

МИКРОБИОЛОГИЯ



<https://elibrary.ru/rokqgh>

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2025

Борисова О.Ю.^{1,3}, Чагина И.А.¹, Гадуа Н.Т.¹, Пименова А.С.¹, Андриевская И.Ю.¹,
Миронов А.Ю.^{1,4}, Полосенко О.В.², Подопригра И.В.³, Сидорова Н.А.⁵

СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ СРЕДЫ ГИССА С КРАХМАЛОМ И ИНДИКАТОРА АНДРЕДЕ ДЛЯ БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ НА ДИФТЕРИЙНУЮ ИНФЕКЦИЮ

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. Оболensk, Россия;

³ФГАОУ ВО Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы, 117198, г. Москва, Россия;

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

⁵ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в городе Москве» Роспотребнадзора, 129626, г. Москва, Россия

Дифтерия продолжает оставаться актуальным заболеванием даже в странах с многолетней массовой вакцинопрофилактикой. Наибольшее опасение вызывает ситуация в Африканском регионе, где с начала 2023 года продолжается рост случаев заболеваний и смерти от дифтерии. В Российской Федерации случаев заболевания дифтерией и бактерионосительства в 2023 году не зарегистрировано. Сохраняется риск завозных случаев дифтерии на территорию нашей страны. С целью сохранения благополучной ситуации по дифтерии необходимо поддерживать качественный уровень бактериологической диагностики с проведением всех регламентированных нормативными документами тестов, включая определение токсигенности и биовара возбудителя.

Цель: модификация рецепта приготовления индикатора Андрее и дифференциально-диагностической среды Гисса с крахмалом для определения биовара *Corynebacterium diphtheriae*.

Материал и методы. Использованы контрольные токсигенные штаммы *C. diphtheriae* биовара *gravis* № 665, токсигенный штамм *C. diphtheriae* биовара *mitis* № 6765, токсигенные штаммы *C. ulcerans* №№ 675 и 7819, *C. pseudodiphtheriticum* «Соколов», штамм *Staphylococcus aureus* 25923, дикие токсигенные штаммы *C. diphtheriae* и *C. ulcerans*. Культивирование штаммов проводили согласно МУ 4.2.3065-13 и 4.2.3852-23 «Лабораторная диагностика дифтерийной инфекции».

Результаты и обсуждение. Проведены исследования по разработке модернизированного рецепта приготовления индикатора Андрее для определения ферментации крахмала при идентификации биовара возбудителя дифтерийной инфекции. Представлены результаты сравнительных исследований с индикатором Андрее, приготовленным по ранее предложенному рецепту и модернизированному варианту с использованием химического реактива – крахмал четырёх отечественных производителей. Определены сроки хранения готовой среды Гисса с индикатором Андрее в лаборатории.

Заключение. Модернизированный рецепт индикатора Андрее и приготовления среды Гисса с крахмалом позволит повысить эффективность и исключить ошибки при идентификации биовара у *C. diphtheriae*.

Ключевые слова: *Corynebacterium diphtheriae*; бактериологическая диагностика; сахаролитическая активность; крахмал; среда Гисса; индикатор Андрее

Для цитирования: Борисова О.Ю., Чагина И.А., Гадуа Н.Т., Пименова А.С., Андриевская И.Ю., Миронов А.Ю., Полосенко О.В., Подопригра И.В., Сидорова Н.А. Совершенствование среды Гисса с крахмалом и индикатора Андрее для бактериологического исследования на дифтерийную инфекцию. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2025; 70(3): 190-195.
DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2025-70-3-190-195>
EDN: ROKQGH

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 25.11.2024
Принята к печати 30.01.2025
Опубликовано 25.02.2025

Borisova O.Yu.^{1,3}, Chagina I.A.¹, Gadua N.T.¹, Pimenova A.S.¹, Andrievskaya I.Yu.¹, Mironov A.Yu.^{1,4}, Polosenko O.V.², Podoprigora I.V.³, Sidorova N.A.⁵

IMPROVEMENT OF GISSA MEDIUM WITH STARCH AND ANDREDE INDICATOR FOR BACTERIOLOGICAL EXAMINATION FOR DIPHTHERIA INFECTION

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

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

Russia;

