

ГЕНОТИПИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ШТАММОВ *BORDETELLA PERTUSSIS* — КАНДИДАТОВ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ КОКЛЮШНОГО КОМПОНЕНТА ВАКЦИННЫХ ПРЕПАРАТОВ (СООБЩЕНИЕ I)

О. Ю. Борисова^{1,3}✉, И. Ю. Андриевская¹, А. С. Пименова¹, Н. Т. Гадуа¹, И. А. Чагина¹, А. Б. Борисова¹, А. В. Чаплин^{1,3}, И. А. Алексеева², Л. И. Кафарская³

¹ Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Г. Н. Габричевского, Москва, Россия

² Научный центр экспертизы средств медицинского применения Минздрава России, Москва, Россия

³ Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова, Москва, Россия

Вакцинация является эффективным средством предупреждения заболевания коклюшной инфекцией. Целью работы было усовершенствование вакцинных препаратов в РФ, в том числе актуализация производственных вакцинных штаммов. Изучали штаммы *B. pertussis*, выделенные в г. Москве, Воронежской, Новосибирской, Ульяновской и Челябинской областях, и восемь производственных штаммов для адсорбированной коклюшно-дифтерийно-столбнячной (АКДС) вакцины. Для генотипирования использовали мультилокусное антигенное сиквенс-типирование (MAST) и полногеномное мультилокусное сиквенс-типирование (wgMLST). Изучены культурально-морфологические, ферментативные, серологические и генотипические свойства штаммов *B. pertussis* — кандидатов в производственные вакцинные штаммы и проведен сравнительный анализ генотипических свойств этих штаммов и производственных вакцинных штаммов *B. pertussis* для вакцины АКДС. Кандидатные штаммы являются представителями четырех генотипов — *ptxA1/ptxB2/ptxC2/ptxP3/fim2-2/fim3-2/prm2*, *ptxA1/ptxB2/ptxC2/ptxP3/fim2-2/fim3-2/prm9*, *ptxA1/ptxB2/ptxC2/ptxP3/fim2-1/fim3-1/prm1* и *ptxA1/ptxB2/ptxC2/ptxP3/fim2-2/fim3-1/prm2*. Производственные вакцинные штаммы принадлежали к другим шести генотипам: *ptxA2/ptxB1/ptxC1/ptxP1/fim2-1/fim3-1/prm1*, *ptxA2/ptxB2/ptxC1/ptxP2/fim2-1/fim3-1/prm1*, *ptxA4/ptxB1/ptxC1/ptxP2/fim2-1/fim3-1/prm1*, *ptxA2/ptxB2/ptxC1/ptxP1/fim2-1/fim3-1/prm1*, *ptxA4/ptxB2/ptxC1/ptxP2/fim2-1/fim3-1/prm1* и *ptxA1/ptxB2/ptxC1/ptxP1/fim2-1/fim3-1/prm1*. С помощью wgMLST установлена принадлежность всех кандидатных штаммов *B. pertussis* к ST2.

Ключевые слова: *Bordetella pertussis*, вакцинные препараты, генотипирование, мультилокусное антигенное сиквенс-типирование

Вклад авторов: О. Ю. Борисова — молекулярно-генетические исследования, анализ данных, анализ литературы, подготовка рукописи; И. Ю. Андриевская — молекулярно-генетические исследования, анализ данных, подготовка рукописи; А. С. Пименова, Н. Т. Гадуа, И. А. Чагина, И. А. Алексеева — микробиологические исследования, подготовка рукописи; А. Б. Борисова, Л. И. Кафарская — анализ литературы, анализ данных, подготовка рукописи; А. В. Чаплин — биоинформатический и филогенетический анализ, подготовка рукописи.

✉ **Для корреспонденции:** Ольга Юрьевна Борисова
ул. Адмирала Макарова, д. 10, 125212, г. Москва, Россия; olgborisova@mail.ru

Статья получена: 09.04.2024 **Статья принята к печати:** 24.04.2024 **Опубликована онлайн:** 30.04.2024

DOI: 10.24075/vrgmu.2024.017

GENOTYPIC CHARACTERISTICS OF *BORDETELLA PERTUSSIS*, CANDIDATE STRAINS FOR PRODUCTION OF PERTUSSIS COMPONENT OF VACCINES (STATEMENT I)

Borisova OYu^{1,3}✉, Andrievskaya IYu¹, Pimenova AS¹, Gadua NT¹, Chagina IA¹, Borisova AB¹, Chaplin AV^{1,3}, Alekseeva IA², Kafarskaya LI³

¹ Gabrichevsky Research Institute for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia

² Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products, Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

³ Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

Vaccination is an effective means of preventing pertussis infection. The purpose of this work was to improve vaccines available in the Russian Federation in general and actualize vaccine strains used for the production thereof in particular. We studied *B. pertussis* strains isolated in Moscow, Voronezh, Novosibirsk, Ulyanovsk and Chelyabinsk regions, and eight production strains part of the adsorbed diphtheria-pertussis-tetanus (DPT) vaccine. Multilocus antigenic sequence typing (MAST) and whole genome multilocus sequence typing (wgMLST) were used for genotyping. We studied cultural morphological, enzymatic, serological, and genotypic properties of the candidate *B. pertussis* strains, and compared their genotypic properties to those of *B. pertussis* vaccine strains from the current composition of the DPT vaccine. Candidate strains belong to four genotypes: *ptxA1/ptxB2/ptxC2/ptxP3/fim2-2/fim3-2/prm2*, *ptxA1/ptxB2/ptxC2/ptxP3/fim2-2/fim3-2/prm9*, *ptxA1/ptxB2/ptxC2/ptxP3/fim2-1/fim3-1/prm1* and *ptxA1/ptxB2/ptxC2/ptxP3/fim2-2/fim3-1/prm2*. Current vaccine strains were from other six genotypes: *ptxA2/ptxB1/ptxC1/ptxP1/fim2-1/fim3-1/prm1*, *ptxA2/ptxB2/ptxC1/ptxP2/fim2-1/fim3-1/prm1*, *ptxA4/ptxB1/ptxC1/ptxP2/fim2-1/fim3-1/prm1*, *ptxA2/ptxB2/ptxC1/ptxP1/fim2-1/fim3-1/prm1*, *ptxA4/ptxB2/ptxC1/ptxP2/fim2-1/fim3-1/prm1* and *ptxA1/ptxB2/ptxC1/ptxP1/fim2-1/fim3-1/prm1*. With the help of wgMLST, we established affiliation of all candidate strains of *B. pertussis* to ST2.

