

ИФА и РПГА как методы серологического мониторинга дифтерии

П.С. Колесников

ЗАО «ЭКОлаб», г. Электрогорск, Московская область, Российская Федерация

В данном обзоре рассматривается эпидемиологическая ситуация по дифтерии за последнее десятилетие, а также описываются существующие методы контроля качества иммунизации населения и ускоренного выявления токсина в материале от больных дифтерией.

Ключевые слова: дифтерия, дифтерийный диагностикум, реакция пассивной гемагглютинации, иммуноферментный анализ, антитоксический иммунитет

Для цитирования: Колесников П.С. ИФА и РПГА как методы серологического мониторинга дифтерии. Бактериология. 2021; 6(1): 48–53. DOI: 10.20953/2500-1027-2021-1-48-53

ELISA and RPGA as methods of serological monitoring of diphtheria

P.S. Kolesnikov

CJSC «EKOlab», Electrogorsk, Moscow Region, Russian Federation

This review examines the epidemiological situation with diphtheria over the past decade, and describes the existing methods for monitoring the quality of immunization of the population and accelerated detection of toxin in the material from patients with diphtheria.

Key words: diphtheria, diphtheria diagnosticum, passive hemagglutination reaction, enzyme immunoassay, antitoxic immunity

For citation: Kolesnikov P.S. ELISA and RPGA as methods of serological monitoring of diphtheria. Bacteriology. 2021; 6(1): 48–53. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2021-1-48-53

Дифтерия – одно из наиболее тяжелых инфекционных заболеваний, угрожающих жизни человека. Без немедленного введения сыворотки около 50% больных могут умереть, и даже после введения сыворотки остается риск смерти до 20%. До начала широкого применения иммунизации против дифтерии это заболевание являлось главной причиной смертности среди детей [1].

После Второй мировой войны заболеваемость в промышленно развитых странах быстро снизилась благодаря появлению вакцины против дифтерии, столбняка и коклюша (АКДС). В других странах заболеваемость также снизилась после запуска Расширенной программы иммунизации Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) в 1974 г. [2].

Благодаря массовой вакцинации долгое время дифтерию считали полностью побежденной, однако во многих странах до сих пор фиксируются ее вспышки [3]. В последние годы в целом наблюдается рост заболеваемости дифтерией. По данным ВОЗ, в мире в год фиксируется 16–17 тыс. случаев [4, 5].

В России эпидемиологическая ситуация находится под контролем, поскольку вакцинацией охвачено 97% населения [6–8]. Тем не менее, несмотря на высокие показатели привитости населения, в разных регионах России периодически регистрируются случаи заболевания дифтерией или носительства. Как правило, это происходит среди лиц в закрытых коллективах [9, 10]. В период с 2009 по 2020 г. заболеваемость регистрируется на уровне единичных случаев без летальных исходов [6, 11].

Возбудитель дифтерии – грамположительная палочковидная бактерия рода *Corynebacterium*. Впервые возбудитель был обнаружен Эдвином Клебсом в 1883 г. на срезах пленок из ротоглотки больных. Через год Фридрих Лёффлер выделил чистую культуру. Дифтерийный токсин получили Пьер Эмиль Ру и Александр Йерсен [12, 13].

Corynebacterium diphtheriae – крупные, прямые, слегка изогнутые полиморфные палочковидные бактерии. На полюсах клеток локализуются метакрохроматические зерна воллютина, придавая клеткам характерную форму «булавы».

Для корреспонденции:

Колесников Павел Сергеевич, кандидат ветеринарных наук, микробиолог НПО Иммунологии, ЗАО «ЭКОлаб»

Адрес: 142530, Московская область, г. Электрогорск, ул. Будённого, 1-1
Телефон: (800) 333-1745
E-mail: docent-oz311@rambler.ru

For correspondence:

Pavel S. Kolesnikov, PhD (Veterinary Sciences), Microbiologist of NPO Immunology, ECOlab CJSC.

Address: 1-1 Budenny str., Electrogorsk, Moscow region, 142530, Russian Federation
Phone: (800) 333-1745
E-mail: docent-oz311@rambler.ru

The article was received 23.06.2021, accepted for publication 30.06.2021

Зерна волютинина окрашиваются метиленовым синим по Нейссеру. Окрашивание по Граму не применяют [14]. На микропрепаратах клетки располагаются одиночно или в форме латинских букв V или Y. Спор и капсул не образуют.

Заражение здорового человека происходит от больного дифтерией или от здорового носителя бактерии [14, 15]. Пути передачи – воздушно-капельный, контактно-бытовой, пищевой. Входными воротами возбудителей дифтерии могут быть практически все области покровов (кожи и слизистых). Однако наиболее часто ими является слизистая ротоглотки, намного реже – гортани, носа, конъюнктив, половых органов, раневая поверхность, кожа и др. По локализации различают локализованную и распространенную формы дифтерии.