³Peoples' Friendship University of Russia (RUDN University), Russia, 117198, Moscow, Russia;

⁴Federal Research and Clinical Center of Specialized Medical Care and Medical Technologies FMBA of Russia, 115682, Moscow, Russia;

⁵FBUZ Center for Hygiene and Epidemiology in Moscow Rospotrebnadzor, 129626, Moscow, Russia

Diphtheria continues to be relevant diseases even in countries with many years of mass vaccine prevention. The greatest concern is the situation in the African region, where the increase in cases and deaths from diphtheria has continued since the beginning of 2023. In the Russian Federation, no cases of diphtheria and bacterial carriers were registered in 2023. In this regard, the risk of imported cases of diphtheria to the territory of our country remains. Therefore, in order to maintain a favorable situation for diphtheria, it is necessary to maintain a qualitative level of bacteriological diagnostics with all tests by regulatory documents, including the determination of toxigenicity and biovar of the pathogen.

Purpose. Modification of the recipe for the preparation of the Andrede indicator and Gissa medium with starch to determine the biovar *C. diphtheriae*.

Material and methods. Control toxigenic strains of *C. diphtheriae* biovar *gravis* № 665, toxigenic strain of *C. diphtheriae* biovar *mitis* № 6765, toxigenic strains of *C. ulcerans* № 675 and 7819, *C. pseudodiphtheriticum* Sokolov, strain *Staphylococcus aureus* were used 25923, as well as wild toxigenic strains of *C. diphtheriae* and *C. ulcerans*. The strains were cultured in accordance with MU 4.2.3065-13 and 4.2.3852-23 «Laboratory Diagnostics of Diphtheria Infection».

Results and discussion. Studies were carried out to develop a modernized recipe for preparing the Andrede indicator for determining starch fermentation in the identification of biovar of the causative agent of diphtheria infection. The results of comparative studies with the Andrede indicator prepared according to the previously proposed recipe and an upgraded version using a chemical reagent - starch from four manufacturers are presented. The shelf life of the finished Gissa medium with the Andrede indicator in the laboratory was determined.

Conclusion. The modernized recipe for the Andrede indicator and the preparation of Gissa medium with starch will increase the efficiency and eliminate errors in the identification of biovar in *C. diphtheriae*.

Key words: *Corynebacterium diphtheriae*; bacteriological diagnostics; saccharolytic activity; starch; Gissa medium; Andrede indicator

For citation: Borisova O.Yu., Chagina I.A., Gadua N.T., Pimenova A.S., Andrievskaya I.Yu., Mironov A.Yu., Polosenko O.V., Podoprigora I.V., Sidorova N.A. Improvement of Gissa medium with starch and Andrede indicator for bacteriological examination for diphtheria infection. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2025; 70 (3): 190-195 (in Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2025-70-3-190-195>

EDN: ROKQGH

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>;

Chagina I.A., <https://orcid.org/0000-0003-2867-9548>;

Gadua N.T., <https://orcid.org/0000-0001-6247-6176>;

Pimenova A.S., <https://orcid.org/0000-0002-6914-3531>;

Andrievskaya I.Yu., <https://orcid.org/0000-0003-2997-942X>;

Mironov A.Yu., <https://orcid.org/0000-0002-8544-5230>;

Polosenko O.V., <https://orcid.org/0000-0001-5961-9041>;

Podoprigora I.V., <https://orcid.org/0000-0003-4099-2967>;

Sidorova N.A., <https://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 Rospotrebnadzor.

Received 25.11.2024

Accepted 30.01.2025

Published 25.02.2025

Введение. Дифтерия продолжает оставаться актуальным заболеванием даже в странах с многолетней массовой вакцинопрофилактикой. В Чехии в 2024 году зарегистрировано 6 случаев дифтерии, в Великобритании - 86 случаев дифтерии. Наибольшее опасение вызывает ситуация в Африканском регионе, где с начала 2023 года продолжается рост случаев заболеваний и смерти от дифтерии. Всего в Нигерии, Гвинеи, Мавритании и Южной Африке зарегистрировано более 27 991 случая заболевания дифтерией и более 828 случаев смерти. В Российской Федерации случаев заболевания дифтерией и бактерионосительства в 2023 году не за-

регистрировано (<https://www.rospotrebnadzor.ru/>) [1]. Сохраняется риск завозных случаев дифтерии на территорию нашей страны. С целью сохранения благополучной ситуации по дифтерии и недопущения распространения инфекции необходимо поддерживать качественный уровень бактериологической диагностики с проведением всех регламентированных нормативными документами тестов, включая определение токсигенности и биовара возбудителя.

