

# Комплексные лабораторные исследования на дифтерию на современном этапе

Л.А.Краева<sup>1,4</sup>, Е.А.Алексеева<sup>2</sup>, Г.И.Беспалова<sup>3</sup>

<sup>1</sup>ФБУН «НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера», Санкт-Петербург, Российская Федерация;

<sup>2</sup>ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Вологодской области», Вологда, Российская Федерация;

<sup>3</sup>ФГБОУВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И.Мечникова», Санкт-Петербург, Российская Федерация;

<sup>4</sup>ФГБОУВО «Военно-медицинская академия им. С.М.Кирова», Санкт-Петербург, Российская Федерация

Установлены критерии достоверной оценки защищенности населения от дифтерии на основании двух показателей: количества суммарных антитоксических противодифтерийных антител и индекса авидности. Для этого предложено использовать модифицированный вариант иммуноферментного анализа с одновременным определением двух показателей. Выведены формулы расчета вероятности заболевания дифтерией в случае контакта с больным или носителем *Corynebacterium diphtheriae* и определения срока последующей ревакцинации. Разработаны «Алгоритм контроля иммунитета населения и оценки невосприимчивости к дифтерии» и «Алгоритм микробиологического исследования клинического материала на поиск *C. diphtheriae*».

**Ключевые слова:** дифтерия, поствакцинальный иммунитет, токсигенные штаммы

**Для цитирования:** Краева Л.А., Алексеева Е.А., Беспалова Г.И. Комплексные лабораторные исследования на дифтерию на современном этапе. Бактериология. 2017; 2(1): 20–24. DOI: 10.20953/2500-1027-2017-1-20-24

## Comprehensive laboratory studies of diphtheria at the present time

L.A.Kraeva<sup>1,4</sup>, E.A.Alekseeva<sup>2</sup>, G.I.Bespalova<sup>3</sup>

<sup>1</sup>St.-Petersburg Pasteur Institute, Saint Petersburg, Russian Federation;

<sup>2</sup>Center of Hygiene and Epidemiology in Vologda region, Vologda, Russian Federation;

<sup>3</sup>North-Western State Medical University named by I.I.Mechnikov, Saint-Petersburg, Russian Federation;

<sup>4</sup>Military Medical Academy named by S.M.Kirov, Saint-Petersburg, Russian Federation

Reliable assessment criteria of the population protection from diphtheria have been established on the basis of two indexes: the total number of antitoxic antidiphtheria antibodies and the avidity index. For this purpose it was proposed to use a modified version of ELISA with simultaneous determination of two values. Formulas for calculating the probability of diphtheria in case of contact with a sick patient or *Corynebacterium diphtheriae* carrier and for determining the period of subsequent revaccination were deduced. «Immunity control algorithm and evaluation of population immunity to diphtheria» and «algorithm of clinical material microbiological testing to search *C. diphtheriae*» were developed.

**Keywords:** diphtheria, vaccine-induced immunity, toxigenic strains

**For citation:** Kraeva L.A., Alekseeva E.A., Bespalova G.I. Comprehensive laboratory studies of diphtheria at the present time. Bacteriology. 2017; 2(1): 20–24. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2017-1-20-24

**В** настоящее время, спустя более 15 лет после прошедшей эпидемии дифтерии, повсеместно отмечается снижение внимания клиницистов к этой инфекции. Профилактические обследования не проводятся, диагностические проводятся, но не в полном объеме. В то же время, по данным статистического анализа в Санкт-Петербурге и Северо-

Западном регионе в целом, регистрируются случаи носительства *Corynebacterium diphtheriae* и заболевания дифтерией, преимущественно среди лиц из закрытых коллективов. По данным Elek-теста, выделенные штаммы *C. diphtheriae* в основном нетоксигенные. Тем не менее, проведенные исследования с помощью молекулярных методов пока-

### Для корреспонденции:

Краева Людмила Александровна, доктор медицинских наук, заведующая лабораторией медицинской бактериологии ФБУН «НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера», профессор кафедры микробиологии ФГБОУВО «Военно-медицинская академия им. С.М.Кирова»

Адрес: 197101, Санкт-Петербург, ул. Мира, 14

Телефон: (812) 498-0939

E-mail: lykraeva@yandex.ru

Статья поступила 15.11.2016 г., принята к печати 15.03.2017 г.

