

МИКРОБИОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2019

Пименова А.С.¹, Борисова О.Ю.^{1,2}, Петрова М.С.¹, Гадуа Н. Т.¹, Борисова А.Б.¹, Кафарская Л.И.², Афанасьев С.С.¹

СРАВНИТЕЛЬНЫЕ ИСПЫТАНИЯ ПО ОЦЕНКЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПЦР-ДИАГНОСТИКИ КОКЛЮША ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ НА ПРЕАНАЛИТИЧЕСКОМ ЭТАПЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ТРАДИЦИОННЫХ ВИСКОЗНЫХ ТАМПОНОВ И УНИВЕРСАЛЬНЫХ ВЕЛЮР-ТАМПОНОВ

¹ФБУН «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г. Н. Габричевского» Роспотребнадзора, 125212, Москва, Россия;

²ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н. И. Пирогова» Минздрава РФ, 117997, Москва, Россия

Целью работы являлась оценка возможности использования универсального велюр-тампона на этапе забора биологического материала для ПЦР-диагностики коклюша. В исследование включено 87 больных в возрасте от 1 месяца до 37 лет, госпитализированных в ГБУЗ «ИКБ № 1 ДЗМ». У 68 (78,2 %) человек верифицирован диагноз «Коклюш», основную группу которых составили дети в возрасте от 1 до 12 месяцев (медиана 4 месяца); у 17 (19,5 %) – другие заболевания респираторного тракта; у 2 (2,3 %) – установлен контакт с больным коклюшем. Первичное обследование пациентов проводилось на 1 - 8-й неделях от начала заболевания. Материал от больных брали с интервалом в один день с задней стенки глотки коммерческими тампонами двух видов одной фирмы-производителя: зондом из полистирола с вискозным тампоном и велюр-тампоном на пластиковом аппликаторе, имеющим щеточку на конце. Выявление и дифференциацию специфических фрагментов генома возбудителей коклюша, паракоклюша и бронхисептикоза в биологическом материале осуществляли методом ПЦР в режиме реального времени с помощью набора реагентов «АмплиСенс® Bordetella multi-FL». Установлено, что эффективность ПЦР-исследования при использовании велюр-тампона на этапе забора биологического материала составила 83,8 %, а вискозного тампона – 82,3 %. Следовательно, применение универсального велюр-тампона на преаналитическом этапе повысило эффективность исследования на 1,5 %. Таким образом, при заборе биологического материала для ПЦР-диагностики коклюша наряду с вискозным зондом-тампоном, применение которого регламентировано СП 3.1.2.3162-14 «Профилактика коклюша», возможно использование универсального велюр-тампона.

Ключевые слова: коклюш; вискозный тампон; велюр-тампон; преаналитический этап ПЦР-исследования; эффективность ПЦР-диагностики коклюша.

Для цитирования: Пименова А.С., Борисова О.Ю., Петрова М.С., Гадуа Н.Т., Борисова А.Б., Кафарская Л.И., Афанасьев С.С. Сравнительные испытания по оценке эффективности ПЦР-диагностики коклюша при использовании на преаналитическом этапе исследования традиционных вискозных тампонов и универсальных велюр-тампонов. Клиническая лабораторная диагностика. 2019; 64 (8): 493-496. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2019-64-8-493-496>

Pimenova A.S.¹, Borisova O.Yu.^{1,2}, Petrova M.S.¹, Gadua N.T.¹, Borisova A.B.¹, Kafarskaya L.I.², Afanasiev S.S.¹

COMPARISON OF RAYON AND FLOCKED SWABS FOR COLLECTION AND TRANSPORT OF DEEP THROAT SWABS FOR DETECTION OF BACTERIA CAUSING WHOOPING COUGH BY MULTIPLEX REAL-TIME PCR ASSAY

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

²Russian National Research Medical University named after N.I. Pirogov, 117997, Moscow, Russian Federation

The aim of the work was to comparison of rayon and flocked swabs for collection and transport of deep throat swabs for detection of bacteria causing whooping cough by multiplex real-time PCR assay. The study included 87 patients aged from 1 month to 37 years, hospitalized in Infectious Diseases Clinical Hospital No. 1 of the Moscow Department of Healthcare. 68 (78,2 %) people had a diagnosis of whooping cough, the main group of which consisted of children aged 1 to 12 months (median 4 months); 17 (19,5 %) – other diseases of the respiratory tract; 2 (2,3 %) – contact with sick whooping cough. The initial examination of patients was carried out on the 1 - 8th week of the onset of the disease. The material from the patients was taken at one-day interval with commercial rayon swabs and flocked swabs. Identification and differentiation of specific genome fragments of the causative agents of whooping cough in biological material was carried out by real-time PCR using the «AmpliSens® Bordetella multi-FL» reagent kit. The efficiency of PCR-based diagnostics of whooping cough using flocked swabs at the preanalytical stage was 83,8 %, and rayon swabs – 82,3 %. The use of a flocked swabs at the preanalytical stage increased the research efficiency by 1,5 %. Thus, when collecting biological material for PCR-based diagnostics of whooping cough it is possible to use flocked swabs.