История открытия индикаторов связана с экспериментами, которые проводил с различными растениями Р. Бойль (1627-1691 гг.) ещё в XVII веке. Индикаторы,

меняющие свой цвет при изменении pH среды, используют не только для определения реакции среды. Их вводят в состав специальных дифференциально-диагностических питательных сред, служащих для выявления биохимических свойств микроорганизмов. Изменение цвета дифференциально-диагностической питательной среды указывает на образование кислоты или щелочи при ферментативной деятельности микроорганизмов. Известны индикаторы, приобретающие ту или иную окраску лишь при щелочной или кислой реакции среды; вне этой реакции они бесцветны. Более удобны двухцветные индикаторы, имеющие разную окраску в кислой и щелочной средах. Лакмусовая настойка, например, при кислой реакции приобретает розовую окраску, при щелочной – синюю. Часто применяют розоловую кислоту, в кислой среде – до pH 6,2-6,5 - имеющую жёлтую окраску, а начиная от pH 6,5 приобретающую бледно-розовый цвет, переходящий в интенсивно розовый при щелочной реакции (начиная от pH 7,2) [2]. В настоящее время известно большое количество индикаторов.

При лабораторной диагностике дифтерийной инфекции при проведении бактериологических исследований используется реактив Андресе. Индикатор Андресе является фуксинсодержащим реактивом, который добавляется в дифференциально-диагностические питательные среды с углеводами для определения сахаролитической активности бактерий - разложения глюкозы, сахарозы и крахмала; при сдвиге pH в кислую сторону, питательная среда приобретает красный цвет. Способность разлагать крахмал является дифференциально-диагностическим признаком определения биоваров *Corynebacterium diphtheriae* - *gravis*, *mitis*, *intermedius* и *belfanti* [16].

Рецепт приготовления индикатора Андресе, предложенный в 1950 и 1967 году [2, 3], заключается в следующем: 1 г кислого фуксина растворяют в 400 мл дистиллированной воды, для обесцвечивания добавляют 64,0 мл нормального раствора едкого натра (NaOH). После приготовления сутки выдерживают в термостате, двое суток – на свету. Индикатор предлагалось хранить в тёмной бутылке – *in vitro negro*.

В бактериологической диагностике дифтерийной инфекции с 1967 г. до 2023 г. в нормативных документах предлагался следующий рецепт индикатора Андресе [4 - 6]: в 100 мл дистиллированной воды добавляют 0,5 г кислого фуксина и 16,4 мл 4% раствора NaOH; раствор на сутки оставляют при 37 °С, периодически встряхивая, двое суток выдерживают на свету и затем убирают в тёмное место. В нормативных документах по лабораторной диагностике дифтерии 1998 г. и 2013 г. к ранее предложенному рецепту сделано дополнение, что при интенсивно-розовой окраске раствора в процессе приготовления индикатора Андресе, необходимо добавить 1,6 мл 4% раствора NaOH [7, 8].

В ранее проведённых в Референс-центре по мониторингу за коклюшем и дифтерией Московского НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского исследованиях по оценке эффективности бактериологической диагностики дифтерии на территории Российской Федерации установлено, что лаборатории допускают ошибки при определении биовара возбудителя дифтерии, связанные с неправильным приготовле-

нием реактива и подготовкой лабораторной посуды, что приводит к недостаточно выраженной цветной реакции и неправильной биохимической идентификации биовара [9, 10]. При проведении внешнего контроля качества бактериологической диагностики дифтерии в рамках работы Референс-центра по мониторингу за коклюшем и дифтерией ФБУН МНИИЭМ им. Г. Н. Габричевского Роспотребнадзора лаборатории субъектов РФ в 2020-2023 годах осуществляли правильную идентификацию контрольных образцов в 45,8%-82,4% случаев. Среди ошибок, допускаемых лабораториями, наряду с неправильным определением токсигенности у возбудителя дифтерии, допускаются ошибки при идентификации биовара [11 - 15].