Keywords: *Bordetella pertussis*, vaccines, genotyping, multilocus antigenic sequence typing

Author contribution: Borisova OYu — molecular genetic research, data analysis, literature analysis, manuscript authoring; Andrievskaya IYu — molecular genetic research, data analysis, manuscript authoring; Pimenova AS, Gadua NT, Chagina IA, Alekseeva IA — microbiological research, manuscript authoring; Borisova AB, Kafarskaya LI — literature analysis, data analysis, manuscript authoring; Chaplin AV — bioinformatic and phylogenetic analysis, manuscript authoring.

✉ **Correspondence should be addressed:** Olga Yu. Borisova
Admiral Makarova, 10, 125212, Moscow, Russia; olgborisova@mail.ru

Received: 09.04.2024 **Accepted:** 24.04.2024 **Published online:** 30.04.2024

DOI: 10.24075/brsmu.2024.017

Коклюшная инфекция является опасным, иногда смертельным заболеванием — в первую очередь, для новорожденных и детей первых месяцев жизни [1–3]. Актуальность исследования коклюша обусловлена ростом случаев заболеваемости, протеканием инфекции в тяжелых клинических формах, особенно у детей до одного

года, а также наличием летальных исходов. В 2023 г. в РФ зарегистрировано 52 727 случаев коклюша (показатель заболеваемости — 36,2 на 100 тыс. населения), что в 16,4 раза выше уровня заболеваемости в 2022 г. (2,2 на 100 тыс. населения), и в 7,5 раз выше среднееголетнего показателя заболеваемости (4,8 на 100 тыс. населения).

Из них более 80% были дети до 14 лет (данные Референс-центра по мониторингу за коклюшем и дифтерией в ФБУН МНИИЭМ им. Г. Н. Габричевского Роспотребнадзора по анализу формы № 2 «Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях») [4–6].

Плановая вакцинация против коклюша, проводимая на первом году жизни ребенка, приводит к выработке у него поствакцинального иммунитета и невосприимчивости к инфекции [1, 3]. К 6–7 годам поствакцинальный иммунитет ослабевает. Поступление в школу связано с новыми контактами в детских коллективах, в которых возможно присутствие инфицированных детей. В таких коллективах наиболее высока вероятность заболевания непривитых, а также детей, утративших поствакцинальный иммунитет (последние, как правило, переносят коклюш в легкой форме с нетипичным кашлем) [7–9]. Показано, что 7–17% случаев продолжительного кашля у подростков связаны с инфекцией *B. pertussis*. По данным разных авторов, именно дети школьного возраста в 75% случаев становятся источниками инфекции *B. pertussis* для детей первого года жизни [9, 10]. Поэтому вакцинация является эффективным средством предупреждения заболевания коклюшной инфекцией у детей и особенно младенцев.

Рост заболеваемости коклюшем вызывает озабоченность специалистов относительно эффективности существующей стратегии профилактики [11, 12]. Наиболее вероятны следующие причины роста заболеваемости коклюшем: большое число случаев отказа родителей от вакцинации своих детей в возрасте до года и, следовательно, запаздывание начала прививок [2, 6]; накопление неиммунных лиц среди детей старших возрастных групп; утрата специфического иммунитета у взрослых [10, 13]; генотипическая изменчивость возбудителя под селективным давлением вакцинации [14–23]; распространение *B. pertussis* бессимптомными носителями [24]. Кроме того, внедрение в широкую практику ПЦР-исследований позволило значительно увеличить число выявленных случаев коклюша, в том числе у лиц с легкими, стертыми формами инфекции, а также при обследовании групповых случаев заболевания в очагах (неопубликованные данные Референс-центра по мониторингу за коклюшем и дифтерией).

Уже более 60 лет для вакцинации используют цельноклеточный коклюшный компонент комбинированной вакцины АКДС. Однако при своей высокой эффективности цельноклеточная вакцина обладает реактогенностью, что в свою очередь предопределило разработку бесклеточных вакцин, введенных в мировую практику здравоохранения со второй половины 1990-х гг. Такие вакцины содержат от 1 до 5 очищенных коклюшных антигенов (коклюшный токсин (РТ), филаментозный геммаглоулинин (FHA), пертактин (PRN), фимбриии 2-го и 3-го типа (*Fim2* и *Fim3*)). Тем не менее, вакцинация населения не предотвращает в полной мере распространение коклюша, которое отмечают сейчас во многих странах мира. С 2000-х гг. на фоне широкого применения бесклеточной коклюшной вакцины в странах Европы, Японии, США, Австралии заболеваемость коклюшем стала постепенно расти, отмечались эпидемические вспышки [https://www.who.int/health-topics/pertussis#tab=tab_1]. Как считает ряд авторов, существует корреляция между применением бесклеточных вакцин и ростом заболеваемости коклюшем, что поднимает целый ряд вопросов относительно эффективности данных вакцин и их способности контролировать заболеваемость [11, 12, 22, 23].

Многочисленные исследования, проводимые по мониторингу возникновения новых штаммов *B. pertussis*, показали, что появляются штаммы *B. pertussis* с генетическими мутациями, изменяющими структуру протективных антигенов, способные уклоняться от иммунной защиты [14–23]. Мультилокусное антигенное сиквенс-типирование (MAST) основано на изучении изменений в популяции *B. pertussis*. Схема генотипирования включает изучение последовательностей генов, кодирующих протективные антигены, в том числе входящих в состав современных бесклеточных вакцин: *ptxA* (кодирует S1-субъединицу коклюшного токсина), *ptxB* (кодирует S2-субъединицу коклюшного токсина), *ptxC* (кодирует S3-субъединицу коклюшного токсина), *prn* (кодирует адгезивный белок пертактин), *fim2* и *fim3* (кодируют фимбриальные белки *Fim2* и *Fim3* соответственно). Промотор коклюшного токсина *ptxP* также включен для типирования изолятов, поскольку установлено, что аллель *ptxP3* усиливает выработку токсина [25].

На территории РФ используют как цельноклеточную, так и бесклеточные коклюшные вакцины, входящие в состав комбинированных препаратов. Таким образом, целью данного исследования было изучение биологических и генотипических свойств штаммов *B. pertussis*, кандидатов в производственные вакцинные штаммы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В рамках работы Референс-центра по мониторингу за коклюшем и дифтерией в Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Г. Н. Габричевского Роспотребнадзора поступают бактериальные штаммы бордетелл и клинические образцы, полученные от больных коклюшем, согласно нормативным документам РФ, для верификации и генотипирования *B. pertussis*. Среди верифицированных штаммов нами было отобрано восемь штаммов *B. pertussis* в I фазе роста (гладкая форма) с хорошими ростовыми свойствами, которые были изучены согласно нормативным документам РФ по морфологическим, культуральным, ферментативным, серологическим и генотипическим свойствам с целью подбора кандидатных штаммов в состав коклюшных вакцин. Одним из критериев отбора было также выделение штаммов *B. pertussis* из различных регионов РФ.