### For correspondence:

Liudmila A. Kraeva, Sc.D., MD, Head of the laboratory of medical bacteriology, St.-Petersburg Pasteur Institute; Professor of Department of Microbiology, Military medical Academy named by S.M.Kirov

Address: 14 Mira Str., Saint-Petersburg, 197101, Russian Federation

Phone: (812) 498-0939

E-mail: lykraeva@yandex.ru

The article was received 15.11.2016, accepted for publication 15.03.2017

зали, что среди таких штаммов до 40% несут в себе «молчащий» *tox+* ген [1, 2]. Несомненно, полимеразная цепная реакция (ПЦР) обладает более высокой чувствительностью и скоростью постановки [3–6]. Однако результат ПЦР свидетельствует о наличии у микроорганизма гена токсигенности, который, как известно, может быть репрессирован и не проявлять себя в фенотипических тестах, таких как Elek-тест. Известно, что при определенных условиях действие гена-супрессора прекращается, и штамм возобновляет способность продуцировать токсин [7].

Более того, в условиях бесконтрольного использования антибиотиков возможно частичное подавление роста и размножения микроорганизмов, попавших на слизистые оболочки, и как следствие – получение отрицательного результата при бактериологическом исследовании из-за временного снижения количества микроорганизмов в месте входных ворот инфекции или низкой активности дифтерийного токсина, которую не всегда удастся выявить с помощью Elek-теста [8]. Таким образом, объективно требуется улучшение качества лабораторной диагностики, направленной на поиск *C. diphtheriae*.

С другой стороны, защищенность от дифтерии, согласно нормативным документам, в нашей стране определяется с помощью реакции прямой гемагглютинации (РПГА) [9, 10]. Однако результат реакции, выражаемый в титрах, не позволяет точно определить количество антитоксических антител (АТ-АТ). Разработка ВОЗ и повсеместное внедрение в практику оценочной шкалы защищенности от дифтерии на основании определения количества АТ-АТ позволили контролировать качество вакцинации [11]. Однако информация о количестве вырабатываемых противодифтерийных антител не всегда дает достоверный ответ на вопрос о степени защищенности от дифтерии. Это было продемонстрировано во время последней эпидемии дифтерии в России и после нее, когда у заболевших (до 40% случаев) находили в крови АТ-АТ защитных уровней [12–14]. Ранее проведенными исследованиями была установлена определяющая роль высокоavidных АТ-АТ в защите от дифтерии, которые могут быть определены наряду с количеством суммарных АТ-АТ в иммуноферментном анализе [15]. При этом была показана динамика формирования и утраты АТ-АТ, равно как и показателя их avidности, изучены особенности специфического иммунитета к дифтерии среди различных групп населения. Тем не менее, отсутствие программ и схем исследования при диагностике дифтерии и изучении напряженности иммунитета у населения, содержащих новые аргументированные данные, не позволяют полноценно и качественно проводить бактериологический и иммунологический контроль в отношении дифтерии на местах.

Поэтому целью работы явилась разработка алгоритмов комплексного лабораторного исследования на дифтерию.

## Материалы и методы

В работе использованы 650 штаммов *C. diphtheriae*, выделенных в Санкт-Петербурге, Ленинградской и Вологодской областях в 1995–2015 гг., а также 1520 образцов сыворотки крови взрослых лиц. Используются референс-штаммы *C. diphtheriae* № 10356 (*tox*-), №10648 (*tox*+) и №3984 (*tox*+/-) из NCTC (National Collection of Type Cultures Diphtheriae

Reference Laboratory, Central Health Laboratory (CPHL), London, UK).