После перенесенного заболевания формируется нестойкий иммунитет, и приблизительно через 10–11 лет человек может заболеть вновь. Повторное заболевание носит нетяжелый характер и переносится легче [15, 16].

Иммунизация является единственным средством создания невосприимчивости населения и соответственно благоприятной эпидемической ситуации [17]. Благодаря вакцинопрофилактике во многих странах дифтерия регистрируется на уровне единичных случаев (Франция – 14 в 2015 г., Германия – 14 в 2015 г., Италия – 1 в 2015 г., Латвия – 6 в 2015 г. и 10 в 2016 г., Дания – 1 в 2015 г., Австрия – 8 в 2015 г., 2 в 2016 г.) [18–21]. В то же время в странах с низким уровнем охвата населения вакцинопрофилактикой ежегодно регистрируются сотни и тысячи случаев инфекции (Индия – 3380 в 2015 г. и 2366 в 2016 г., Мадагаскар – 2865 в 2015 г., 1627 в 2016 г.) [22, 23].

Это свидетельствует о том, что дифтерия остается актуальной проблемой. Уровень заболеваемости дифтерией обратно пропорционален числу населения, привитому от данного заболевания [24, 25]. Периодические и осенне-зимние подъемы заболеваемости наблюдаются при наличии среди населения восприимчивых контингентов. В этих же условиях заболеваемость может сдвигаться с детского на старший возраст, а контингентами риска становятся работники транспорта, торговли, сферы обслуживания, медицинские работники.

Наиболее подвержены заболеванию дифтерией лица старше 50 лет, рабочие промышленных предприятий, особенно занятые на вредном производстве; лица, страдающие туберкулезом, а также гепатитом С, СПИД, наркоманией и алкоголизмом. Особое внимание должно уделяться лицам в закрытых коллективах [26].

Эпидемический подъем заболеваемости дифтерией, начавшийся в 1980-х гг., характеризовался преобладанием среди заболевших взрослых (до 72%) [27–29]. Заболеваемость регистрировалась также среди детей, преимущественно в возрасте 7–10 лет. При этом 30% заболевших составляли невакцинированные дети. Доля невакцинированных варьировала от 20% в возрастной группе 7–10 лет до 62% среди детей младше 3 лет [16, 30]. Рост заболеваемости регистрировался практически на всех административных территориях России и был обусловлен следующими факторами:

- существенным накоплением неиммунных контингентов;
- отсутствием эффективного действия противэпидеми-

ческих факторов вследствие уменьшения циркуляции возбудителя дифтерии при низкой заболеваемости;

- сохранением патогенных свойств коринебактерий дифтерии даже при их циркуляции среди иммунных контингентов [31–33].

За период с 2009 по 2018 г. в мире было зарегистрировано 68 636 случаев дифтерии, из них в Европе 440. Наивысший годовой показатель за данный период отмечался в 2018 г. – 82 случая, 74 (90%) из которых были подтверждены лабораторно, 4 случая классифицированы как клинически совместимые, 4 случая не получили окончательной классификации. 74 лабораторно подтвержденных случая были зарегистрированы в 12 странах: Германия – 26, Великобритания – 14, Франция – 9, Украина – 7, Швейцария – 5, Нидерланды – 4, Латвия – 3, Бельгия – 2, Испания – 1, Италия – 1, Норвегия – 1 и Словакия – 1.

Из 82 зарегистрированных в 2018 г. случаев 64 имели данные о возрасте и прививочном статусе. Большинство заболевших (75%, 48 человек) были в возрасте ≥ 30 лет. Из них 23 заболевших (48%) были не привиты. В отличие от предыдущих лет, единая форма отчетности за 2018 г. предполагала включение лишь всех случаев дифтерии с токсигенными штаммами [34].

На Украине в 2019 г. зафиксировано 20 случаев дифтерии, из них 18 в октябре. Лабораторно подтверждено распространение заболевания в Луганской, Хмельницкой, Закарпатской, Тернопольской и Киевской областях. В настоящее время Украина не производит анатоксин и противодифтерийную сыворотку. Ранее эти препараты закупали у российских производителей, но с 2014 г. закупки прекратились. Согласно данным ООН, Украина находится в группе стран, где вакцинацию АКДС прошли менее половины населения. Рядом с Украиной в этом перечне – Чад, Нигерия, Сомали, Южный Судан, Сирия [35].

По данным ВОЗ, в странах Латинской Америки зафиксирован подъем заболеваемости дифтерией, которая считалась ликвидированной с 1990-х гг. 80% всех зарегистрированных случаев в Латинской Америке пришлось на Венесуэлу. Несмотря на проводимую в настоящее время властями Венесуэлы вакцинацию населения, в 2018 г. зарегистрировано 1200 случаев заболеваний дифтерией, из них более 80 случаев закончились летальным исходом [21, 36].