Штаммы *B. pertussis* были выделены от больных коклюшем разного возраста в период 2016–2020 гг. в г. Москве, Воронежской, Новосибирской, Ульяновской и Челябинской областях. Для сравнения использовали восемь вакцинных штаммов из коллекции ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России (Москва), используемых в производстве коклюшного компонента АКДС-вакцины (табл. 1).

Культивирование штаммов *B. pertussis* проводили на плотной питательной среде Бордетелагар (ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболенск, Россия) в течение 72 ч при + (36–37) °С. Идентификацию микроорганизмов проводили по культурально-морфологическим, тинкториальным и биохимическим свойствам. Культурально-морфологические свойства выросших колоний оценивали с помощью стереоскопического микроскопа SteREO Discovery V12 (Carl Zeiss; Германия) (объектив PlanApo S 1,0 × FWD 60 мм; окуляр Pl 10 × 23 Vg foc). Тинкториальные свойства изучали путем окраски по Граму («ЭКОлаб»; Россия). Окрашенные мазки просматривали с помощью светового микроскопа

Таблица 1. Генотипическая характеристика производственных вакцинных штаммов *B. pertussis*

№	№ перв.	Год, место выделения	Год внедрения в производство	Серовар	<i>ptxA</i>	<i>ptxB</i>	<i>ptxC</i>	<i>ptxP</i>	<i>prn</i>	<i>fim2</i>	<i>fim3</i>
1	305	Россия, 1957	1958	1.2.0	2	1	1	1	1	1	1
2	312	Россия, 1959	1962	1.2.3	2	2	1	2	1	1	1
3	475	Россия, 1966	1967	1.2.3	4	1	1	2	1	1	1
4	267	Россия, 1967	1968	1.0.3	2	1	1	1	1	1	1
5	38	Россия, 1966	1967	1.2.0	2	2	1	1	1	1	1
6	39	Россия, 1970	1980	1.2.3	2	2	1	1	1	1	1
7	345	Россия, 1959	1962	1.2.3	4	2	1	2	1	1	1
8	703	Россия, 1970	1976	1.0.3	1	2	1	1	1	1	1

Axio Scope A1 (объектив EC Plan-NEOFLUAR 100 x 1,3; окуляр PI 10 x 23 Br foc (Carl Zeiss; Германия)).

Идентификацию штаммов *B. pertussis* по биохимическим свойствам проводили согласно нормативным документам [26].

Антигенную структуру (серотипы) штаммов оценивали в развернутой реакции агглютинации с использованием сывороток коклюшных к агглютиногенам 1,2,3, адсорбированных для реакции агглютинации (РА) сухих («НПО Микроген»; Россия).

Было проведено полногеномное секвенирование восьми производственных штаммов *B. pertussis*, используемых для производства коклюшного компонента АКДС-вакцины в настоящее время, и восьми штаммов *B. pertussis*, выбранных по микробиологическим и ростовым характеристикам как кандидатные. Генотипирование штаммов *B. pertussis* проводили по двум схемам: с использованием MAST путем анализа последовательности генов, кодирующих протективные антигены возбудителя — *ptxA*, *ptxB*, *ptxC*, *ptxP*, *prn*, *fim2* и *fim3*, согласно опубликованной рекомендацией [27] с использованием баз данных GenBank и BIGSdb, и полногеномного мультилокусного сиквенс-типирования (wgMLST).

Выделение геномной ДНК из бактериальной культуры проводили с использованием набора «ExtractDNA Blood&Cells» («Евроген»; Россия). Полногеномное секвенирование осуществляли на платформе GenoLab (GeneMind Biosciences; Китай) с использованием наборов «SG GM» (Raissol; Россия) согласно рекомендациям производителя. Сборку осуществляли с помощью SPAdes-3.15.4, проверку качества сборки — с использованием QUAST 5.2.0 (<https://github.com/ablab/quast>; Россия). Выявление аллелей интересующих генов проводили на сервере BIGSdb. В качестве сравнения полученных нуклеотидных последовательностей при MAST использовали следующие номера референсных генов: ген *ptxA* (*ptxA1* (AJ245366), *ptxA2* (AJ245367), *ptxA4* (AJ245368)); ген *ptxB* (HM185483.1) (*ptxB1*, *ptxB2*); ген *ptxC* (AJ420987) (*ptxC1* (M13223), *ptxC2* (AJ420987)); промотор коклюшного токсина *ptxP* (*ptxP1* (FN252323.1), *ptxP2* (FN252322.1), *ptxP3* (FN252324.1)); ген *fim2* (*fim2-1* (KT194049), *fim2-2* (AJ420988)); ген *fim3* (*fim3-1* (X51543.1) и *fim3-2* (AY464180.1)); ген *prn* (*prn1* (AJ011091.1), *prn2* (AJ011092.1), *prn9* (AJ315611.1)). Для построения дерева на основе полногеномного мультилокусного сиквенс-типирования (wgMLST) поиск аллелей осуществляли программным обеспечением ruMLST 2.1.65 (<https://github.com/bvalot/pyMLST/>; Франция). В качестве штаммов сравнения использовали все полные геномы штаммов сиквенс-типа ST2, доступные в публичной базе данных NCBI Refseq, а также штамм Tohama I,

относящийся к ST1, в качестве внешнего представителя. Для каждого штамма составляли аллельный профиль на основе последовательностей 2974 генов, после чего считали матрицу дистанций, отражающую количество несовпадающих аллелей между штаммами. На основе матрицы дистанций осуществляли построение дерева по алгоритму Neighbor-Joining в программном обеспечении rapidNJ 2.3.2 (<https://github.com/somme89/rapidNJ>; Дания).

Из описанного выше дерева были взяты две клады, одна из которых состояла целиком из штаммов-кандидатов, описанных в данной работе, а другая включала в себя штамм 3–20 и пять штаммов сравнения. Для этих штаммов (а также Tohama I в качестве внешнего представителя) были взяты последовательности всех 2974 исследуемых генов, конкатенированы и использованы для построения дерева по алгоритму Neighbor-Joining с использованием модели дистанций Кимуры. Данный подход был применен для оценки уровней поддержки bootstrap в описанных выше кладах предыдущего дерева.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

При культивировании на Бордетелагаре через 72 ч роста все восемь исследуемых штаммов *B. pertussis* вырастали в виде выпуклых круглых блестящих гладких колоний серовато-белого цвета размером до 1,5 мм, имели маслянистую консистенцию и легко снимались петлей. При просмотре в стереоскопическом микроскопе SteREO Discovery V12c объективом PlanApo S 1,0 x FWD 60 мм; окуляром PI 10 x 23 Br foc (Carl Zeiss; Германия) отмечали узкий луч света («хвостик»), отходящий от центра колонии. При микроскопии идентифицировали мелкие хаотично расположенные грамотрицательные палочки. Все исследуемые штаммы *B. pertussis* обладали каталазной и оксидазной активностью, не росли на кровяном и мясо-пептонном агаре, не продуцировали ферменты тирозиназу и уреазу, не росли на цитратном агаре Симмонса, не редуцировали нитраты в нитриты, не обладали подвижностью. При изучении антигенной структуры все исследуемые штаммы *B. pertussis* характеризовались присутствием агглютиногена 1 (видовой признак) и агглютинировались адсорбированными типоспецифическими сыворотками к агглютиногенам 1,2,3 не ниже 1 : 280. Производственные вакцинные штаммы относились к трем разным серотипам — 1.2.0, 1.0.3 и 1.2.3, штаммы-кандидаты к двум серотипам — 1.0.3 и 1.2.0 (табл. 1, 2).