Key words: whooping cough; rayon swab; flocked swab; preanalytical stage of PCR research; efficiency of PCR-based diagnostics of whooping cough.

For citation: Pimenova A.S., Borisova O.Yu., Petrova M.S., Gadua N.T., Borisova A.B., Kafarskaya L.I., Afanasiev S.S. Comparison of rayon and flocked swabs for collection and transport of deep throat swabs for detection of bacteria causing whooping cough by multiplex real-time PCR assay. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2019; 64 (8): 493-496. (in Russ.) DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2019-64-8-493-496>

For correspondence: Borisova O.Yu., doctor of medicine (MD), professor, head of laboratory of diagnostic of diphtheria and pertussis infections; e-mail: olgborisova@mail.ru

Information about authors:

Pimenova A.S. <https://orcid.org/0000-0002-6914-3531>
Borisova O.Yu. <https://orcid.org/0000-0001-6316-5046>
Petrova M.S. <https://orcid.org/0000-0001-6065-2623>
Gadua N.T. <https://orcid.org/0000-0001-6247-6176>
Borisova A.B. <https://orcid.org/0000-0003-4425-8428>
Kafarskaya L.I. <https://orcid.org/0000-0002-5488-5786>
Afanasiev S.S. <https://orcid.org/0000-0001-6497-1795>

Acknowledgment. The study had no sponsorship.

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

Received 13.05.2019
Accepted 25.05.2019

Введение. Массовая специфическая вакцинопрофилактика коклюша в Российской Федерации привела к значительному улучшению эпидемиологической обстановки и показала ее социально-экономическую значимость для поддержания санитарно-эпидемиологического благополучия по этой инфекции в нашей стране [1, 2]. Благодаря достижению в 2003 г. высокого охвата (95%) вакцинацией и ревакцинацией АКДС-вакциной детей и последующему его поддержанию, заболеваемость коклюшем в России в течение последних пяти лет по данным официальной статистики стабилизировалась (показатель заболеваемости составил 3.27, 4.42, 5.63, 3.70 и 7.10 на 100 тыс населения в 2014, 2015, 2016, 2017 и 2018 гг. соответственно). При этом восприимчивость к данной инфекции сохраняется высокой у детей до 1 года, не привитых, а также утративших иммунитет с возрастом [3-6]. Ежегодно регистрируются локальные вспышки с формированием очагов разной интенсивности в семьях и организованных детских коллективах [7,8]. Источником инфекции, как правило, являются подростки или взрослые, у которых коклюш протекает в лёгкой или стёртой форме [9,10].

В связи с трудностью клинического распознавания коклюша на этапе оказания амбулаторно-поликлинической помощи населению, проблема лабораторной диагностики приобрела особую значимость в современных условиях. В последние годы в структуре заболеваемости увеличивается доля лёгких и стёртых форм клинического течения среди детей старшей возрастной группы и взрослых, а также форм коклюша, смешанных с вирусно-бактериальными респираторными инфекциями, что значительно затрудняет диагностику, особенно на ранних стадиях развития болезни [3-5,11]. Во многих странах мира молекулярно-генетические методы для выявления возбудителей этой инфекции стали применять с конца 80-х годов [12-15], при этом унифицированной методики не существует. Их использование обеспечивает быструю и раннюю диагностику коклюша и эффективно как у пациентов с различными формами клинического течения болезни, так и у пациентов, обследование которых проводится через 3 недели после начала кашля или на фоне приёма антибактериальных препаратов, и не зависит от вакцинального статуса [16-18].