В Гаити зафиксировано порядка 250 случаев заболеваний, из которых 3 случая закончились летально. В Колумбии зарегистрировано около 10 случаев заболеваний, которые также связаны с вынужденной миграцией населения из стран, где регистрируются случаи заболевания дифтерией [36].

Наиболее тяжелое положение сложилось также в Йемене и Бангладеш, где в 2017 г. начался интенсивный рост заболеваемости [21, 22].

Иммунитет носит антимикробный и антитоксический характер. Однако защитную функцию выполняет именно антитоксический иммунитет, поскольку экзотоксин играет в патогенезе ведущую роль [37].

Для стабилизации заболеваемости на низком уровне необходим тщательный контроль за показателями привитости населения и состоянием антитоксического иммунитета – это главные факторы, определяющие благоприятную эпидемиологическую ситуацию [38–40].

С целью оценки состояния специфического иммунитета необходимо ежегодно проводить серологический мониторинг – исследование крови на наличие специфических защитных антител к дифтерии. Однако отсутствие программ и схем исследования при диагностике дифтерии и изучении напряженности иммунитета у населения не позволяет полноценно и качественно проводить бактериологический и иммунологический контроль в отношении дифтерии на местах [41, 42].

По решению ВОЗ (1993 г.) защитным титром считается уровень противодифтерийных антител в крови в титре 0,01 МЕ/мл, что соответствует титру РПГА 1:80–1:160 [37].

Для определения уровней антитоксических антител (АТ-АТ) в крови здоровых людей в России используют реакцию пассивной гемагглютинации (РПГА) с дифтерийным антигеном [37, 43, 44]. Эта реакция имеет свои преимущества, состоящие в простоте постановки, быстроте получения результатов и экономичности.

Для постановки реакции используется диагностический дифтерийный эритроцитарный антигенный. Диагностический представляет собой 3,0%-ю взвесь формализированных, танизированных эритроцитов барана, сенсibilизированных очищенным концентрированным дифтерийным анатоксином [45]. Поскольку срок годности эритроцитарных диагностических составляет 1 год, необходимо перед каждым проведением серологического исследования сывороток проверять активность препарата. Проверка проводится с контрольным антитоксином, приложенным к комплекту, либо используется национальный препарат дифтерийного антитоксина, очищенного ферментацией и специфической сорбцией диагностический сухой. Допускается исследование контрольной сыворотки (лабораторный образец) с известным титром дифтерийных антител. Если диагностический выявляет в сыворотке антитела в концентрации на 2–3 разведения ниже, чем они в ней содержатся, то такой препарат не пригоден для дальнейшего исследования.

РПГА проводят в два этапа: подготовка к реакции и основной опыт. Ответ может быть получен на вторые сутки с момента поступления исследуемого материала в лабораторию [46].

Традиционно основным методом определения антитоксических противодифтерийных антител является кожная проба на кроликах или морских свинках. Однако при использовании данного метода результат можно получить только через 4–7 дней, что ограничивает его применение в клинической лаборатории, где результат должен быть получен в минимальные сроки [26].

В качестве второго стандартного метода принята реакция нейтрализации (РН) в культуре клеток Vero, поскольку она не имеет недостатков биологического теста, более стандартна и наглядна. Важнейшее патогенное свойство дифтерийного токсина – способность блокировать синтез белка в культивируемых клетках млекопитающих, в результате чего происходит гибель этих клеток. Это свойство используется для определения титров противодифтерийных антител в реакции нейтрализации с использованием клеточных культур, чувствительных к дифтерийному токсину [15].

Коэффициент корреляции результатов реакции нейтрализации с результатами классического метода составля-

ет 0,98. Реакция нейтрализации гораздо экономичнее, быстрее и проще в постановке. Однако достоверность результатов реакции нейтрализации во многом определяется стандартностью культуры клеток, токсинов и антитоксинов.

В реакции нейтрализации используется цветная проба, основанная на способности токсина изменять метаболизм зараженных клеток, что определяют по цвету индикатора, содержащегося в питательной среде. В непораженных токсинотерапевтических культурах клеток под влиянием выделяющихся продуктов клеточного метаболизма pH питательной среды сдвигается в кислую сторону, вызывая изменение цвета индикатора. В пораженных токсинотерапевтических культурах в результате дегенерации клеток их метаболическая активность подавляется и цвет фенолового красного не изменяется или изменяется частично. В реакции используется токсин 0,0002 Лf/мл и антитоксин 0,032 МЕ/мл. При постановке реакции применяют культуру клеток Vero, получаемую из лаборатории детских вирусных инфекций НИИЭМ им. Пастера, в концентрации $2,5 \times 10^5$ кл./мл. Содержание антитоксических антител определяют от 0,000125 МЕ/мл и выше.

Ряд зарубежных исследователей отмечает возможность получения ложноположительных данных и несовпадения результатов, полученных в реакции нейтрализации *in vivo* и методами *in vitro*. По данным ряда авторов, коэффициент корреляции между результатами, полученными в РПГА и реакции нейтрализации, составляет всего 0,6 [26].