По последовательности гена *ptxA*, кодирующего S1-субъединицу коклюшного токсина, большинство производственных вакцинных штаммов *B. pertussis* соответствуют двум аллелям гена *ptxA* — *ptxA4* и *ptxA2*, и

Таблица 2. Генотипическая характеристика штаммов *B. pertussis* — кандидатов в вакцинные препараты

№	№ шт	Год выделения	Серотип	<i>ptxA</i>	<i>ptxB</i>	<i>ptxC</i>	<i>ptxP</i>	<i>prn</i>	<i>fim2</i>	<i>fim3</i>
1	16–16	2016	1.0.3	1	2	2	3	2	2	2
2	31–2–17	2017	1.0.3	1	2	2	3	9	2	2
3	25–16	2016	1.0.3	1	2	2	3	2	2	2
4	37–18	2018	1.2.0	1	2	2	3	2	2	1
5	30–18	2018	1.0.3	1	2	2	3	2	2	2
6	1–20	2020	1.0.3	1	2	2	3	2	2	2
7	2–20	2020	1.0.3	1	2	2	3	2	2	2
8	3–20	2020	1.2.0	1	2	2	3	2	2	1

только один производственный штамм *B. pertussis*, как и все современные кандидатные штаммы *B. pertussis* имеет *ptxA1* аллель. Аллель *ptxA1* отличается от других аллелей значимыми мутационными изменениями с заменой на аминокислотном уровне в Т-эпитопе S1-субъединицы коклюшного токсина (положения 204, 586, 668 и 969 нуклеотидной последовательности), имеющем непрерывную иммунодоминантную структуру, распознаваемую моноклональными (МкАТ) протективными m-антителами (mАТ). Аллель *ptxA1* отличается от аллеля *ptxA4* в положениях D68E, I228M и I232V и отличается от аллеля *ptxA2* в положении I228M [12, 27].

По последовательности гена *ptxB*, кодирующего S2-субъединицу коклюшного токсина, три производственных вакцинных штамма *B. pertussis* соответствуют аллелю *ptxB1* гена, большинство производственных штаммов (пять штаммов) и все современные кандидатные штаммы *B. pertussis* имеют аллель *ptxB2*. Аллель *ptxB1* отличается от аллеля *ptxB2* изменением G18S в S2-субъединице коклюшного токсина.

При изучении фрагментов гена *ptxC*, кодирующего S3-субъединицу В-комплекса коклюшного токсина, выявлены штаммы двух вариантов последовательности нуклеотидов — *ptxC1* и *ptxC2*. Все производственные вакцинные штаммы *B. pertussis* несли аллель *ptxC1*, в то время как все современные штаммы — кандидаты *B. pertussis* несли аллель *ptxC2*, который отличается от аллеля *ptxC1* заменой нуклеотида в положении C681T без изменений на аминокислотном уровне.

Хотя промотор коклюшного токсина *ptxP* не входит в компоненты бесклеточной вакцины, его обычно используют при типировании штаммов в качестве маркера возникшей генетической линии, которая распространилась по всему миру [14–23, 27]. Изучение последовательности промоторной области *ptxP* коклюшного токсина показало, что у изученных штаммов присутствуют три аллеля *ptxP* — *ptxP1*, *ptxP2* и *ptxP3*. Пять производственных вакцинных штаммов *B. pertussis* несли аллель *ptxP1* и три производственных штамма — аллель *ptxP2*. Все кандидатные штаммы *B. pertussis* имели аллель *ptxP3*. Аллель *ptxP3* отличается от *ptxP1* и *ptxP2* мутацией в положении –65 нуклеотидной последовательности, что обеспечивает повышенную прочность связывания с димером BvgA, приводящую к увеличению продукции коклюшного токсина [25].

При секвенировании гена *fim3*, кодирующего фимбриальный белок *Fim3*, идентифицировано два варианта нуклеотидной последовательности — *fim3-1* и *fim3-2*. У всех производственных вакцинных штаммов идентифицирован одинаковый аллель *fim3-1*, среди кандидатных штаммов *B. pertussis* у большинства штаммов (шесть штаммов) выявлен аллель *fim3-2* и у двух штаммов —

fim3-1. Последовательность нуклеотидов аллеля *fim3-2* отличается от последовательности нуклеотидов аллеля *fim3-1* значимой мутацией, которая сопровождается изменениями на аминокислотном уровне A87E в молекуле белка *Fim3*.

При секвенировании гена *fim2*, кодирующего фимбриальный белок *Fim2*, идентифицировано два варианта нуклеотидной последовательности: *fim2-1* и *fim2-2*. У всех производственных вакцинных штаммов выявлен одинаковый аллель *fim2-1*, у всех кандидатных штаммов *B. pertussis* — *fim2-2*. Выявленные аллельные варианты *fim2-1* и *fim2-2* различались изменениями R174K в молекуле белка *Fim2*.

Ген *prn* содержит около 2800 оснований, которые кодируют крупный адгезивный белок предшественник — 5'-конец гена кодирует часть предшественника пертактина, которая экспортируется из клетки, в то время как 3'-конец кодирует интегральный белок внешней мембраны, необходимый для этого экспорта. При секвенировании гена пертактина (*prn*) у изученных штаммов *B. pertussis* выявлено три варианта аллелей гена *prn* — *prn1*, *prn2* и *prn9*. Среди производственных вакцинных штаммов идентифицирован аллель *prn1*. У кандидатных штаммов *B. pertussis* идентифицированы *prn2* (у семи штаммов) и *prn9* (у одного штамма). Последовательности нуклеотидов аллелей *prn2* и *prn9* отличаются от последовательности у аллеля *prn1* наличием значимых мутационных изменений в шести положениях (828, 831, 832, 833, 834 и 836) нуклеотидной последовательности гена *prn* с заменами на аминокислотном уровне — V279G и A278F. Последовательность нуклеотидов аллеля *prn2* имеет вставку дополнительного фрагмента в 15 п.н. — GGCGGCCTCGGTCCC в 1-й области гена в положениях 841–855, а *prn9* аллель гена — дополнительный фрагмент в 30 п.н. — GGCGGCCTCGGTCCCGCGGCCTCGGTCCC в 1-й области гена в положениях 841–871. Все изменения в *prn2* и *prn9* аллелях произошли в 1-й и 2-й областях *Prn* белка, которые иммуногенны и участвуют в формировании В-клеточного иммунного ответа.