Цель: модификация рецепта приготовления индикатора Андресе и дифференциально-диагностической среды Гисса с крахмалом для определения биовара *C. diphtheriae*.

Материал и методы. В исследовании использованы контрольные токсигенные штаммы *C. diphtheriae* биовара *gravis* № 665, токсигенный штамм *C. diphtheriae* биовара *mitis* № 6765, токсигенные штаммы *C. ulcerans* №№ 675 и 7819, *C. pseudodiphtheriticum* «Соколов», штамм *Staphylococcus aureus* 25923 (из Государственной коллекции патогенных микроорганизмов «ГКПМ-Оболенск»), дикие штаммы - токсигенные штаммы *C. diphtheriae* биовара *gravis* №№ 1-18, 30-15, токсигенные штаммы *C. diphtheriae* биовара *mitis* №№ 89-18, 57-18, 55-18, токсигенные штаммы *C. ulcerans* №№ 258-03, 85-18 (из рабочей коллекции лаборатории диагностики дифтерийной и коклюшной инфекций ФБУН МНИИЭМ им. Г. Н. Габричевского Роспотребнадзора). Культивирование штаммов проводили согласно МУ 4.2.3065-13 и 4.2.3852-23 «Лабораторная диагностика дифтерийной инфекции». Исследуемый материал засеивали на кровяно-теллуритовую среду (КТА) на основе 2% агара (ГРМ-агар, ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболенск) с добавлением 7% крови крупного рогатого скота (НПО «Лейтран», Москва) и теллурита калия (ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболенск) и Коринебакагар (КБА) согласно инструкции производителя (ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболенск). Культуры термостатировали в течение 24-48 часов при температуре 37 °С. Далее культуры культивировали на сывороточном агаре на основе 2% агара (ГРМ-агар, ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболенск) с добавлением с 20% сыворотки крупного рогатого скота (НПО «Лейтран», Москва). Приготовление дифференциально-диагностических сред Гисса проводили согласно МУ 4.2.3065-13. Для исследований использовали химический реактив крахмал четырёх отечественных производителей – крахмал растворимый (Химприбор-СПб, Россия), крахмал-индикатор (Лаверна, Россия), крахмал растворимый (ФБУН ГНЦ ПМБ Роспотребнадзора, Россия), крахмал-индикатор (ДиаЭм, Россия).

Результаты и обсуждение. С целью повышения эффективности постановки теста на ферментацию крахмала с индикатором Андресе при определении сахаролитической активности возбудителя дифтерии разработан модернизированный рецепт этого индикатора: фуксин кислый - 0,5 г, натрий гидроокись (1N NaOH) - 20,0 мл, дистиллированная вода - 100 мл. Приготовление индикатора: кислый фуксин растворяют в дистиллированной воде и добавляют раствор 1N NaOH (4

г NaOH, 100 мл дистиллированной воды), перемешивают и выдерживают на свету при комнатной температуре 48 ч, периодически встряхивая, затем убирают в тёмное место в тёмной посуде. Приготовление дифференциально-диагностической среды Гисса с крахмалом проводят следующим образом: к 100 мл дистиллированной воды добавляют 1 г пептона, 0,5 г крахмала, 0,5 г NaCl, 1 мл индикатора Андресе и 1 каплю 20% раствора NaOH; доводят приготовленный раствор до кипения, дают остыть и добавляют 0,5 г растворимого крахмала. Далее разливают по 2-3 мл в химические чистые сухие пробирки и стерилизуют автоклавированием при температуре плюс $(112 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение 20 мин, или текучим паром в течение 3 дней по 30 мин, или при 0,5 атм. 30 минут. В готовом виде дифференциально-диагностическая среда Гисса с крахмалом с индикатором Андресе - бесцветная или имеет соломенный оттенок.