В последние годы совершенствование иммунотехнологии позволило использовать иммуноферментные методы для определения антител, в том числе противодифтерийных.

Имуноферментный анализ (ИФА) – лабораторный иммунологический метод выявления антигенов и антител, основанный на определении комплексов «антиген–антитело» за счет введения в один из компонентов реакции ферментативной метки с последующей ее детекцией с помощью соответствующего субстрата, изменяющего свою окраску. Изменение цветности является соответственно и изменением оптической плотности, которая измеряется с помощью приборов [45].

Эти реакции отличаются стабильностью, быстротой, удобством в постановке. Широко применяется тест-система на основе твердофазного ИФА с адсорбированным в лунках планшета очищенным дифтерийным анатоксином. Конъюгатом служат иммуноглобулины (F(ab')₂-фрагменты) диагностические против IgG человека, аффинноочищенные, меченные пероксидазой хрена. Специальные компьютерные программы, дают возможность производить перерасчет показателей оптической плотности в показатели антитоксических международных единиц [26].

ИФА и РПГА также могут применяться для ускоренного выявления токсина в материале от больных дифтерией, носителей токсигенных коринебактерий дифтерии; от лиц, обследуемых с профилактической целью или по эпидемиологическим показаниям, а также в культурах, выделенных на разных этапах бактериологического исследования. Методы позволяют выдать ответ о наличии или отсутствии токсина в исследуемом материале на 1–3 суток раньше традиционных. Кроме того, они позволяют изучить уровень токсинообразования штаммов коринебактерий дифтерии. Использование жидкой питательной среды позволяет выявить токсин у сла-

ботоксигенных штаммов, продукцию которого не всегда представляется возможным уловить на плотной питательной среде при использовании реакции иммунопреципитации в агаре. Чувствительность ИФА и РПГА зависит от условий культивирования исследуемого материала [15].

В настоящее время разрабатываются молекулярно-генетические методы для лабораторного выявления *C. diphtheriae*. Имеющиеся на данный момент тест-системы для полимеразной цепной реакции не могут различить ген дифтерийного токсина токсигенных штаммов от измененного гена дифтерийного токсина нетоксигенных токснесущих штаммов *C. diphtheriae*, не способных продуцировать токсин из-за мутаций в этом гене. Это может привести к гипердиагностике. Поэтому их использование в лабораторной диагностике дифтерии может иметь только вспомогательное значение – поиск нетоксигенных токснесущих штаммов *C. diphtheriae* среди нетоксигенных штаммов.

Оценка величины истинной иммунной прослойки населения проводится на основании документов и результатов планового иммунологического контроля по реакции пассивной гемагглютинации или иммуноферментного анализа в индикаторных группах населения. Результаты, полученные при выборочном серологическом обследовании индикаторных групп, сравнивают с «эталонными» показателями, разработанными при массовых обследованиях привитых людей для каждой территории, области. Данные результаты не должны быть ниже эталонных, в противном случае проводится обследование группы или коллектива с низкими показателями иммунитета [17, 47].

Регулятором снижения и повышения заболеваемости дифтерией является уровень коллективного антитоксического иммунитета. Стабильно низкие показатели заболеваемости могут быть гарантированы при постоянном поддержании высокого (95–98%) охвата вакцинацией всего населения [48].

Резюмируя вышеизложенное, можно заключить, что основная роль в борьбе с дифтерией принадлежит повышению эффективности вакцинопрофилактики и серологического мониторинга. Методы РПГА и ИФА дают возможность быстро и точно проводить контроль качества иммунизации населения, а также выявлять дифтерийный токсин в материале, полученном от больных.

Информация о финансировании

Работа профинансирована ЗАО «ЭКОлаб».

Financial support

The work is funded by CJSC «EKOlab».

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests

The authors declare that there is no conflict of interest.