В результате проведенного исследования выявлено, что все производственные вакцинные штаммы принадлежали к шести генотипам — *ptxA2/ptxB1/ptxC1/ptxP1/fim2-1/fim3-1/prn1*, *ptxA2/ptxB2/ptxC1/ptxP2/fim2-1/fim3-1/prn1*, *ptxA4/ptxB1/ptxC1/ptxP2/fim2-1/fim3-1/prn1*, *ptxA2/ptxB2/ptxC1/ptxP1/fim2-1/fim3-1/prn1*, *ptxA4/ptxB2/ptxC1/ptxP2/fim2-1/fim3-1/prn1* и *ptxA1/ptxB2/ptxC1/ptxP1/fim2-1/fim3-1/prn1* (табл. 1). Кандидатные штаммы являются представителями четырех генотипов — *ptxA1/ptxB2/ptxC2/ptxP3/fim2-2/fim3-2/prn2*, *ptxA1/ptxB2/ptxC2/ptxP3/fim2-2/fim3-2/prn9*, *ptxA1/ptxB2/ptxC2/ptxP3/fim2-1/fim3-1/prn1* и *ptxA1/ptxB2/ptxC2/ptxP3/fim2-2/fim3-1/prn2* (табл. 2).

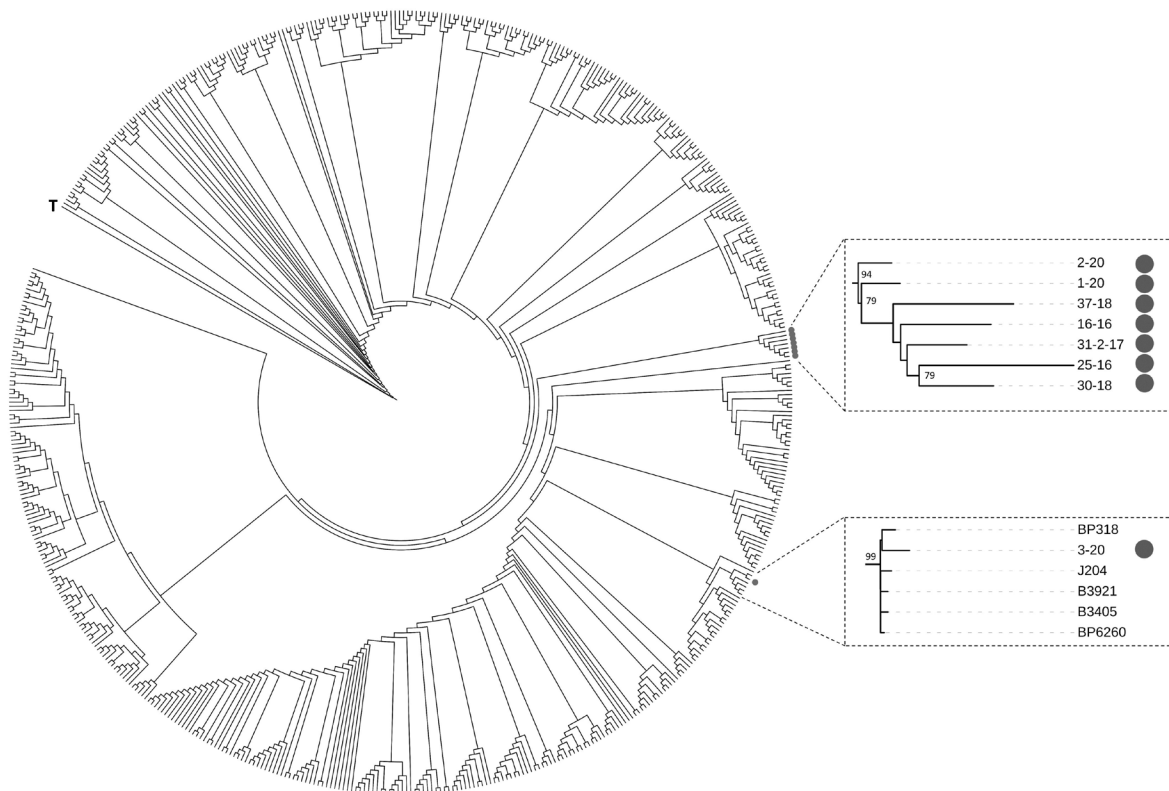


Рис. Филогенетическое дерево бактерий сиквенса-типа ST2, построенное на основании полногеномного MLST. Штаммы — кандидаты в вакцинные препараты отмечены серыми точками. Участки дерева, содержащие данные штаммы, представлены рядом в увеличенном виде, в узлах отмечены уровни поддержки bootstrap (отображены только значения выше 70). На кольцевой диаграмме не отображены длины ветвей из-за наличия отдельных штаммов с аномально длинными ветвями. Буква Т обозначает штамм Tohama I, использованный в качестве внешнего представителя

На основании последовательностей полных геномов кандидатных штаммов было реконструировано филогенетическое дерево, отражающее эволюционное положение исследованных штаммов-кандидатов среди всех представителей сиквенса-типа ST2 (рисунок). Установлено, что все из них, кроме одного, формируют единый близкородственный кластер, по-видимому, характерный для территории РФ.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Все полученные в ходе исследования геномные последовательности штаммов *B. pertussis* включены в Национальный каталог на базе ФБУН ГНЦПМБ Роспотребнадзора в рамках федерального проекта «Санитарный щит страны — безопасность для здоровья (предупреждение, выявление, реагирование)».

При многолетнем мониторинге генотипических свойств *B. pertussis* установлено, что за период более чем 60-летней плановой иммунизации детского населения в популяции штаммов возбудителя коклюша распространяются штаммы с новыми генотипами (аллельными профилями) [14–16], что полностью соответствует общемировой тенденции изменения структуры генов протективных антигенов *B. pertussis* [18–23]. Исследования, проводимые в разных странах мира, также показали генотипические различия между штаммами, используемыми для производства вакцинных препаратов, и циркулирующей популяцией возбудителя коклюша [11, 18–23, 28, 29].