Для сравнительной оценки проведены серии экспериментов по постановке пробы на ферментацию крах-

мала с индикатором Андресе согласно [8] и по модернизированному рецепту. Каждый штамм тестировался пять раз (с интервалом 14 дней) в трёх повторях на каждой среде Гисса (крахмал) с четырьмя различными химическими реактивами – крахмал и двумя видами индикаторов (согласно [8] и модернизированный рецепт) с двух питательных сред первичного посева (КТА и КБА), всего по 3120 постановок в каждом учреждении.

В экспериментах использован химический реактив крахмал четырёх производителей: 1) крахмал растворимый (Химприбор-СПб, Россия); 2) крахмал-индикатор (Лаверна, Россия); 3) крахмал растворимый (ФБУН ГНЦ ПМБ Роспотребнадзора, Россия); 4) крахмал-индикатор (ДиаЭм, Россия). Проведённые эксперименты показали, что при использовании модернизированного рецепта индикатора Андресе получается более выраженная положительная цветовая реакция при сохранении стойкого отрицательного результата в незасеянной пробирке (рис. 1, 2).



Рис. 1. Определение ферментации крахмала с использованием химического реактива крахмал растворимый (Химприбор-СПб, Россия) (А), крахмал-индикатор (Лаверна, Россия) (Б) и индикатора Андресе согласно [8]. Здесь и на рис. 2: слева направо - токсигенный штамм *C. diphtheriae* биовара *mitis* № 6765 (2 пробирки), *C. diphtheriae* биовара *gravis* № 665 (3 пробирки), токсигенный штамм *C. ulcerans* № 675 (3 пробирки), отрицательный контроль (незасеянная пробирка).

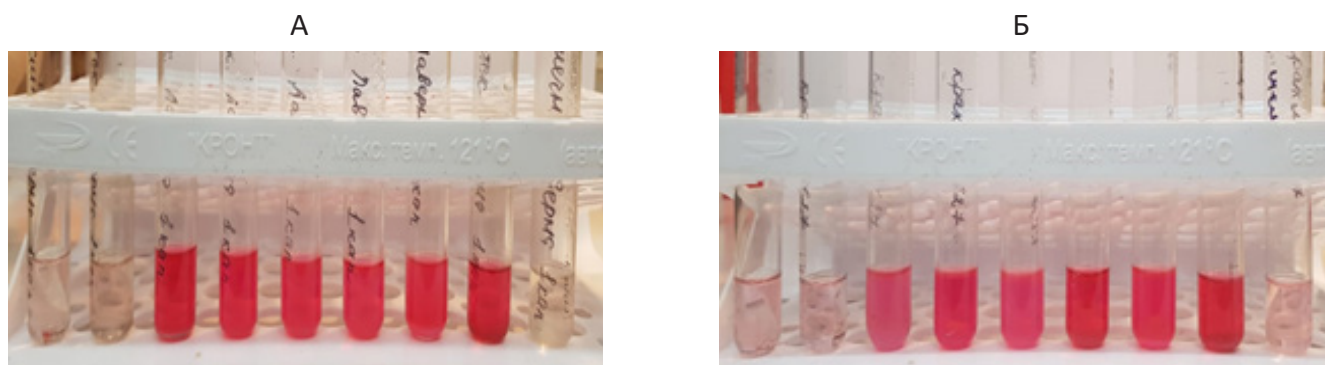


Рис. 2. Определение ферментации крахмала с использованием химического реактива крахмал растворимый (Химприбор-СПб, Россия) (А), крахмал-индикатор (Лаверна, Россия) (Б) и модернизированного рецепта индикатора Андресе.

Результаты идентификации биовара у *C. diphtheriae* при использовании всех химических реактивов – крахмал четырёх отечественных производителей сопоставимы. Использование для культивирования штаммов коринебактерий двух разных питательных сред первичного посева - КТА и КБА не влияло на результаты идентификации биовара.

Оценена возможность начала формирования положительного результата при определении сахароли-

тической активности (ферментация глюкозы, сахарозы и крахмала) у *C. diphtheriae* биовара *gravis* и *C. diphtheriae* биовара *mitis*. Оказалось, что положительный результат реакции ферментации глюкозы у штаммов *C. diphtheriae* биовара *gravis* и *C. diphtheriae* биовара *mitis* и положительный результат ферментации крахмала у штамма *C. diphtheriae* биовара *gravis* стал формироваться через два часа от момента постановки реакции (рис. 3, А, Б).