Литература

- World Health Organization. Reported immunization schedules by vaccine. Geneva: The Organization; 2018 [cited 2018 Oct 20].
- Santos LS, Sant'anna LO, Ramos JN, Ladeira EM, Stavracakis-Peixoto R, Borges LL, et al. Diphtheria outbreak in Maranhão, Brazil: microbiological, clinical and epidemiological aspects. *Epidemiol Infect.* 2015 Mar;143(4):791-8. DOI: 10.1017/S095026881400124
- Landazabal Garcia N, Burgos Rodríguez MM, Pastor D. Diphtheria outbreak in Cali, Colombia, August-October 2000. *Epidemiol Bull.* 2001 Sep;22(3):13-5.
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Diphtheria outbreak – Russian Federation, 1990-1993. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 1993 Nov 5;42(43):840-1, 847.
- World Health Organization. JRF supplementary questionnaire on surveillance. Geneva: The Organization; 2018 [cited 2018 Oct 20].
- Краева ЛА, Носков ФС, Ценева ГЯ. Качественные показатели антитоксических антител в оценке противодифтерийного иммунитета. *Медицинская иммунология.* 2005;7(2-3):274.
- Маркина СС, Максимова НМ, Тымчаковская ИМ, и др. Эпидемиологическая характеристика дифтерийной инфекции. *Здравоохранение Российской Федерации.* 1993;2:17-20.
- Инструкция «Эритроцитарный дифтерийный антигенный жидкий диагностический препарат производства «Биомед» им. И.И.Мечникова».
- Баранова НЮ, Аббасова ЛА, Воронцова ИВ. Серологический мониторинг за состоянием коллективного иммунитета к дифтерии отдельных групп населения в Рязанской области. *Инфекция и иммунитет. Материалы X съезда ВНПОЭМП (Москва, 12-13 апреля 2012 г.). М., 2012;2(1-2):240.*
- Каримов ИЗ, Горovenko MB, Пеньковская НА, Мидикари АС, Шмойлов ДК, Козловский ОА, и др. Уровень напряженности иммунитета к дифтерии и столбняку у населения Республики Крым. *Инфекция и иммунитет.* 2015;5(2):165-170.
- «Серологические методы диагностики и мониторинга дифтерийной инфекции». МР 3.1.2.0105-15. Методические рекомендации. М., 2016.
- Максимова НМ, Якимова ТН, Маркина СС, Яцковский КА, Адугозелов СЭ. Дифтерия в России в XXI веке. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика.* 2017;5(96):4-15.
- Носов СД. *Инфекционные болезни у детей в прошлом и настоящем.* Л.: Медицина, 1980.
- Краева ЛА, Алексеева ЕА, Беспалова ГИ. Комплексные лабораторные исследования на дифтерию на современном этапе. *Бактериология.* 2017;2(1):20-24. DOI: 10.20953/2500-1027-2017-1-20-24
- Васильев КГ, Савчук АИ. Клинико-эпидемиологические аспекты вакцинации против дифтерии. Первый конгресс педиатров-инфекционистов России. М., 2002, 26 с.
- Харсеева ГГ, Соловьёв МЮ, Айдинов ГВ, Ковалёв ЕВ, Алутина ЭЛ, Ненадская СА. Противодифтерийный антитоксический иммунитет у детского населения г. Ростова-на-Дону и Ростовской области. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика.* 2013;2(69):52-5.
- World Health Organization. World Health Organization expanded programme on immunization. WHA2757. Geneva: The Organization; 1974. p. 9-28.
- Цепелева ЛВ. Дифтерийная инфекция и поствакцинальный иммунитет у населения городов Волго-Вятского региона. Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. М., 2002.
- Edmunds WJ, Pebody RG, Aggerback H, Baron S, Berbers G, Conyn-van Spaendonck MA, et al. The sero-epidemiology of diphtheria in Western Europe. ESEN Project. European Sero-Epidemiology Network. *Epidemiol Infect.* 2000 Aug;125(1):113-25. DOI: 10.1017/s0950268899004161. Erratum in: *Epidemiol Infect* 2001 Apr;126(2):331.
- Markov AA. The characteristics of population immunity to measles and diphtheria in adolescent collectives. *Vrach Delo.* 1992;(8):54-56 (Eng. Abstr.)
- WHO: Vaccine preventable diseases. Vaccines monitoring system. Diphtheria reported cases, 2017 Jun.
- Чистякова ГГ. Дифтерия у взрослых: эпидемиология и вакцинопрофилактика. Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. М., 2002.
- Dandinarasaiah M, Vikram BK, Krishnamurthy N, Chetan AC, Jain A. Diphtheria Re-emergence: Problems Faced by Developing Countries. *Indian J*