Реализация поставленной цели достигалась следующими методами: микробиологическими, включая исследования по стандартным методикам, прилагаемым к диагностическим наборам, иммунологическими (иммуноферментный анализ (ИФА), РПГА и реакция нейтрализации (РН) на клетках Vero, полученных из лаборатории детских инфекций ФБУН НИИЭМ им. Пастера, эпидемиологическими (с оценкой характеристики выбранных контингентов), методами математической обработки данных, а также разработанными авторами «Экспресс-способ выявления потенциальной токсигенности у штаммов *C. diphtheriae*» и «Экспресс-способ выявления дифтерийного токсина на основе микротехнологий».

## Результаты и обсуждение

*1. Определение защищенности населения от дифтерии на основе модернизации серологического мониторинга.*

По данным центров Госсанэпиднадзора в Северо-Западном регионе РФ в постэпидемические годы у 50% лиц, заболевших дифтерией, в крови обнаруживали защитные уровни АТ-АТ, выявляемые с помощью регламентированного метода РПГА. В связи с этим были проведены параллельные исследования образцов сыворотки крови от 350 лиц тремя используемыми в нашей стране методами: РН на культуре клеток Vero, РПГА и ИФА.

Полученные результаты показали, что коэффициент корреляции между результатами исследования сывороток в РПГА и классической РН на культуре клеток Vero составил  $r = 0,5$ . Между тем, этот показатель для ИФА и РН (Vero) составил 0,95 с уровнем достоверности  $p < 0,05$ . Результаты ИФА выражали в единицах, соответствующим международным критериям.

В результате исследования образцов сывороток крови заболевших дифтерией лиц с помощью ИФА было установлено, что 29% из них содержали АТ-АТ в количестве  $>0,1$  МЕ/мл, что по международным и национальным критериям обеспечивает невосприимчивость к дифтерии. Поэтому дальнейшие исследования были посвящены изучению качества АТ-АТ и их роли в защите от дифтерии.

Для исследования были выбраны две панели из 185 образцов сывороток крови, полученных от больных дифтерией (на 3–5-й день заболевания, не получавших в этот период лечебной противодифтерийной сыворотки) и контактных лиц, кровь от которых была взята на 1–2-й неделе после контакта с заболевшим дифтерией. Сравнивали не только уровни суммарных АТ-АТ, но и их avidность. При этом среднее значение индекса avidности (ИА) в группе заболевших дифтерией составило 17,5%, а в группе не заболевших дифтерией – 64% (рис. 1).

С помощью математической обработки данных установлено, что ИА более 30% соответствует вероятности защиты от заболевания дифтерией на 95%, а ИА, равный 10%, является показателем критического уровня, ниже которого вероятность заболевания возрастает до 99% ( $p < 0,001$ ).

При помощи математического анализа был выведен комплексный показатель (КП), получаемый из данных о количестве АТ-АТ и ИА, указывающий на вероятность заболевания дифтерией данного обследуемого в случае его кон-

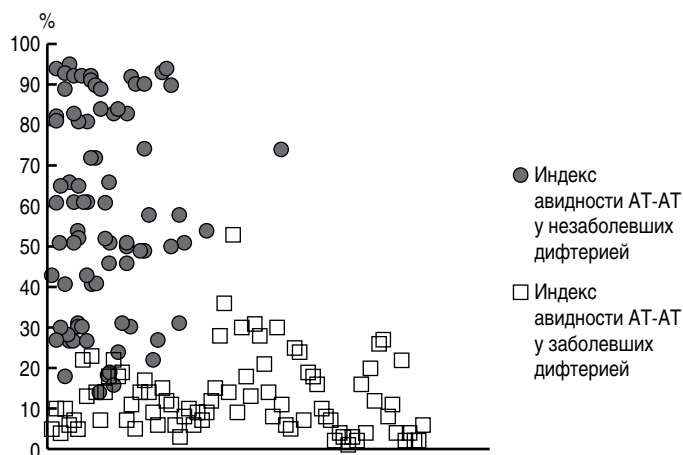


Рис. 1. Результаты определения ИА АТ-АТ в двух группах сывороток.