Рис. 3. Определение ферментации глюкозы, сахарозы и крахмала с использованием химического реактива крахмал-индикатор (Лаверна, Россия) и модернизированного рецепта индикатора Андреде у *C. diphtheriae* биовара *gravis* № 665 (А) и *C. diphtheriae* биовара *mitis* № 6765 (Б). Слева направо – глюкоза, сахароза и крахмал.

Проведены исследования по оценке сроков хранения дифференциально-диагностической среды Гисса с модернизированным индикатором Андреде. В эксперименте оценена интенсивность цветовой реакции при положительном результате и отсутствие цветовой реакции при отрицательном результате в течение 7 и 14 дней. Каждый штамм тестировался три раза (с интервалом 14 дней) в трёх повторах на каждой дифферен-

циально-диагностической среде Гисса (крахмал) с четырьмя различными химическими реактивами – крахмал с двух сред первичного посева (КТА и КБА), всего по 936 постановок в двух учреждениях. В результате эксперимента установлено, что готовую дифференциально-диагностическую среду можно хранить при температуре плюс (2-8) °С в защищённом от света месте в течение 14 дней (рис. 4, А, Б).

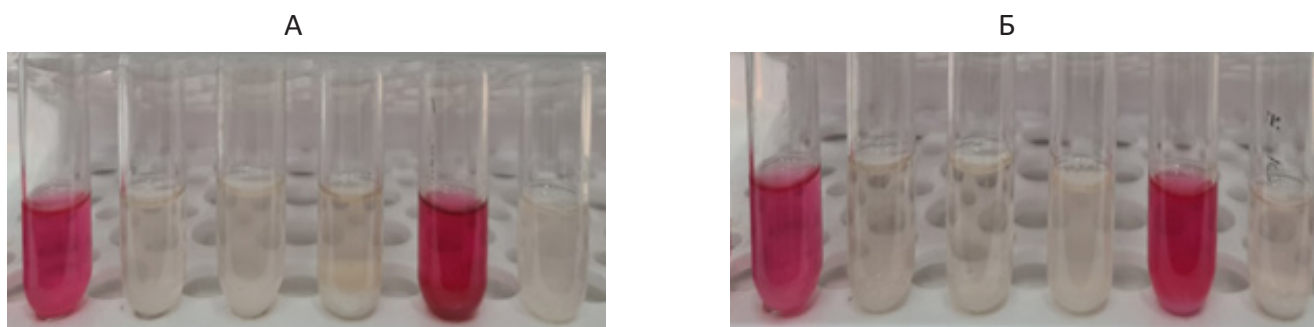


Рис. 4. Определение ферментации крахмала с использованием химического реактива крахмал-индикатор (Лаверна, Россия) и модернизированного рецепта индикатора Андреде через 7 (А) и 14 (Б) дней от момента приготовления среды Гисса.

Слева направо - *C. diphtheriae* биовара *gravis* № 665, токсигенный штамм *C. diphtheriae* биовара *mitis* № 6765 (3 пробирки), токсигенный штамм *C. ulcerans* № 675, отрицательный контроль (незасеянная пробирка).

Для поддержания эффективности теста на ферментацию крахмала необходимо проводить внутрилабораторный контроль качества, осуществляемый с каждой новой серией реактива (крахмала), а также периодический - при каждой постановке с использованием необходимого набора контрольных штаммов. В нормативном методическом документе определён перечень контрольных штаммов для оценки наличия ферментации крахмала - у контрольного токсигенного штамма *C. diphtheriae* биовара *gravis* № 665 (положительный контроль); отсутствие ферментации крахмала у контрольного токсигенного штамма *C. diphtheriae* биовара *mitis* № 6765 (отрицательный контроль); наличие ферментации сахарозы у контрольного штамма *S. aureus* ATCC 25923 (положительный контроль); отсутствие признака в среде без посева культуры (отрицательный контроль).