В нашем исследовании охарактеризованы и предложены в качестве кандидатных восемь штаммов *B. pertussis*, относящихся к четырем разным генотипам, отличающихся от генотипов производственных вакцинных штаммов,

используемых для получения АКДС-вакцины в настоящее время. Для включения штаммов-кандидатов *B. pertussis* в состав банка производственных вакцинных штаммов в дальнейшем будут изучены их иммунобиологические свойства с определением гемагглютинирующей, гемолитической и лейкоцитозстимулирующей активностей, вирулентности и токсичности на животных, а также проведено депонирование в Государственной коллекции патогенных микроорганизмов («ГКПМ-Оболенск»).

В связи с тем что изменения циркулирующих штаммов *B. pertussis* идут непрерывно, мониторинг генетических свойств штаммов должен проходить постоянно, что дает возможность оценивать влияние бактериальных изменений на эффективность вакцины. Следует продолжить проведение исследований по изучению генотипа циркулирующих штаммов *B. pertussis* и особенностей формирования в современных условиях постинфекционного и поствакцинального иммунного ответа — для обоснованной оценки адекватности используемых цельноклеточных и бесклеточных коклюшных вакцин как средства профилактики коклюшной инфекции. Для оценки протективности производимых вакцин необходимы также модельные опыты на животных с использованием штаммов *B. pertussis* современных генотипов.

ВЫВОДЫ

В результате проведенного исследования подобраны штаммы *B. pertussis* в качестве кандидатов для производства коклюшных вакцин с оценкой ростовых, культурально-морфологических и генотипических свойств.

Литература

- Петрова М. С., Попова О. П., Борисова О. Ю., Абрамова Е. Н., Вартамян Р. В., Келли Е. И. Коклюш у детей раннего возраста. Эпидемиология и инфекционные болезни. 2012; 6: 19–24. DOI: 10.17816/EID40704.
- Бабаченко И. В., Нестерова Ю. В., Чернышова Ю. Ю., Карасев В. В., Починяева Л. М., Калисникова Е. Л. Клинико-эпидемиологические аспекты коклюша у детей в условиях массовой вакцинопрофилактики. Журнал инфектологии. 2019; 11 (2): 88–96. DOI: 10.22625/2072-6732-2019-11-2-88-96.
- Краснов В. В., Ильянчиков К. Ф., Павлович Л. Р., Кузмичева М. В. Коклюш у детей первого года жизни. Детские инфекции. 2018; 1 (1): 12–17. DOI: 10.22627/2072-8107-2018-17-1-12-17.
- Об организации проведения внешнего контроля качества исследований по диагностике дифтерии и коклюша в 2024 году в Дальневосточном и Уральском федеральных округах. Информационное письмо № 02/1860-2024-27 от 06.02.2024. Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (Роспотребнадзор).
- Басов А. А., Высочанская С. О., Цвиркун О. В., Белова Т. Р., Адугозелов С. Э., и др. Критерии оценки эпидемиологической ситуации по коклюшу в Российской Федерации. Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2024; 23 (2): 4–13. DOI: 10.31631/2073-3046-2024-23-1-4-13.
- О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2021 году: Государственный доклад. М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2022; 340 с.
- Нестерова Ю. В., Медкова А. Ю., Бабаченко И. В., Семин Е. Г., Калисникова Е. Л., Синяшина Л. Н. Клинико-диагностическое значение генетических маркеров *Bordetella pertussis* у контактных лиц в семейных очагах. Журнал инфектологии. 2019; 11 (1): 17–24. DOI: 10.22625/2072-6732-2019-11-1-17-24.
- Philipson K, Goodyear-Smith F, Grant CC, Chong A, Turner N, Stewart J. When is acute persistent cough in school-age children and adults whooping cough? British Journal of General Practice. 2013; 63 (613): 573–9. DOI: 10.3399/bjgp13X670705.
- Пименова А. С., Борисова О. Ю., Цвиркун О. В., Басов А. А., Алешкин В. А., Афанасьев С. С., и др. Эффективность применения молекулярно-генетической диагностики при обследовании очагов коклюшной инфекции. Инфекция и иммунитет. 2017; 7 (2): 162–70. DOI: 10.15789/2220-7619-2017-2-162-170.
- Скирда Т. А., Борисова О. Ю., Петрова М. С., Борисова А. Б. Серологическая диагностика коклюша у лиц старшего возраста. Клиническая лабораторная диагностика. 2020; 65 (8): 492–5. DOI: 10.18821/0869-2084-2020-65-8-492-495.
- Esposito S, Stefanelli P, Fry NK, Fedele G, He Q, Paterson P, et al. Pertussis prevention: reasons for resurgence, and differences in the current acellular pertussis vaccines. Frontiers in Immunology. 2019; 10: 1344. DOI: 10.3389/fimmu.2019.01344.