- Otolaryngol Head Neck Surg. 2013 Dec;65(4):314-8. DOI: 10.1007/s12070-012-0518-5
24. Методические указания. МУК 4.2.3065-13 «Лабораторная диагностика дифтерийной инфекции».
 25. Филатов НН, Лыткина ИН, Чистякова ГГ. Стратегия и тактика вакцинопрофилактики инфекционных болезней в Москве. Эпидемиология и инфекционные болезни. 1999;6:6-10.
 26. Санитарно-эпидемиологические правила. СП 3.1.2.1108-02 «Профилактика дифтерии».
 27. Наркевич МИ, Тымчаковская ИМ. Инфекционная заболеваемость в России. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 1997;3:48-52.
 28. Berger A, Meinel DM, Schaffer A, Ziegler R, Pitteroff J, Konrad R, Sing A. A case of pharyngeal diphtheria in Germany, June 2015. Infection. 2016 Oct;44(5):673-5. DOI: 10.1007/s15010-016-0882-2
 29. Dittmann S, Wharton M, Vitek C, Ciotti M, Galazka A, Guichard S, et al. Successful control of epidemic diphtheria in the states of the Former Union of Soviet Socialist Republics: lessons learned. J Infect Dis. 2000 Feb;181 Suppl 1:S10-22. DOI: 10.1086/315534
 30. Марданлы СГ, Симонов ВВ, Авдонина АС. Производство наборов реагентов для клинической лабораторной диагностики иммунохимическими методами. Орехово-Зуево: ГГТУ; 2017, 208 с.
 31. Эпидемиологическая справка. №1/2020. ВОЗ. Европейское региональное бюро. Эпидемиологическая оценка отдельных заболеваний, предотвращаемых вакцинацией.
 32. Маркина СС, Тымчаковская ИМ, Максимова НМ, и др. Эпидемический процесс дифтерийной инфекции в РСФСР в условиях внедрения эпидемиологического надзора. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 1989;5:38-42.
 33. Методические указания. 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)». (Утв. Роспотребнадзором 15.07.2011).
 34. WHO: Vaccine-preventable disease monitoring system, 2013 global summary. Global and regional immunization profile: European Region. Geneva: World Health Organization; 2013.
 35. Методические указания. Диагностика, лечение и профилактика острого тонзиллита и дифтерии в Вооруженных Силах Российской Федерации. М., 2019.
 36. Dravid MN, Joshi SA. Resurgence of diphtheria in Malegaon & Dhule regions of north Maharashtra. Indian J Med Res. 2008 Jun;127(6):616-7.
 37. Онищенко ГГ. Эпидемиологический надзор за дифтерийной инфекцией. Методические указания МЗ РФ. 2001.
 38. Борисова ИЭ, Батаева СЕ, Шабалина СВ. Эпидемиологическая ситуация по дифтерии на современном этапе. Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2008;5(42):15-21.
 39. Покровский ВИ, Шабалина СВ. Иммунобиотехнология и проблемы современной эпидемиологии. Жур. Всесоюз. хим. общества. 1989;XXXIV(1):3-11.
 40. Семенов ТА, Русакова ЕВ, Щербakov АГ, Гайдаренко АД, Готвянская ТП, Евсеева ЛФ, и др. Состояние популяционного иммунитета в отношении управляемых инфекций (по материалам банка сывороток крови). Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы. 2012;6:10-15.
 41. Zakikhany K, Efstratiou A. Diphtheria in Europe: current problems and new challenges. Future Microbiol. 2012 May;7(5):595-607. DOI: 10.2217/fmb.12.24
 42. Далматов ВВ, Стасенко ВЛ. Мониторинг, надзор и контроль в эпидемиологической деятельности. Инфекция и иммунитет. Материалы X съезда ВНПОЭМП (12-13 апреля 2012 г.). М., 2012;2(1-2):24,25.
 43. Казарова ВИ. Состояние напряженности противодифтерийного иммунитета в Западно-Сибирском регионе России. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 1998;3:75-76.
 44. Онищенко ГГ. Эпидемиологическая обстановка по инфекционным заболеваниям, управляемым средствами специфической профилактики, и основные направления профилактики этой группы заболеваний в РФ. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 1998;1:35-39.
 45. Корженкова МП, Малышев НА, Максимова НМ, Маркина СС, Черкасова ВВ, Шестакова ОМ, Базарова МВ. Уроки дифтерии. БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение. 2011;2:30-35.
 46. Харсеева ГГ, Соловьёв МЮ, Ковалёв ЕВ, Айдинов ГВ, Ненадская СА, Алутина ЭЛ, и др. Дифтерийная инфекция: характеристика эпидпроцесса в г. Ростове-на-Дону и Ростовской области. Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2014;5(78):36-39.
 47. European Centre for Disease Prevention and Control. Vaccine Scheduler: vaccine schedules in all countries of the European Union. Stockholm: The Centre; 2018 [cited 2018 Oct 20].
 48. Кармазин И. С пеной у рта: почему на Украину возвращаются смертоносные болезни [Электронный ресурс]. Известия. Доступно по: <https://iz.ru/937975/igor-karmazin/s-penoi-u-rta-na-ukraine-nachalas-epidemiia-smertonosnoi-bolezni>. (дата обращения 01.06.2021).

