третий-четвертый день при появлении подозрительных колоний на средах первичного посева через 48 часов роста. Следовательно, в новом алгоритме бактериологической диагностики дифтерии определение токсигенных свойств остается основным тестом для выявления возбудителя дифтерии, однако тест на определение цистиназной активности (проба Пизу), и постановка других биохимических тестов (оценка уреазной, нитратредуктазной и сахаролитической активностей) осуществляется с сывороточного агара. Расширен раздел, регламентирующий определение токсигенных свойств у возбудителя дифтерии, которое производится с использованием двух методик - модифицированного теста Элека с бумажными полосками и теста Ю.Г. Фельдмана и соавторов [9] с бумажными дисками. Для каждой из используемых методик определены условия и процедура приготовления чашек для постановки пробы на токсигенность (с условиями и сроками хранения), методология постановки пробы, впервые представлены демонстрационные схемы и фотографии учёта полученных результатов (с вариантами

оценки результатов). Впервые представлен перечень условий получения неудовлетворительных результатов постановки пробы на токсигенность.

Раздел, определяющий постановку биохимических тестов, расширен и структурирован по однотипному плану, в котором отражается принцип постановки каждого теста, варианты постановки тестов, учёт результатов, контроль качества и используемые контрольные штаммы, а также интерпретация полученных результатов. Впервые введён дополнительный обратный САМР-тест для идентификации *C. pseudotuberculosis*.

Проведены уточнения в разделе «Питательные среды и реактивы». Так, в новом документе регламентировано использование коммерческой среды Пизу. В разделе приготовления реактивов для определения уреазной активности по методу Заксе добавлены условия стерилизации реактива В и сроки хранения реактивов А и В. В рецепте приготовления бульона с мочевиной уточнены условия стерилизации и сроки хранения. При приготовлении нитратного бульона прописаны сроки хранения и прописан рецепт приготовления реактива Гисса. Модернизирован рецепт приготовления сред Гисса, а также прописаны сроки их хранения. Усовершенствован рецепт приготовления реактива Андреде. В рецепт приготовления растворов красителей для окраски по Граму добавлены сроки и условия хранения; внесены уточнения в рецепты приготовления карболового раствора фуксина Циля и окраски по Нейссеру.

В новом документе модернизирован раздел «Контрольные штаммы», где расширен перечень контрольных штаммов для постановки необходимых тестов. Так, для проведения бактериологической диагностики дифтерии в лаборатории необходим следующий обязательный набор контрольных штаммов - токсигенный штамм *C. diphtheriae* биовара *gravis* № 665, токсигенный штамм *C. diphtheriae* биовара *mitis* № 6765, токсигенный штамм *C. ulcerans* № 7819 или штамм *C. pseudodiphtheriticum* «Соколов», штамм *S. aureus* ATCC 25923. Остальные штаммы используются для проведения дополнительных тестов и не являются обязательными. Все контрольные штаммы приобретаются в специализированных государственных коллекциях патогенных микроорганизмов. Значительно расширен раздел хранения контрольных штаммов в лабораторных условиях с рецептами их приготовления. Впервые введён раздел восстановления штаммов в зависимости от вида и формы хранения культуры.

В новом нормативном документе пересмотрен раздел внутрилабораторного контроля качества, проведение которого необходимо для поддержания высокого качества и эффективности проведения лабораторной диагностики дифтерийной инфекции. Внутрилабораторный контроль качества включает: правильное поддержание (ведение) контрольных штаммов; проведение контроля качества всех питательных сред, реагентов, наборов реагентов, используемых для: приготовления питательных сред первичного посева (входящий контроль – каждая новая серия питательной среды, каждая новая партия реагентов); периодический контроль); приготовления среды для постановки пробы на токсигенность (входящий контроль – каждая новая серия питательной среды, каждая новая партия реагентов); периодический контроль); сред, наборов реагентов и тест-систем для проведения биохимической идентификации,

как приготовленных в лабораторных условиях, так и коммерческих (входящий контроль – каждая новая серия питательной среды, каждая новая партия реагентов, наборов реагентов, тест-систем; периодический контроль); контроль постановки пробы на токсигенность (каждая постановка); контроль проведения биохимических тестов – постановка положительных и отрицательных контролей при проведении биохимической идентификации (каждая постановка); контроль качества жидких транспортных сред (каждая новая серия / приготовленная партия). Представлен перечень условий и сроки, при которых проводится дополнительный внутрилабораторный контроль качества. Описано целевое использование каждого контрольного штамма в лаборатории.

Раздел «Контроль качества питательных сред для первичного посева» соответствует документу МУК 4.2.3065-13 [8]. Вместе с тем, добавлены критерии и сроки, по которым проводится оценка качества питательной среды, - всхожесть клеток *C. diphtheriae* и размер колоний (24 часа), интенсивность роста колоний (48 часов), размер и культурально-морфологические свойства (48 часов), ингибирующая активность в отношении сопутствующей микрофлоры (24 и 48 часов). Впервые введены разделы контроля качества среды для определения токсигенности и сред для определения биохимических свойств (каждого используемого теста). В разделе приводятся номера используемых для этих целей контрольных штаммов, условия получения и интерпретация положительных результатов, а также возможные причины получения отрицательного результата.