Согласно СП 3.1.2.3162-14 «Профилактика коклюша» забор материала для ПЦР-исследования на коклюш производится с задней стенки глотки сухими стерильными

зондами из полистирола с тампонами из вязкого или хлопкового волокна. Рекомендуемый вид тампона обладает хорошей гигроскопичностью и высокой абсорбционной способностью. Однако при работе с ним большая часть материала остается внутри тампона, что не только снижает эффективность, но и может повлиять на результаты диагностического исследования в целом [19, 20]. В отличие от традиционных вязких или хлопковых тампонов, которые состоят из множества скрученных волокон, в велюр-тампонах нет внутреннего слоя, задерживающего пробу. Несколько тысяч коротких нейлоновых волокон прикреплены перпендикулярно к наконечнику аппликатора, имеют мягкую текстуру, которая обладает хорошими сорбционными свойствами. По данным, представленным в патенте на изобретение РФ № 2586809 от 10.06.2016 г., универсальный велюр-тампон не только собирает значительно больше клеточных образцов, но и мгновенно и полностью высвобождает их в жидкую среду при элюции, повышая эффективность диагностического исследования [19, 20].

Цель работы – оценить возможности использования универсального велюр-тампона на этапе забора биологического материала для ПЦР-исследования на коклюш.

Материал и методы. В исследование включено 87 больных в возрасте от 1 мес до 37 лет, госпитализированных в ГБУЗ «ИКБ № 1 ДЗМ» с подозрением на коклюш. У 68 (78,2%) пациентов на основании клинико-эпидемиологических и лабораторных данных врачами-инфекционистами верифицирован диагноз «Коклюш», у 17 (19,5%) – другие заболевания респираторного тракта, у 2 (2,3%) – установлен контакт с больным коклюшем.

По возрастным категориям пациенты распределились следующим образом: от 1 до 12 мес – 53 (60,9%), от 1 года до 10 лет – 27 (31,0%), от 11 до 20 лет – 4 (4,6%), 21 год и старше – 3 (3,5%). Из них больных коклюшем в возрасте от 1 до 12 мес было 42 (61,8%), от 1 года до 10 лет – 23 (33,8%), от 11 до 20 лет – 3 (4,4%), т. е. основную группу больных коклюшем составили дети в возрасте от 1 до 12 мес (медиана 4 месяца). Тяжесть и течение заболевания оценивали согласно общепринятой классификации, в соответствии с которой у 5 (7,4%) пациентов коклюш протекал в лёгкой, у 57 (83,8%) – в среднетяжёлой, у 6 (8,8%) – в тяжёлой формах. У 12 пациентов (17,6%) болезнь имела осложнённое течение, обусловленное присоединением вторичной инфекции.

Результаты ПЦР-исследования образцов клинического материала, собранных тампоном № 1 и № 2

Вид тампона	Результат выявления ДНК <i>B. pertussis</i> методом ПЦР-РВ		Всего
	положительный	отрицательный	
Тампон № 1	56	31	87
Тампон № 2	59	28	87

Первичное обследование пациентов проводилось на разных сроках от начала заболевания: 6 (6,9%) – на 1-й нед, 33 (37,9%) – на 2-й нед, 26 (29,9%) – на 3-й нед, 14 (16,1%) – на 4-й нед, 5 (5,7%) – на 5-й нед, 2 (2,3%) – на 6-й нед и 1 (1,2%) – на 8-й нед болезни, т. е. большинство (83,9%) пациентов обследовано на 2-4-й неделях болезни.

Биологический материал от больных брали с интервалом в один день с задней стенки глотки коммерческими тампонами двух видов одной фирмы-производителя (COPAN, Италия): зондом из полистирола с вязкозным тампоном (тампон № 1) и велюр-тампоном на пластиковом аппликаторе, имеющим щёточку на конце (тампон № 2). За одну процедуру по забору материала медицинским персоналом, прошедшим соответствующий инструктаж, использовалось последовательно два сухих стерильных тампона одного вида, которые объединялись в единую пробу. Необходимость применения одновременно двух тампонов объясняется следующим. Взятие материала первым тампоном за счёт оказываемого раздражающего действия на слизистую задней стенки глотки стимулирует кашель у обследуемого, что приводит к увеличению концентрации микробных частиц во второй порции материала, собираемого вторым тампоном.

Выделение ДНК из клинических образцов проводили с использованием набора реагентов «РИБО-преп» (ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, Москва) в соответствии с инструкцией по применению. Выявление и дифференциацию специфических фрагментов генома возбудителей коклюша, паракоклюша, бронхисептикоза в биологическом материале осуществляли методом ПЦР с гибридационно-флуоресцентной детекцией продуктов амплификации в режиме реального времени с помощью набора реагентов «АмплиСенс® *Bordetella multi-FL*» (ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, Москва) на приборе «Rotor-Gene Q» (QIAGEN GmbH, Германия). Анализ и интерпретацию результатов проводили согласно методическим рекомендациям по применению набора реагентов.