такта с дифтерийным больным. При этом коэффициент Стьюдента ( $t$ ) = 16,4; достоверность ( $p$ ) < 0,001; коэффициент Фишера ( $F$ ) = 83,7,  $p$  < 0,001.

Наиболее достоверные результаты получены при использовании дискриминантного анализа. При этом степень достоверности выведенных формул была наивысшей ( $p$  = 5,64E-26). В результате примененного статистического анализа выведена формула расчета вероятности заболевания человека дифтерией по двум известным показателям (АТ-АТ и ИА) путем использования их производной – КП. Для этого сначала необходимо рассчитать функцию для лиц, не заболевших дифтерией:

$$y_0 = -3,805 + 0,49 \times \text{КП}, \quad (1)$$

$$\text{где КП} = \text{АТ} - \text{АТ} \times \text{ИА} \quad (2)$$

Затем рассчитывается функция для лиц, заболевших дифтерией:

$$y_1 = -0,713 + 0,017 \times \text{КП} \quad (3)$$

Если значение  $y_1 > y_0$ , то вероятность заболеть дифтерией больше, чем не заболеть. Для расчета вероятности заболевания дифтерией (ВЗд) получена следующая формула:

$$\text{ВЗд} = 0,82 - 0,05 \times \text{КП} \quad (4)$$

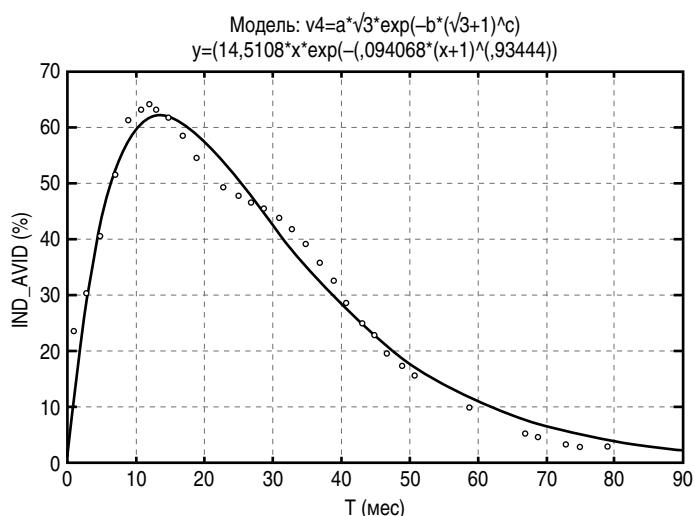


Рис. 2. Математическая модель динамики индексов avidности после ревакцинации. IND\_AVID (%) – индексы avidности (%), T (мес) – время после ревакцинации (месяцы). Средняя погрешность модели = 5%.

Показатель вероятности заболевания может варьировать от 0 до 1: чем выше показатель, тем выше вероятность заболевания.

Поскольку avidность антител, как показано, имеет определяющее значение при оценке защищенности от дифтерии, была установлена динамика их накопления и утраты. При этом созревание высокоavidных антител достигает максимума в среднем через год после ревакцинации, в то время как наибольшее количество суммарных антитоксических антител образуется через 6–9 месяцев. Период регрессии для суммарных антител более длителен, чем для высокоavidных: через 5 лет после очередной ревакцинации индекс avidности антител достигает минимального (критического) уровня (10%), в то время как количественное содержание антитоксических антител остается в пределах защитных уровней (0,1–0,5 МЕ/мл) и снижается до критических значений (0,01 МЕ/мл) к 7–8-му году после ревакцинации.

Поскольку avidность антител, защищающая от заболевания дифтерией, снижается быстрее, чем количественный показатель суммарных антител, то в прогнозе необходимо ориентироваться на индекс avidности антител. Для этого на графике, представляющем собой математическую модель из исходных данных о динамике ИА после ревакцинации (рис. 2), находим значение, наиболее приближенное к полученному ИА антител (с учетом предыдущей вакцинации) и определяем по графику, через сколько месяцев ИА снизится до критической отметки (10%). Очередную ревакцинацию (или повторное исследование) рекомендуется пройти до этой даты.