Впервые в систему лабораторной диагностики дифтерийной инфекции введена ПЦР-диагностика (раздел X). В документе впервые представлены правила, условия взятия и транспортирования биологического материала, порядок проведения пробоподготовки и ПЦР-исследования. Также сформулированы варианты выдачи заключений по результатам исследования. Обращено внимание специалистов на необходимость соблюдения требований по организации ПЦР-лаборатории, правилам работы персонала с оборудованием и реактивами и требованиями, указанным в инструкции и методических рекомендациях производителей конкретного набора реагентов для предотвращения появления недостоверных, в т. ч. ложноположительных, ПЦР-результатов. Определён порядок проведения внутрилабораторного контроля качества ПЦР-исследования, что является необходимой составляющей осуществления таких исследований с целью предупреждения загрязнения лаборатории продуктами амплификации.

При диагностике дифтерийной инфекции серологические методы по-прежнему остаются как дополнительные методы для оценки напряжённости иммунитета. В качестве серологических методов предлагаются - реакция пассивной гемагглютинации (РПГА), также как и в предыдущем документе [8], и в впервые рекомендуется использование иммуноферментного анализа (ИФА) (раздел XI). В данном разделе расширены условия взятия и транспортирования биологического материала. Уточнено, что обследование пациента проводится в динамике и первый забор крови осуществляется не позднее 5 дней от начала заболевания и строго до начала введения противодифтерийной сыворотки; повторно кровь берут не ранее, чем через 14 дней от

первого забора. Представлены принципы постановки ИФА и РПГА для выявления специфических противодифтерийных анитоксических антител класса IgG, интерпретация полученных результатов, а также определён порядок осуществления внутрилабораторного контроля качества серологических исследований.

Заключение. Впервые в методических указаниях 4.2.3852-23 «Лабораторная диагностика дифтерийной инфекции» введён новый алгоритм проведения лабораторной диагностики дифтерийной инфекции, включающий проведение бактериологического, серологического и ПЦР-исследований с учётом обследования с диагностической, профилактической целями и по эпидпоказаниям.

ЛИТЕРАТУРА

1. Инструкция по бактериологическому исследованию на дифтерию от 05.03.1951 г. Минздрав СССР; 1951; 6 стр.
2. Инструкция по бактериологическому исследованию на дифтерию от 19.09.1959 г. № 303-59. Минздрав СССР; 1959; 19 стр.
3. Инструкция по бактериологическому исследованию на дифтерию от 02.09.1967 г. № 690-67. Минздрав СССР; 1967; 31 стр.
4. Инструкция по бактериологическому исследованию на дифтерию (Приложение 4 к Приказу Минздрава СССР № 580 от 26.06.1974 г.). М.: Минздрав СССР; 1974.
5. Бактериологические исследования при дифтерийной инфекции (методические рекомендации) от 10.04.1980 г. Минздрав РСФСР; 1980.
6. Инструкция по бактериологической и серологической индикации возбудителя дифтерии и его токсина (Приложение 5 к Приказу Минздрава СССР № 450 от 02.04.1986 г.). М.: Минздрав СССР; 1986.
7. Методические указания «Лабораторная диагностика дифтерийной инфекции» от 09.01.1998 г. МУК 4.2.698-98. Минздрав России. М.: «Интерсэ»; 1998. ISBN 5-89834-02-3.
8. Методические указания «Лабораторная диагностика дифтерийной инфекции» от 14.07.2013 г. МУК 4.2.3065-13. Роспотребнадзор; 2013. ISBN 978-5-7508-1195-3.
9. Методические рекомендации по применению модифицированной среды Пизу и индикаторных бумажных дисков для идентификации, биохимического типирования и определения токсигенности дифтерийных микробов № 28-6/31. Минздрав СССР; 1989.

REFERENCES

1. Instruction on bacteriological research for diphtheria from 05.03.1951, USSR Ministry of Health; 1951. (in Russian)
2. Instruction for Bacteriological Diphtheria № 303-59 dated 19.09.1959. USSR Ministry of Health; 1959. (in Russian)
3. Instruction for Bacteriological Diphtheria № 690-67 dated 02.09.1967. USSR Ministry of Health; 1967. (in Russian)
4. Instruction on bacteriological testing for diphtheria (Appendix 4 to Order No. 580 of the Ministry of Health of the USSR of 26.06.1974). USSR Ministry of Health; 1974. (in Russian)
5. Bacteriological studies in case of diphtheria infection (methodological recommendations) from 10.04.1980. Ministry of Health of the RSFSR; 1980. (in Russian)
6. Instruction on Bacteriological and Serological Indication of the Agent of Diphtheria and its Toxin (Appendix 5 to Order № 450 of the Ministry of Health of the USSR of 02.04.1986). Minzdrav USSR; 1986. (in Russian)
7. Methodological Guidelines "Laboratory Diagnostics of Diphtheria Infection" dated 09.01.1998, MUK 4.2.698-98. Ministry of Health of Russia. Moscow: "Intersen"; 1998. ISBN 5-89834-02-3. (in Russian)
8. Methodological Guidelines "Laboratory Diagnostics of Diphtheria Infection" dated 14.07.2013, MUK 4.2.3065-13. Rospotrebnadzor; 2013. ISBN 978-5-7508-1195-3. (in Russian)
9. Methodological Recommendations for the Use of Modified Pizu Medium and Indicator Paper Discs for Identification, Biochemical Typing and Determination of Toxicity of Diphtheria Microbes № 28-6/31. USSR Ministry of Health; 1989. (in Russian)