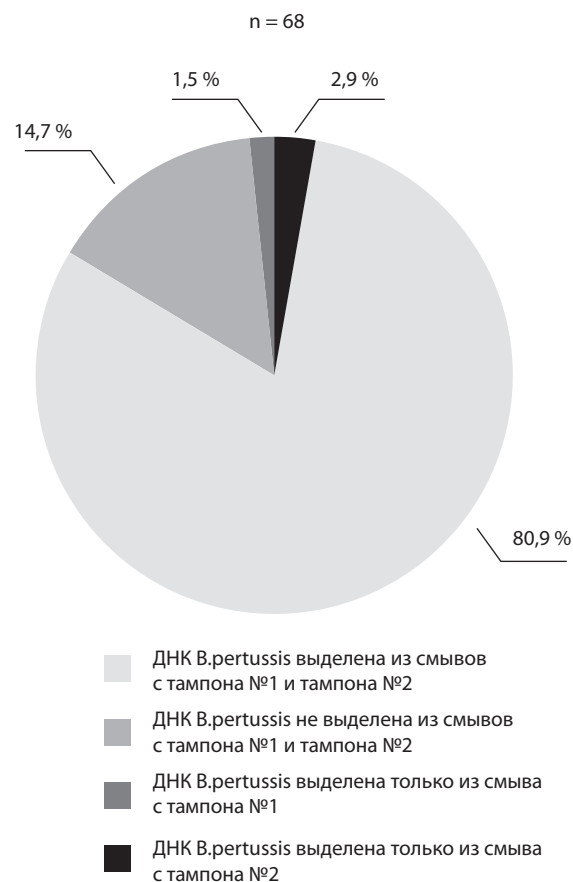
Результаты и обсуждение. При обследовании 68 больных с диагнозом «Коклюш» методом ПЦР лабораторное подтверждение получено у 58 (85,3%) пациентов. У 55 (80,9%) больных ДНК *B. pertussis* обнаружена в обоих образцах клинического материала, собранных как тампоном № 1, так и тампоном № 2; у 1 (1,5%) больного – только в образце клинического материала, собранном тампоном № 1, у 2 (2,9%) пациентов – только в образцах клинического материала с тампона № 2 (см. рисунок).

Сравнительный анализ эффективности ПЦР-диагностики показал, что клинический диагноз «Коклюш» при применении двух видов тампонов подтвержден у 55 (80,9%) пациентов. Использование велюр-тампона на этапе забора биологического материала привело к увеличению эффективности ПЦР-исследования на 2,9%, вязкозного тампона – только на 1,5%.

У 16 из 17 (94,1%) пациентов с другими заболеваниями респираторного тракта из клинического матери-

ала, собранного тампоном № 1 и тампоном № 2, ДНК возбудителя коклюша не обнаружена. В одном случае, при обследовании девочки в возрасте 9 мес с диагнозом «Парагрипп. Аденовирусная инфекция. РС-инфекция», в ходе ПЦР-исследования получены различные результаты. Из клинического материала, собранного тампоном № 1, ДНК возбудителя коклюша не выделена, а в клиническом материале, собранном тампоном № 2, ДНК *B. pertussis* обнаружена.

В исследование включены 2 контактировавшие с больным коклюшем женщины 28 и 30 лет, обследование которых проведено по эпидемиологическим показаниям. В первом случае, в клиническом материале, собранном тампоном № 1, ДНК возбудителя коклюша не выявлена, а в клиническом материале с тампона № 2 обнаружена ДНК *B. pertussis*. Во втором случае, в клиническом материале с тампона № 1 и тампона № 2 ДНК возбудителя коклюша не обнаружена.



Частота выделения ДНК *B. pertussis* из клинического материала, собранного тампоном № 1 и тампоном № 2 при обследовании больных с диагнозом «Коклюш».

Проведённый статистический анализ (см. таблицу) не показал значимых отличий между частотой выделения ДНК возбудителя коклюша из клинического материала, забор которого осуществляли тампоном № 1, и частотой выделения ДНК возбудителя коклюша из клинического материала с тампона № 2 ($p > 0,05$, критерий Мак-Нимара с поправкой Йейтса).