- Mooi FR, Van Der Maas NA, De Melker HE. Pertussis resurgence: waning immunity and pathogen adaptation — two sides of the same coin. Epidemiol Infect. 2014; 142 (4): 685–94. DOI: 10.1017/S0950268813000071.
- Скирда Т. А., Борисова О. Ю., Борисова А. Б., Комбарова С. Ю., Пименова А. С., Гадуа Н. Т., и др. Определение противокклюшных антител у школьников с длительным кашлем. Журнал инфектологии. 2023; 15 (1): 93–100. DOI: 10.22625/2072-6732-2023-15-1-93-100.
- Борисова О. Ю., Гадуа Н. Т., Пименова А. С., Петрова М. С., Попова О. П., Алешкин В. А., и др. Структура популяции штаммов возбудителя коклюша на территории России. Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2016; 4: 22–28. DOI: 10.31631/2073-3046-2016-15-4-22-28.
- Андреевская И. Ю., Борисова О. Ю., Пименова А. С., Борисова А. Б., Гадуа Н. Т., Чагина И. А. Генотипирование возбудителя коклюша из клинических образцов. Материалы XVI Ежегодного Всероссийского конгресса по инфекционным болезням имени академика В.И. Покровского к 300-летию Российской академии наук, Москва, 25–27 марта 2024 г. М.: Медицинское маркетинговое агентство, 2024; 250 с: 19–20. ISBN 978-5-6048391-2-6.
- Андреевская И. Ю., Пименова А. С., Гадуа Н. Т., Чагина И. А., Борисова О. Ю. Аллельное типирование *ptxP* *Bordetella pertussis* в клинических образцах. Материалы конгресса с международным участием «Молекулярная диагностика и биобезопасность – 2024», Москва, 16 – 17 апреля 2024 г. М.: ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, 2024; 266 с.: 36. DOI: 10.36233/978-5-6048873-9-4.
- Kentaro K, ShuMan Y, Chuen-Sheue C, Phung TBT, Do TTN, et al. Genotyping and macrolide-resistant mutation of *Bordetella pertussis* in East and South-East Asia. J Glob Antimicrob Resist. 2022; 31: 263–9. DOI: 10.1016/j.jgar.2022.10.007.
- Barkoff AM, Mertsola J, Pierard D, Dalby T, Hoegh SV, Guillot S, et al. Surveillance of Circulating *Bordetella pertussis* Strains in Europe during 1998 to 2015. J Clin Microbiol. 2018; 56 (5): e01998-17. DOI: 10.1128/JCM.01998-17.
- Moosa F, du Plessis M, Weigand MR, Peng Y, Mogale D, de Gouveia L, et al. Genomic characterization of *Bordetella pertussis* in South Africa, 2015–2019. Microb Genom. 2023; 9 (12): 001162. DOI: 10.1099/mgen.0.001162.
- Fu P, Zhou J, Yang C, Nijati Y, Zhou L, Yan G, et al. Molecular Evolution and Increasing Macrolide Resistance of *Bordetella pertussis*, Shanghai, China, 2016–2022. Emerg Infect Dis. 2023; 30 (1): 29–38. DOI: 10.3201/eid3001.221588.
- Weigand MR, Williams MM, Peng Y, Kania D, Pawloski LC, Tondella ML. Genomic Survey of *Bordetella pertussis* Diversity, United States, 2000–2013. Emerg Infect Dis. 2019; 25 (4): 780–3. DOI: 10.3201/eid2504.180812.
- Zomer A, Otsuka N, Hiramatsu Y, Kamachi K, Nishimura N, Ozaki T, et al. *Bordetella pertussis* population dynamics and phylogeny in Japan after adoption of acellular pertussis vaccines. Microb Genom. 2018; 4 (5): 000180. DOI: 10.1099/mgen.0.000180.
- Mir-Cros A, Moreno-Mingorance A, Martín-Gómez MT, Codina G, Cornejo-Sánchez T, Rajadell M, et al. Population dynamics and antigenic drift of *Bordetella pertussis* following whole cell vaccine replacement, Barcelona, Spain, 1986–2015. Emerg Microbes Infect. 2019; 8 (1): 1711–20. DOI: 10.1080/22221751.2019.1694395.
- Althouse BM, Scarpino SV. Asymptomatic transmission and the resurgence of *Bordetella pertussis*. BMC Med. 2015; 13: 146. DOI: 10.1186/s12916-015-0382-8.
- Mooi FR, van Loo IH, van Gent M, He Q, Bart MJ, Heuvelman KJ, et al. *Bordetella pertussis* strains with increased toxin production associated with pertussis resurgence. Emerg Infect Dis. 2009; 15 (8): 1206–13. DOI: 10.3201/eid1508.081511.
- Методические указания «Лабораторная диагностика коклюша и заболеваний, обусловленных другими бордетеллами». МУК 4.2.3701-21. М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. 2021.
- Mooi FR, Hallander H, Wirsing von König CH, Hoet B, Guiso N. Epidemiological Typing of *Bordetella pertussis* Isolates: Recommendations for a Standard Methodology. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2000; 19: 174–81.
- Gordana D, Teemu K, Annika E, Pjesa T, Vignjevic-Krastavcevic M, He Q. *Bordetella pertussis* vaccine strains and circulating isolates in Serbia Vaccine. 2010; 28 (5): 1188–92. DOI: 10.1016/j.vaccine.2009.11.036.
- Alai S, Ghattargi VC, Gautam M, Patel K, Pawar SP, Dhotre DP, et al. Comparative genomics of whole-cell pertussis vaccine strains from India. BMC Genomics. 2020; 21 (1): 345. DOI: 10.1186/s12864-020-6724-8.