Заключение. Модернизированный рецепт индикатора Андреде и приготовления дифференциально-

диагностической среды Гисса с крахмалом позволит повысить эффективность и исключить ошибки при идентификации биовара у *C. diphtheriae*. Данный модернизированный рецепт индикатора и приготовления дифференциально-диагностической среды представлены в методических указаниях 4.2.3852-23 «Лабораторная диагностика дифтерийной инфекции».

ЛИТЕРАТУРА

1. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2023 году: Государственный доклад. М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека; 2024.
2. Лебедева М.Н. Руководство к практическим занятиям по микробиологии. М.: Медгиз; 1950.
3. Справочник по микробиологическим и вирусологическим методам исследования. М.О. Биргер ред. М.: Медицина; 1967.
4. Инструкция по бактериологическому исследованию на дифтерию

- от 02.09.1967 г. № 690-67. Минздрав СССР; 1967.
- Инструкция по бактериологическому исследованию на дифтерию (Приложение 4 к Приказу Минздрава СССР № 580 от 26.06.1974 г.). М.: Минздрав СССР; 1974.
 - 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.
 - Методические указания «Лабораторная диагностика дифтерийной инфекции» от 09.01.1998 г. МУК 4.2.698-98. Минздрав России. М.: «Интерсэп»; 1998. ISBN 5-89834-02-3.
 - Методические указания «Лабораторная диагностика дифтерийной инфекции» от 14.07.2013 г. МУК 4.2.3065-13. Роспотребнадзор; 2013. ISBN 978-5-7508-1195-3.
 - Борисова О.Ю., Гадуа Н.Т., Пименова А.С., Афанасьев С.С., Афанасьев М.С., Миронов А.Ю. и др. Состояние и проблемы бактериологической диагностики дифтерийной инфекции в Российской Федерации. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2020; 65(11):717-23. DOI: 10.18821/0869-2084-2020-65-11-717-723.
 - Борисова О.Ю., Гадуа Н.Т., Пименова А.С., Шепелин А.П., Домотенко Л.В., Миронов А.Ю. и др. Внешний контроль качества проведения бактериологического исследования при выделении *Corynebacterium diphtheriae*. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2021; 66(8): 509-12. DOI: 10.51620/0869-2084-2021-66-8-509-512.
 - О результатах проведения внешнего контроля качества исследований по бактериологической диагностике дифтерии и коклюша и серологической диагностике дифтерии в Российской Федерации в 2020 году. Информационное письмо № 02/23440-2020-27 от 16.11.2020 г. Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (Роспотребнадзор).
 - О результатах проведения внешнего контроля качества исследований по бактериологической диагностике дифтерии и коклюша и серологической диагностике дифтерии в Российской Федерации в 2021 году. Информационное письмо № 02/20615-2021-27 от 12.10.2021 г. Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (Роспотребнадзор).
 - О результатах проведения внешнего контроля качества исследований по бактериологической диагностике дифтерии и коклюша и серологической диагностике дифтерии в Российской Федерации в 2022 году. Информационное письмо № 02/20896-2022-27 ДСП от 21.10.2022 г. Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (Роспотребнадзор).
 - О результатах проведения внешнего контроля качества исследований по бактериологической диагностике дифтерии и коклюша и серологической диагностике дифтерии в Российской Федерации в 2023 году. Информационное письмо № 02/17141-2030-27 от 09.10.2023 г. Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (Роспотребнадзор).
 - Борисова О.Ю., Пименова А.С., Гадуа Н.Т., Чагина И.А., Донских Е.Е., Кафарская Л.И. Ошибки, допущенные лабораториями при выполнении внешнего контроля качества по лабораторной диагностике дифтерии. *Проблемы медицинской микологии*. 2023; 25(2): 92.
 - Харсеева Г.Г., Тюкавкина С.Ю., Миронов А.Ю. Дифтерия: характеристика возбудителя и лабораторная диагностика (лекция). *Клиническая лабораторная диагностика*. 2020; 65(11): 699-706. DOI: 10.18821/0869-2084-2020-65-11-699-706.
 - population in the Russian Federation in 2023: State report. Moscow: Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Welfare; 2024. (in Russian)