При использовании велюр-тампона (тампон № 2) на преналитическом этапе ПЦР-исследования медицинским персоналом, проводившим процедуру по забору биологического материала, отмечены некоторые особенности его строения, благодаря которым упрощалась их работа. Наличие гибкой шейки позволяло собирать материал у больного с большей поверхности слизистой оболочки задней стенки глотки, не вызывая при этом неприятные ощущения у обследуемого. Наличие компактной щётки, расположенной на конце пластикового аппликатора, упрощало проведение манипуляций по объединению двух велюр-тампонов в единую пробу и требовало применение минимальных усилий со стороны сотрудника.

Заключение. Эффективность ПЦР-исследования при использовании велюр-тампона на этапе забора биологического материала составила 83,8%, вискозного тампона – 82,3%. Применение универсального велюр-тампона на преналитическом этапе повысило эффективность исследования на 1,5%. Таким образом при заборе биологического материала для ПЦР-диагностики коклюша наряду с вискозным зондом-тампоном, применение которого регламентировано СП 3.1.2.3162-14 «Профилактика коклюша», возможно использование и универсального велюр-тампона.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА (пп. 10, 12, 13, 14, 15, 17, 18, 19, 20 см. REFERENCES)

1. Онищенко Г.Г. Эпидемиологическое благополучие населения России. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. 2013; 1: 42-51.
2. Паньков А.С., Денисюк Н.Б., Кайкова О.В. Эволюция коклюшной инфекции: вопросы профилактики. *Медицинский альманах*. 2015; 5(40): 129-132.
3. Петрова М.С., Попова О.П., Борисова О.Ю., Абрамова Е.Н., Вартанян Р.В., Келли Е.И. Коклюш у детей раннего возраста. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2012; 6: 12-24.
4. Попова О.П., Петрова М.С., Борисова О.Ю., Скирда Т.А., Грачева Н.М., Малышев Н.А. Клинические особенности коклюша у взрослых. *Терапевтический архив*. 2014; 86(11): 78-81.
5. Бабаченко И.В., Харит С.М., Курова Н.Н., Ценева Г.Я. *Коклюш у детей*. М.: Комментарий; 2014.
6. Гасилина Е.С., Китачик С.М., Горелова И.А., Кабанова Н.П., Федосеева О.А., Богоявленская И.Ю. и др. Коклюш у детей – клинико-эпидемиологическая характеристика в Самарской области. *Журнал инфектологии*. 2018; 10(3): 54-60.
7. Егорова Т.В., Кулик М.С., Шангина И.А., Рожкова А.В., Кассихина С.А. Коклюш: старая проблема в современных условиях. *Вятский Медицинский Вестник*. 2015; 2(46): 44-7.
8. Гаврилова О.А., Астапов А.А., Шмелева Н.Д., Колодкина В.Л., Мартынов В.С. Вспышка коклюша среди привитых детей в организованном коллективе. *Здравоохранение*. 2017; 2: 75-80.
9. Медкова А.Ю., Аляпкина Ю.С., Синашина Л.Н., Амелина И.П., Алексеев Я.И., Каратаев И.Г. и др. Распространенность стерты форм коклюша и анализ фазовых состояний бактерий *Bordetella pertussis*. *Детские инфекции*. 2010; 9(4): 19-22.
10. Борисов А.С., Цуканова Е.С., Гурович О.В., Пухова Е.В., Степанничева Н.А., Мешкова Ю.В. и др. Коклюш и паракоклюш в современной практике участкового педиатра. *Вестник научных конференций*. 2017; 1-1(17): 34-6.

16. Прадед М.Н., Яцышина С.Б., Селезнева Т.С., Малинина С.В., Бирюлева Н.В., Любимова Т.Е. и др. ПЦР-диагностика инфекций, вызванных *B.pertussis*, *B.parapertussis* и *B.bronchiseptica*. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2013; 1: 53-6.