References

1. World Health Organization. Reported immunization schedules by vaccine. Geneva: The Organization; 2018 [cited 2018 Oct 20].
2. Santos LS, Sant'anna LO, Ramos JN, Ladeira EM, Stavracakis-Peixoto R, Borges LL, et al. Diphtheria outbreak in Maranhão, Brazil: microbiological, clinical and epidemiological aspects. Epidemiol Infect. 2015 Mar;143(4):791-8. DOI: 10.1017/S095026881400124
3. Landazabal Garcia N, Burgos Rodríguez MM, Pastor D. Diphtheria outbreak in Cali, Colombia, August-October 2000. Epidemiol Bull. 2001 Sep;22(3):13-5.
4. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Diphtheria outbreak – Russian Federation, 1990–1993. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 1993 Nov 5;42(43):840-1, 847
5. World Health Organization. JRF supplementary questionnaire on surveillance. Geneva: The Organization; 2018 [cited 2018 Oct 20].
6. Kraeva LA, Noskov FS, Tseneva GYa. Kachestvennye pokazateli antitoksicheskikh antitel v otsenke protivodifferiinoogo immuniteta. Medical Immunology (Russia). 2005;7(2-3):274. (In Russian).
7. Markina SS, Maksimova NM, Tymchakovskaya IM, et al. Epidemiologicheskaya kharakteristika differiinoi infektsii. Health Care of the Russian Federation. 1993;2:17-20.
8. Instruction "Erythrocyte diphtheria antigenic liquid diagnosticum produced by "Biomed" named after I.I.Mechnikov". (In Russian).
9. Baranova NYu, Abbasova LA, Vorontsova IV. Serological monitoring of the state of collective immunity to diphtheria of individual population groups in the Ryazan region. Infection and immunity. Proceedings of the X Congress of the All-Russian Scientific and Practical Society of Epidemiologists, Microbiologists and Parasitologists (Moscow, 12-13 April 2012). Moscow, 2012;2(1-2):240. (In Russian).
10. Karimov IZ, Gorovenko MV, Penkovskaya NA, Midikari AS, Shmoylov DK, Kozlovsky OA, Los-Yatsenko NG. The level of intensity of immunity to diphtheria and tetanus among the population of the republic of Crimea. Infektsiya i immunitet (Russian Journal of Infection and Immunity). 2015;5(2):165-170. (In Russian).
11. "Serological methods of diagnosis and monitoring of diphtheria infection". МР 3.1.2.0105-15. Methodological recommendations. Moscow, 2016. (In Russian).
12. Maximova NM, Yakimova TN, Markina SS, Yatskovsky KA, Aduguzelov SE. Diphtheria in Russia in the 21st century. Epidemiology and Vaccinal Prevention. 2017;5(96):4-15. (In Russian).