 - Lebedeva M.N. Microbiology Practice Guide [Rukovodstvo k prakticheskim zanyatiyam]. Moscow: Medgiz; 1950. (in Russian)
 - Handbook of Microbiological and Virological Research Methods [Spravochnik po mikrobiologicheskim i virusologicheskim metodam issledovaniya]. M.O. Birger, ed. Moscow: Meditsina; 1967. (in Russian)
 - Instructions for Bacteriological Examination for Diphtheria № 690-67 dated 02.09.1967. Moscow: Ministerstvo zdavookhraneniya SSSR; 1967. (in Russian)
 - Instructions for bacteriological examination for diphtheria (Appendix 4 to Order of the USSR Ministry of Health № 580 of 26.06.1974). Moscow: Ministerstvo zdavookhraneniya SSSR; 1974. (in Russian)
 - Instructions for bacteriological and serological indication of the diphtheria pathogen and its toxin (Appendix 5 to Order of the USSR Ministry of Health № 450 of 02.04.1986). Moscow: Ministerstvo zdavookhraneniya SSSR; 1986. (in Russian)
 - Methodological Guidelines «Laboratory Diagnostics of Diphtheria Infection» dated 09.01.1998, МУК 4.2.698-98. Minzdrav RF. Moscow: Intersen; 1998. ISBN 5-89834-02-3. (in Russian)
 - Methodological Guidelines «Laboratory Diagnostics of Diphtheria Infection» dated 14.07.2013, МУК 4.2.3065-13. Rospotrebнадзор; 2013. ISBN 978-5-7508-1195-3. (in Russian)
 - Borisova O.Yu., Gadua N.T., Pimenova A.S., Afanasyev S.S., Afanasyev M.S., Mironov A.Yu. et al. Condition and problems of bacteriological diagnosis of diphtheria infection in the Russian Federation. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2020; 65(11): 717-23. DOI: 10.18821/0869-2084-2020-65-11-717-723. (in Russian)
 - Borisova O.Yu., Gadua N.T., Pimenova A.S., Shepelin A.P., Domotenko L.V., Mironov A.Yu. et al. External quality control of bacteriological study during isolation of *Corynebacterium diphtheriae*. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2021; 66(8): 509-12. DOI: 10.51620/0869-2084-2021-66-8-509-512. (in Russian)
 - On the results of external quality control of studies on bacteriological diagnostics of diphtheria and pertussis and serological diagnostics of diphtheria in the Russian Federation in 2020. Information letter № 02/23440-2020-27 dated 16.11.2020. Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Welfare (Rospotrebнадзор). (in Russian)
 - On the results of external quality control of studies on bacteriological diagnostics of diphtheria and pertussis and serological diagnostics of diphtheria in the Russian Federation in 2021. Information letter № 02/20615-2021-27 dated 12.10.2021. Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Welfare (Rospotrebнадзор). (in Russian)
 - On the results of external quality control of studies on bacteriological diagnostics of diphtheria and pertussis and serological diagnostics of diphtheria in the Russian Federation in 2022. Information letter № 02/20896-2022-27 Chipboard dated 21.10.2022. Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Welfare (Rospotrebнадзор). (in Russian)
 - On the results of external quality control of studies on bacteriological diagnostics of diphtheria and pertussis and serological diagnostics of diphtheria in the Russian Federation in 2023. Information letter № 02/17141-2030-27 dated 09.10.2023. Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Welfare (Rospotrebнадзор). (in Russian)
 - Borisova O.Yu., Pimenova A.S., Gadua N.T., Chagina I.A., Donskikh E.E., Kafarskaya L.I. Errors made by laboratories when performing external quality control on laboratory diagnostics of diphtheria. *Problemy meditsinskoj mikologii*. 2023; 25(2): 92. (in Russian)
 - Kharseeva G.G., Tyukavkina S.Yu., Mironov A.Yu. Diphtheria: characteristics of the causative agent and laboratory diagnostics (lecture). *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2020; 65(11): 699-706. DOI: 10.18821/0869-2084-2020-65-11-699-706. (in Russian)

REFERENCES

- On the state of sanitary and epidemiological well-being of the