REFERENCES

1. Onishchenko G.G. Epidemiological well-being of the population of Russia. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2013; 1: 42-51. (in Russian)
2. Pankov A.S., Denisyuk N.B., Kaikova O.V. Evolution of pertussis infection: issues of prophylaxis. *Meditsinskiy Almanach*. 2015; 5(40): 129-32. (in Russian)
3. Petrova M.S., Popova O.P., Borisova O.Yu., Abramova E.N., Vartanyan R.V., Kelli E.I. Pertussis in children of early age. *Epidemiologiya i infeksionnye bolezni*. 2012; 6: 12-24. (in Russian)
4. Popova O.P., Petrova M.S., Borisova O.Yu., Skirda T.S., Gracheva N.M., Malyshev N.A. Clinical features of pertussis in adults. *Terapevticheskiy arkhiv*. 2014; 86(11): 78-81. (in Russian)
5. Babachenko I.V., Harit S.M., Kurova N.N., Tseneva G.Ya. *Whooping cough at children [Koklyush u detey]*. Moscow: Kommentariy; 2014. (in Russian)
6. Gasilina E.S., Kitajchik S.M., Gorelova I.A., Kabanova N.P., Fedoseeva O.A., Bogoyavlenskaya I.Yu. et al. Pertussis in children – clinical and epidemiological characteristics in the Samara region. *Zhurnal infektologii*. 2018; 10(3): 54-60. (in Russian)
7. Egorova T.V., Kulik M.S., Shangina I.A., Rozhkova A.V., Kassihina S.A. Pertussis: an old problem in modern condition. *Vyatskiy meditsinskiy vestnik*. 2015; 2(46): 44-7. (in Russian)
8. Gavrilova O.A., Astapov A.A., Shmeleva N.D., Kolodkina V.L., Martynov V.S. Case of whooping cough outbreak among vaccinated organized children. *Zdravookhranenie*. 2017; 2: 75-80. (in Russian)
9. Medkova A. Yu., Alyapkina Yu. S., Sinyashina L.N., Amelina I.P., Alekseev Ya.I., Karataev G.I. et al. The prevalence of subclinical forms of pertussis and analysis of phase states of bacteria *Bordetella pertussis*. *Detskie infektsii*. 2010; 9(4): 19-22. (in Russian)
10. Skoff T.H., Kenyon C., Cocoros N., Liko J., Miller L., Kudish K. et al. Sources of infant pertussis infection in the United States. *Pediatrics*. 2015; 136(4): 635-41.
11. Borisov A.S., Tsukanova E.S., Gurovich O.V., Pukhova E.V., Stepanishcheva N.A., Meshkova Yu.V. et al. Whooping cough in modern practice of the local pediatrician. *Vestnik nauchnykh konferentsiy*. 2017; 1-1(17): 34-6. (in Russian)
12. Houard S., Hackel C., Herzog A., Bollen A. Specific identification of *Bordetella pertussis* by the polymerase chain reaction. *Research in Microbiology*. 1989; 140(7): 477-87.
13. Glare E.M., Paton J.P., Premier R.R., Lawrence A.J., Nisbet I.T. Analysis of a repetitive DNA sequence from *Bordetella pertussis* and its application to the diagnosis of pertussis using the polymerase chain reaction. *Journal of Clinical Microbiology*. 1990; 28(9): 1982-7.
14. Birkebaek N.H., Heron I., Skjoldt K. *Bordetella pertussis* diagnosed by polymerase chain reaction. *APMIS*. 1994; 102(4): 291-4.
15. Schlapfer G., Cherry J.D., Heining U., Ueberal M., Schmitt-Grohe S., Laussucq S. Polymerase chain reaction identification of *Bordetella pertussis* infections in vaccinees and family members in a pertussis vaccine efficacy trial in Germany. *The Pediatric Infectious Disease Journal*. 1995; 14(3): 209-14.
16. Praded M.N., Yatsyshyna S.B., Selezneva T.S., Malinina S.V., Birulyeva N.V., Lubimova T.Ye. et al. The kit of reagents for polymerase chain reaction diagnostic of infections caused by *B.pertussis*, *B.parapertussis* and *B.bronchiseptica*. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2013; 1: 53-6. (in Russian)
17. Kamachi K., Yoshino S., Katsukawa C., Otsuka N., Hiramatsu Y., Shibayama K. Laboratory-based surveillance of pertussis using multitarget real-time PCR in Japan: evidence for *Bordetella pertussis* infection in preteens and teens. *New Microbes and New Infections*. 2015; 8: 70-4.
18. Martini H., Detemmerman L., Soetens O., Yusuf E., Pierard D. Improving specificity of *Bordetella pertussis* detection using a four target real-time PCR. *PLoS One*. 2017; 12(4): e0175587.
19. Probst A., Facius R., Wirth R., Moissl-Eichinger C. Validation of a nylon-flocked-swab protocol for efficient recovery of bacterial spores from smooth and rough surfaces. *Applied and Environmental Microbiology*. 2010; 76(15): 5148-58.
20. Finazzi G., Losio M.N., Varisco G. FLOQSwab™: optimisation of procedures for the recovery of microbiological samples from surfaces. *Italian Journal of Food Safety*. 2016; 5(3): 121-3.

Поступила 13.05.19

Принята к печати 25.05.19