Кроме того, полученные данные о различиях в защите от дифтерии некоторых социальных и профессиональных групп аргументируют необходимость дифференцированного подхода к отбору лиц для серологического мониторинга и коррекции защищенности от заболевания.

*II. Совершенствование лабораторной диагностики по своевременному выявлению токсигенных штаммов *C. diphtheriae*.*

Ранее проведенными исследованиями [16] было показано, что низкоинтенсивное лазерное излучение (НИЛИ) индуцирует выработку токсина штаммами *C. diphtheriae*, несущими tox+ ген. При этом наибольший эффект (увеличение в 2 раза) отмечался в отношении тех штаммов, которые имели низкие уровни токсипродукции, т.е. могли остаться неучтенными при визуальной оценке токсигенности в Elek-тесте.

Кроме того, после воздействия НИЛИ на штаммы *C. diphtheriae* с «молчащим» геном, у 45% из 80 штаммов наступало восстановление токсипродукции, регистрируемое в реакции непрямой гемагглютинации (РНГА) и Elek-тесте.

Однако определение токсигенности штаммов *C. diphtheriae* с помощью Elek-теста весьма субъективно. Поэтому нами ранее был разработан высокочувствительный способ детекции дифтерийного токсина, основанный на использовании в диагностическом наборе высокоavidных антитоксических противодифтерийных антител и современных микротехнологий [17].

Разработанный экспресс-способ обладает высокой диагностической эффективностью. При количественной оценке чувствительность способа составила 0,001 Лf/мл дифтерийного токсина, что выше показателей любого имеющегося в настоящее время метода детекции дифтерийного токсина.

Из всех фенотипических методов данный способ обладает наилучшими показателями по скорости пробоподготовки, проведения реакции, а также возможности одновременной постановки большого количества проб (рис. 3).

Высокая эффективность предложенных способов и скорость осуществления наряду с низкими финансовыми затратами позволяют широко использовать их как в научных, так и в практических целях.

Результаты статистической обработки данных позволили убедиться в том, что для контроля уровня иммунитета к дифтерии целесообразней использовать метод ИФА вместо РПГА, что соответствует международным стандартам. Показатель ИА АТ-АТ имеет большую достоверность (99%), чем уровень суммарных АТ-АТ (71%) при оценке защищенности от дифтерии, что объясняет, почему отмечались случаи заболевания дифтерией среди лиц, имеющих в крови защитные уровни суммарных антител. Однако наибольшую достоверность при оценке защищенности от дифтерии имеет КП. Поэтому в инструкцию по применению отечественной тест-системы включены дополнения по методике определения ИА антител.

Более того, использование современного математического аппарата позволило разработать методику определения сроков последующей ревакцинации обследуемого. При отсутствии данных о защищенности отдельных лиц необходимо отталкиваться от следующей общей тенденции. К 7–8 году после очередной ревакцинации уровень противодифтерийных АТ-АТ снижается до самых низких защитных значений, в то время как ИА антител снижается до нижнего «порогового» уровня уже через 5 лет. Поэтому в эти сроки необходимо проводить и контроль популяционного иммунитета, и планировать очередную ревакцинацию среди незащищенных лиц.

Выявление групп «риска» среди населения позволило сделать вывод о необходимости проведения периодических профилактических обследований среди лиц старше 50 лет, медицинских работников, рабочих промышленных предприятий с вредными условиями труда. Более того, выявление носителей токсигенных штаммов *C. diphtheriae* в психоневрологических интернатах говорит о целесообразности регулярных обследований контингентов в закрытых коллективах, например, 2 раза в год, для предотвращения циркуляции возбудителя и контроля защищенности от дифтерии вновь поступивших лиц.