13. Nosov SD. Infectious diseases in children in the past and present. L.: "Meditsina" Publ., 1980. (In Russian).
14. Kraeva LA, Alekseeva EA, Bespalova GI. Comprehensive laboratory studies of diphtheria at the present time. *Bacteriology*. 2017;2(1):20-24. DOI: 10.20953/2500-1027-2017-1-20-24. (In Russian).
15. Vasiliev KG, Savchuk AI. Clinical and epidemiological aspects of vaccination against diphtheria. The First Congress of Pediatric Infectious Diseases Specialists in Russia. Moscow, 2002, 26 p. (In Russian).
16. Kharseeva GG, Solovyev MYu, Aydinov GV, Kovalev EV, Alutina EL, Nenadskaya SA. Antidiphtheria antitoxic immunity in the population of children in Rostov-on-Don and Rostov region. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2013;2(69):52-5. (In Russian).
17. World Health Organization. World Health Organization expanded programme on immunization. WHA2757. Geneva: The Organization; 1974. p. 9-28.
18. Tsepeleva LV. Diphtheria infection and post-vaccination immunity in the population of the cities of the Volga-Vyatka region. Diss. Moscow, 2002. (In Russian).
19. Edmunds WJ, Pebody RG, Aggerback H, Baron S, Berbers G, Conyn-van Spaendonck MA, et al. The sero-epidemiology of diphtheria in Western Europe. ESEN Project. European Sero-Epidemiology Network. *Epidemiol Infect*. 2000 Aug;125(1):113-25. DOI: 10.1017/s0950268899004161. Erratum in: *Epidemiol Infect* 2001 Apr;126(2):331.
20. Markov AA. The characteristics of population immunity to measles and diphtheria in adolescent collectives. *Vrach Delo*. 1992;(8):54-56 (Eng. Abstr.)
21. WHO: Vaccine preventable diseases. Vaccines monitoring system. Diphtheria reported cases, 2017 Jun.
22. Chistyakova GG. Diphtheria in adults: epidemiology and vaccination prevention. Diss. Moscow, 2002. (In Russian).
23. Dandinarasiah M, Vikram BK, Krishnamurthy N, Chetan AC, Jain A. Diphtheria Re-emergence: Problems Faced by Developing Countries. *Indian J Otolaryngol Head Neck Surg*. 2013 Dec;65(4):314-8. DOI: 10.1007/s12070-012-0518-5
24. Methodological guidelines. MUC 4.2.3065-13 "Laboratory diagnostics of diphtheria infection". (In Russian).
25. Filatov NN, Lytkina IN, Chistyakova GG. Strategy and tactics of vaccination of infectious diseases in Moscow. *Epidemiology and Infectious Diseases (Epidemiologiya i Infektsionnye Bolezni)*. 1999;6:6-10. (In Russian).
26. Sanitary and epidemiological rules. SP 3.1.2.1108-02 "Prevention of diphtheria".
27. Narkevich MI, Tymchakovskaya IM. Infectious morbidity in Russia. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 1997;3:48-52. (In Russian).
28. Berger A, Meinel DM, Schaffer A, Ziegler R, Pitteroff J, Konrad R, Sing A. A case of pharyngeal diphtheria in Germany, June 2015. *Infection*. 2016 Oct;44(5):673-5. DOI: 10.1007/s15010-016-0882-2
29. Dittmann S, Wharton M, Vitek C, Ciotti M, Galazka A, Guichard S, et al. Successful control of epidemic diphtheria in the states of the Former Union of Soviet Socialist Republics: lessons learned. *J Infect Dis*. 2000 Feb;181 Suppl 1:S10-22. DOI: 10.1086/315534
30. Mardany S G, Simonov V V, Avdonina AS. Production of reagent kits for clinical laboratory diagnostics by immunochemical methods. Orekhovo-Zuyevo, 2017, 208 p. (In Russian).
31. Epidemiological reference. No. 1/2020. WHO. Regional Office for Europe. Epidemiological assessment of individual diseases prevented by vaccination. (In Russian).
32. Markina SS, Tymchakovskaya IM, Maksimova NM, et al. Epidemicheskii protsess differiinoi infektsii v RSFSR v usloviyakh vnedreniya epidemiologicheskogo nadzora. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 1989;5:38-42. (In Russian).
33. Methodological guidelines. MU 3.1.2943-11.3.1. "Prevention of infectious diseases. Organization and conduct of serological monitoring of the state of collective immunity to infections controlled by means of specific prevention (diphtheria, tetanus, whooping cough, measles, rubella, mumps, polio, hepatitis B). " (Approved by Rospotrebnadzor on 15.07.2011). (In Russian).
34. WHO: Vaccine-preventable disease monitoring system, 2013 global summary. Global and regional immunization profile: European Region. Geneva: World Health Organization; 2013.
35. Methodological guidelines. Diagnosis, treatment and prevention of acute tonsillitis and diphtheria in the Armed Forces of the Russian Federation. Moscow, 2019. (In Russian).
36. Dravid MN, Joshi SA. Resurgence of diphtheria in Malegaon & Dhule regions of north Maharashtra. *Indian J Med Res*. 2008 Jun;127(6):616-7.
37. Onishchenko G. Epidemiological surveillance of diphtheria infection. Methodological guidelines of the Ministry of Health of the Russian Federation. 2001. (In Russian).
38. Borisova IE, Batueva SE, Shabalina SV. The epidemiological situation of diphtheria at the present stage. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2008;5(42):15-21. (In Russian).
39. Pokrovskii VI, Shabalina SV. Immunobiotechnologiya i problemy sovremennoi epidemiologii. *Zhur. Vsesoyuzn. khim. obshchestva*. 1989;XXXIV(1):3-11. (In Russian).
40. Semenenko TA, Rusakova EV, Shcherbakov AG, Gaidarenko AD, Gotvyanskaya TP, Evseyeva LF, et al. Herd immunity against controlled infections (according to the materials of the serum bank). *Èpidemiologiya i infektsionnye bolezni. Aktual'nye voprosy (Epidemiology and Infectious Diseases. Current Items)*. 2012;6:10-15. (In Russian).
41. Zakikhany K, Efstratiou A. Diphtheria in Europe: current problems and new challenges. *Future Microbiol*. 2012 May;7(5):595-607. DOI: 10.2217/fmb.12.24
42. Dalmatov VV, Stasenkov VL. Monitoring, supervision and control in epidemiological activities. Infection and immunity. Proceedings of the X Congress of the All-Russian Scientific and Practical Society of Epidemiologists, Microbiologists and Parasitologists (Moscow, 12-13 April 2012). Moscow, 2012;2(1-2):p.24,25. (In Russian).
43. Kazarova VI. The state of anti-diphtheria immunity in the West Siberian region of Russia. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 1998;3:75-76. (In Russian).
44. Onishchenko GG The epidemiological situation of infectious diseases controlled by means of specific prevention, and the main directions of prevention of this group of diseases in the Russian Federation. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 1998;1:35-39. (In Russian).
45. Korzhenkova MP, Malyshev NA, Maksimova NM, Markina SS, Cherkasova VV, Shestakova OM, Bazarova MV. The lessons of diphtheria. *BIOpreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2011;2:30-35. (In Russian).
46. Kharseeva GG, Solovjev MYu, Kovalev EV, Ajdinov GV, Nenadskaya SA, Alutina EL, et al. Diphtheriae infection: characteristic of epidemic process in Rostov-on-Don and Rostov region. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2014;5(78):36-39. (In Russian).
47. European Centre for Disease Prevention and Control. Vaccine Scheduler: vaccine schedules in all countries of the European Union. Stockholm: The Centre; 2018 [cited 2018 Oct 20].
48. Karmazin I. Why deadly diseases are returning to Ukraine [Electronic resource]. *Izvestia*. Available at: <https://iz.ru/937975/igor-karmazin/s-penoi-u-rta-na-ukraine-nachalas-epidemiia-smertonosnoi-bolezni> (In Russian).