References

- Petrova MS, Popova OP, Borisova OYu, Abramova EN, Vartanjan RV, Kelli EI. Kokljush u detej rannego vozrasta. Jepidemiologija i infekcionnye bolezni. 2012; 6: 19–24. DOI: 10.17816/EID40704. Russian.
- Babachenko IV, Nesterova YuV, Chernyshova YuYu, Karasev VV, Pochinjaeva LM, Kalisnikova EL. Kliniko-jepidemiologicheskie aspekty kokljusha u detej v uslovijah massovoj vakcinoprofilaktiki. Zhurnal infektologii. 2019; 11 (2): 88–96. DOI: 10.22625/2072-6732-2019-11-2-88-96. Russian.
- Krasnov VV, Iljanenkov KF, Pavlovich LR, Kuzmicheva MV. Kokljush u detej pervogo goda zhizni. Detskie infekcii. 2018; 1 (1): 12–17. DOI: 10.22627/2072-8107-2018-17-1-12-17. Russian.
- Ob organizacii provedenija vneshnego kontrolja kachestva issledovanij po diagnostike differii i kokljusha v 2024 godu v Dal'nevostochnom i Ural'skom federal'nyh okrugah. Informacionnoe pis'mo # 02/1860-2024-27 ot 06.02.2024. Federal'naja sluzhba po nadzoru v sfere zashhity prav potrebitelej i blagopoluchija cheloveka (Rosпотребnadzor). Russian.
- Basov AA, Vysochanskaja SO, Cvirkun OV, Belova TR, Adujuzelov SYe, i dr. Kriterii ocenki jepidemiologicheskoj situacii po kokljushu v Rossijskoj Federacii. Jepidemiologija i vakcinoprofilaktika. 2024; 23 (2): 4–13. DOI: 10.31631/2073-3046-2024-23-1-4-13. Russian.
- O sostojanii sanitarno-jepidemiologicheskogo blagopoluchija naselenija v Rossijskoj Federacii v 2021 godu: Gosudarstvennyj doklad. M.: Federal'naja sluzhba po nadzoru v sfere zashhity prav potrebitelej i blagopoluchija cheloveka, 2022; 340 s. Russian.
- Nesterova YuV, Medkova AYu, Babachenko IV, Semin EG, Kalisnikova EL, Sinjashina LN. Kliniko-diagnosticheskoe znachenie geneticheskikh markerov Bordetella pertussis u kontaktnyh lic v semejnnyh ochagah. Zhurnal infektologii. 2019; 11 (1): 17–24. DOI: 10.22625/2072-6732-2019-11-1-17-24. Russian.
- Philipson K, Goodyear-Smith F, Grant CC, Chong A, Turner N, Stewart J. When is acute persistent cough in school-age children and adults whooping cough? British Journal of General Practice. 2013; 63 (613): 573–9. DOI: 10.3399/bjgp13X670705.
- Pimenova AS, Borisova OYu, Cvirkun OV, Basov AA, Aleshkin VA, Afanasev SS, i dr. Jeffektivnost' primenenija molekularno-geneticheskoi diagnostiki pri obsledovanii ochagov kokljushnoj infekcii. Infekcija i immunitet. 2017; 7 (2): 162–70. DOI: 10.15789/2220-7619-2017-2-162-170. Russian.
- Skirda TA, Borisova OYu, Petrova MS, Borisova AB. Serologicheskaja diagnostika kokljusha u lic starshego vozrasta. Klinicheskaja laboratornaja diagnostika. 2020; 65 (8): 492–5. DOI: 10.18821/0869-2084-2020-65-8-492-495. Russian.
- Esposito S, Stefanelli P, Fry NK, Fedele G, He Q, Paterson P, et al. Pertussis prevention: reasons for resurgence, and differences in the current acellular pertussis vaccines. Frontiers in Immunology. 2019; 10: 1344. DOI: 10.3389/fimmu.2019.01344.
- Mooi FR, Van Der Maas NA, De Melker HE. Pertussis resurgence: waning immunity and pathogen adaptation — two sides of the same coin. Epidemiol Infect. 2014; 142 (4): 685–94. DOI: 10.1017/S0950268813000071.
- Skirda TA, Borisova OJu, Borisova AB, Kombarova SJu, Pimenova AS, Gadua NT, i dr. Opredelenie protivokokljushnyh antitel u shkol'nikov s dlitel'nym kashlem. Zhurnal infektologii. 2023; 15 (1): 93–100. DOI: 10.22625/2072-6732-2023-15-1-93-100. Russian.
- Borisova OYu, Gadua NT, Pimenova AS, Petrova MS, Popova OP, Aleshkin VA, i dr. Struktura populjacii shtammov vzbuditelja kokljusha na territorii Rossii. Jepidemiologija i vakcinoprofilaktika. 2016; 4: 22–28. DOI: 10.31631/2073-3046-2016-15-4-22-28. Russian.
- Andrievskaja IYu, Borisova OYu, Pimenova AS, Borisova AB, Gadua NT, Chagina IA. Genotipirovanie vzbuditelja kokljusha iz klinicheskikh obrazcov. Materialy XVI Ezhegodnogo Vserossijskogo kongressa po infekcionnym boleznyam imeni akademika V.I. Pokrovskogo k 300-letiju Rossijskoj akademii nauk, Moskva, 25–27 marta 2024 g. M.: Medicinskoje Marketingovoe agentstvo, 2024; 250 s.: 19–20. ISBN 978-5-6048391-2-6. Russian.
- Andrievskaja IYu, Pimenova AS, Gadua NT, Chagina IA, Borisova OYu. Allel'noe tipirovanie ptxP Bordetella pertussis v klinicheskikh obrazcah. Materialy kongressa s mezhdunarodnym uchastiem «Molekuljarnaja diagnostika i biobezopasnost' — 2024», Moskva, 16–17 aprelja 2024 g. M.: FBUN CNII Jepidemiologii Rospotrebnadzora, 2024; 266 s.: 36. DOI: 10.36233/978-5-6048873-9-4. Russian.
- Kentaro K, ShuMan Y, Chuen-Sheue C, Phung TBT, Do TTN, et al. Genotyping and macrolide-resistant mutation of Bordetella pertussis in East and South-East Asia. J Glob Antimicrob Resist. 2022; 31: 263–9. DOI: 10.1016/j.jgar.2022.10.007.
- Barkoff AM, Mertsola J, Pierard D, Dalby T, Hoegh SV, Guillot S, et al. Surveillance of Circulating Bordetella pertussis Strains in Europe during 1998 to 2015. J Clin Microbiol. 2018; 56 (5): e01998-17. DOI: 10.1128/JCM.01998-17.
- Moosa F, du Plessis M, Weigand MR, Peng Y, Mogale D, de Gouveia L, et al. Genomic characterization of Bordetella pertussis in South Africa, 2015–2019. Microb Genom. 2023; 9 (12): 001162. DOI: 10.1099/mgen.0.001162.
- Fu P, Zhou J, Yang C, Nijjati Y, Zhou L, Yan G, et al. Molecular Evolution and Increasing Macrolide Resistance of Bordetella pertussis, Shanghai, China, 2016–2022. Emerg Infect Dis. 2023; 30 (1): 29–38. DOI: 10.3201/eid3001.221588.
- Weigand MR, Williams MM, Peng Y, Kania D, Pawloski LC, Tondella ML. Genomic Survey of Bordetella pertussis Diversity, United States, 2000–2013. Emerg Infect Dis. 2019; 25 (4): 780–3. DOI: 10.3201/eid2504.180812.
- Zomer A, Otsuka N, Hiramatsu Y, Kamachi K, Nishimura N, Ozaki T, et al. Bordetella pertussis population dynamics and phylogeny in Japan after adoption of acellular pertussis vaccines. Microb Genom. 2018; 4 (5): 000180. DOI: 10.1099/mgen.0.000180.
- Mir-Cros A, Moreno-Mingorance A, Martín-Gómez MT, Codina G, Cornejo-Sánchez T, Rajadell M, et al. Population dynamics and antigenic drift of Bordetella pertussis following whole cell vaccine replacement, Barcelona, Spain, 1986–2015. Emerg Microbes Infect. 2019; 8 (1): 1711–20. DOI: 10.1080/22221751.2019.1694395.
- Althouse BM, Scarpino SV. Asymptomatic transmission and the resurgence of Bordetella pertussis. BMC Med. 2015; 13: 146. DOI: 10.1186/s12916-015-0382-8.
- Mooi FR, van Loo IH, van Gent M, He Q, Bart MJ, Heuvelman KJ, et al. Bordetella pertussis strains with increased toxin production associated with pertussis resurgence. Emerg Infect Dis. 2009; 15 (8): 1206–13. DOI: 10.3201/eid1508.081511.
- Metodicheskie ukazanija «Laboratornaja diagnostika kokljusha i zabojevanij, obuslovlennyh drugimi bordetellami». MUK 4.2.3701-21. M.: Federal'naja sluzhba po nadzoru v sfere zashhity prav potrebitelej i blagopoluchija cheloveka. 2021. Russian.
- Mooi FR, Hallander H, Wirsing von König CH, Hoet B, Guiso N. Epidemiological Typing of Bordetella pertussis Isolates: Recommendations for a Standard Methodology. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2000; 19: 174–81.
- Gordana D, Teemu K, Annika E, Pljesa T, Vignjevic-Krastavcevic M, He Q. Bordetella pertussis vaccine strains and circulating isolates in Serbia Vaccine. 2010; 28 (5): 1188–92. DOI: 10.1016/j.vaccine.2009.11.036.
- Alai S, Ghattargi VC, Gautam M, Patel K, Pawar SP, Dhotre DP, et al. Comparative genomics of whole-cell pertussis vaccine strains from India. BMC Genomics. 2020; 21 (1): 345. DOI: 10.1186/s12864-020-6724-8.