В результате проведенных исследований был разработан следующий алгоритм контроля иммунитета населения и оценки невосприимчивости к дифтерии как отдельных лиц, так и коллективов по этапам.

1. Отбор крови, заполнение анкеты в БД (возраст, прививочный статус, профессия, хроническое заболевание, дата заболевания).

2. Определение АТ-АТ и ИА.

3. Определение вероятности заболевания по формулам.

4. Определение сроков ревакцинации или повторного контроля иммунитета.

Считаем обоснованным в периоды подъемов уровней заболеваемости ЛОР-органов всех диагностических больных обследовать на дифтерию. Нетоксигенные по данным Elek-теста штаммы *C. diphtheriae* необходимо контролировать с помощью ПЦР на предмет наличия «молчащего» гена токсигенности.

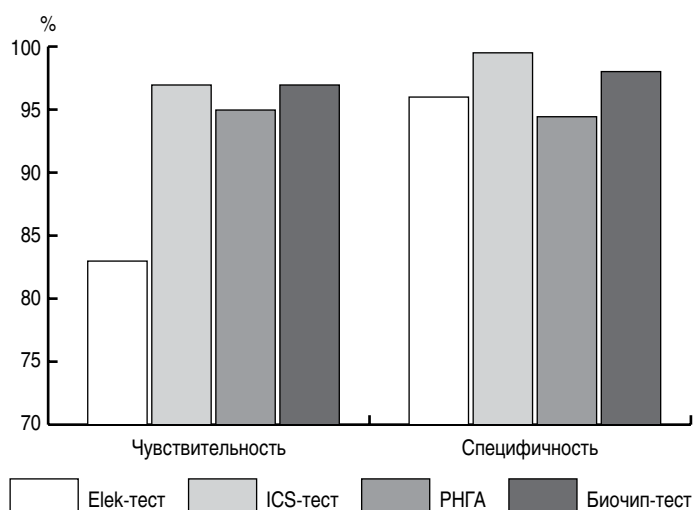


Рис. 3. Сравнение диагностической эффективности различных методов определения токсигенности у штаммов *C. diphtheriae*.

генности. Источники штаммов с «молчащим» геном необходимо обследовать клинически и эпидемиологически и проводить санацию.

Разработка способа усиления токсинопродукции штамма *C. diphtheriae* и высокочувствительного экспресс-способа выявления дифтерийного токсина позволили создать алгоритм микробиологического исследования клинического материала на поиск *C. diphtheriae* по следующим этапам.

1. Выделение из клинического материала коринебактерий. Определение вида и биохимического варианта.

2. Определение токсигенности с помощью Elek-теста. Определение токсигенности в ПЦР.

3. Если штамм не имеет *tox+* гена, то выдается окончательный отрицательный ответ. Если же штамм имеет *tox+* ген, то его нужно простимулировать с помощью НИЛИ.

4. Повторное определение токсигенности в микрочиповом тесте и выдача окончательного ответа по результатам теста.

## Литература

- Краева ЛА, Ценева ГЯ. Особенности биологических свойств *C. diphtheriae*, циркулирующих в постэпидемический период. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2009;3:3-6.
- Щедеркина ЕЕ. Основные патогенные свойства *C. diphtheriae* и усовершенствование лабораторной диагностики дифтерийной инфекции. Дисс. ... канд. мед. наук. СПб., 2001, 132 с.
- Ценева ГЯ, Щедеркина ЕЕ. Применение полимеразной цепной реакции в диагностике дифтерийной инфекции. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2000;5:72-4.
- Aravena-Roman M, Bowman R, O'Neill G. Polymerase chain reaction for the detection of toxigenic *Corynebacterium diphtheriae*. Pathol. 1995;27:71-3.
- Mikhailovich VM, Melnikov VG, Mazurova IK. Application of PCR for detection of toxigenic *Corynebacterium diphtheriae* strains isolated during the Russian diphtheria epidemic, 1990 through 1994. J Clin Microbiol. 1995;33:3061-3.
- Pallen MJ, Hay AJ, Puckey LH. Polymerase chain reaction for screening clinical isolates of corynebacteria for the production of diphtheria toxin. J Clin Pathol. 1994;47:353-6.
- Cianciotto NP, Groman NB. Characterization of bacteriophages from tox-containing, non-toxigenic isolates of *Corinebacterium diphtheriae*. Microbial Pathog. 1997;22:343-51.

8. Ценева ГЯ, Краева ЛА, Габриелян СА, Щедеркина ЕЕ. Методы определения токсигенности у штаммов *C. diphtheriae*. Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. 2005;7:182-6.
9. МУ 3.1.2943-11.3.1. Профилактика инфекционных болезней. Организация и проведение серологического мониторинга состояния коллективного иммунитета к инфекциям, управляемым средствами специфической профилактики (дифтерия, столбняк, коклюш, корь, краснуха, эпидемический паротит, полиомиелит, гепатит В). Методические указания (утв. Роспотребнадзором 15.07.2011).
10. Санитарно-эпидемиологические правила «Профилактика дифтерии. СП 3.1.2.1108-02».
11. Efstratiou A, Maple PAC. Manual for the laboratory diagnosis of diphtheria. Copenhagen. The Expanded Programme on Immunization in the European Region of WHO, 1994 (ICP/EPI038).
12. Васильев КГ, Савчук АИ. Клинико-эпидемиологические аспекты вакцинации против дифтерии. Первый конгресс педиатров-инфекционистов России. М., 2002.
13. Матюхина АГ. Исследование специфического иммунитета у больных дифтерией. VI Российский съезд врачей-инфекционистов. СПб., 2003.
14. Харченко ГА, Чанпалова ЛС, Харченко ОГ. Дифтерия у привитых детей. VI Российский съезд врачей-инфекционистов. СПб., 2003, 413-4.
15. Краева ЛА, Ценева ГЯ, Николаева АМ, Алексеева ЕА. Роль высокоavidных антитоксических антител в оценке невосприимчивости к дифтерийной инфекции. Эпидемиология и инфекционные болезни. 2011;4:27-31.
16. Краева ЛА, Ценева ГЯ, Сбойчаков ВБ, Беспалова ГИ. Способ ускоренного определения токсигенности *C. diphtheriae*. Вестник Российской военно-медицинской академии. 2010;4(32)144-7.
17. Краева ЛА, Зимина ТМ, Ценева ГЯ, Соловьев АВ. Микротехнологии в экспресс-диагностике токсигенных штаммов *C. diphtheriae*. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2011;2:62-6.
8. Tseneva GYa, Krayeva LA, Gabrielyan SA, Shchederkina EE. Methods for the detection of diphtheria toxin amongst isolates of *C. diphtheriae*. Bulletin of the East Siberian scientific center of the academy of medical sciences. 2005;7:182-6. (In Russian).
9. MU 3.1.2943-11.3.1. Prevention of infectious diseases. Organizing and conducting serological monitoring of the status of collective immunity to infections, managed by means of specific prophylaxis. Guidelines (approved Rospotrebnadzor 15.07.2011). (In Russian).
10. Sanitary-epidemiological regulations "Prevention of diphtheria. SP 3.1.2.1108-02". (In Russian).
11. Efstratiou A, Maple PAC. Manual for the laboratory diagnosis of diphtheria. Copenhagen. The Expanded Programme on Immunization in the European Region of WHO, 1994 (ICP/EPI038).
12. Vasil'ev KG, Savchuk AI. Kliniko-epidemiologicheskie aspekty vaksinatсии protiv difterii [Clinical and epidemiological aspects of vaccination against diphtheria]. The first Congress of paediatric infectious diseases in Russia. Moscow, 2002. (In Russian).
13. Matokhina AG. Issledovanie spetsificheskogo immuniteta u bol'nykh difteriei [Study of specific immunity in patients with diphtheria]. VI Russian Congress of infectiologists. Saint Petersburg, 2003. (In Russian).
14. Kharchenko GA, Chanpalova LS, Kharchenko OG. Difteriya u privitykh detei [Diphtheria in vaccinated children]. VI Rossiiskii s'ezd vrachei-infektsionistov. Saint Petersburg, 2003, pp. 413-4. (In Russian).
15. Krayeva LA, Tseneva GYa, Nikolayeva AM, Alekseyeva EA. Role of highly avid antitoxic antibodies in the estimation of insusceptibility to diphtheria infection. Epidemiology and Infectious Diseases. 2011;4:27-31. (In Russian).
16. Kraeva LA, Tseneva GYa, Sboychakov VB, Bepalova GI. Assay for rapid detection of *Corynebacterium diphtheriae* toxin production. Vestnik Rossiiskoi Voenno-meditsinskoi akademii. 2010;4(32)144-7. (In Russian).
17. Kraeva LA, Zimina TM, Tseneva GYa, Solovyev AV. Micro technologies in express diagnostics of toxigenic *Corynebacterium diphtheriae* strains. Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology. 2011;2:62-6. (In Russian).

## References

1. Kraeva LA, Tseneva GYa. Features of biologic characteristics of corynebacterium diphtheriae circulating in postepidemic period. Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology. 2009;3:3-6. (In Russian).
2. Shchederkina EE. Osnovnyye patogennyye svoystva *C. diphtheriae* i usovershenstvovanie laboratornoi diagnostiki differiinoi infektsii [The main pathogenic properties of *C. diphtheriae* and the improvement of laboratory diagnosis of diphtheria infection]. Dissertation. Saint Petersburg, 2001, 132 p. (In Russian).
3. Tseneva GYa, Shchederkina EE. Use of polymerase chain reaction in the diagnostics of diphtheria infection. Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology. 2000;5:72-4. (In Russian).
4. Aravena-Roman M, Bowman R, O'Neill G. Polymerase chain reaction for the detection of toxigenic *Corynebacterium diphtheria*. Pathol. 1995;27:71-3.
5. Mikhailovich VM, Melnikov VG, Mazurova IK. Application of PCR for detection of toxigenic *Corynebacterium diphtheria* strains isolated during the Russian diphtheria epidemic, 1990 through 1994. J Clin Microbiol. 1995;33:3061-3.
6. Pallen MJ, Hay AJ, Puckey LH. Polymerase chain reaction for screening clinical isolates of corynebacteria for the production of diphtheria toxin. J Clin Pathol. 1994;47:353-6.
7. Cianciotto NP, Groman NB. Characterization of bacteriophages from tox-containing, non-toxigenic isolates of *Corinebacterium diphtheria*. Microbial Pathog. 1997;22:343-51.

## Информация о авторах:

Алексеева Елена Андреевна, кандидат медицинских наук, заведующая микробиологической лабораторией ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Вологодской области»  
 Адрес: 160012, Вологда, ул. Яшина, 1а  
 Телефон: (8172) 75-5031  
 E-mail: elenaalekseeva182@rambler.ru

Беспалова Галина Ивановна, кандидат биологических наук, доцент кафедры медицинской микробиологии ФГБОУВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И.Мечникова»  
 Адрес: 191015, Санкт-Петербург, ул. Кирочная, 41  
 Телефон: (812) 275-1904  
 E-mail: natalya.kolyanova@szgmu.ru

## Information about authors:

Elena A. Alekseeva, PhD in Medical sciences, Head of microbiological laboratory, Center of Hygiene and Epidemiology in Vologda region  
 Address: 1a Yashina Str., 160012, Vologda, Russian Federation  
 Phone: (8172) 75-5031  
 E-mail: elenaalekseeva182@rambler.ru

Galina I. Bepalova, PhD in Biological sciences, Associate Professor of Department of medical Microbiology, North-Western State Medical University named by I.I.Mechnikov  
 Address: 41 Kirochnaya Str., Saint-Petersburg, 191015, Russian Federation  
 Phone: (812) 275-1904  
 E-mail: natalya.kolyanova@szgmu.ru