

ОРГАНИЗАЦИЯ ЛАБОРАТОРНОЙ СЛУЖБЫ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2021

Пименова А.С.¹, Борисова А.Б.¹, Гадуа Н.Т.¹, Борисова О.Ю.¹, Афанасьев С.С.¹, Петрова М.С.¹,
Афанасьев М.С.², Миронов А.Ю.¹, Алёшкин В.А.¹

ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА ПЦР ДЛЯ ВИДОВОЙ ИДЕНТИФИКАЦИИ ВОЗБУДИТЕЛЯ КОКЛЮША В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

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

²ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова» Минздрава РФ,
119991, Москва, Россия

*Цель работы - определить практическую значимость метода ПЦР в лабораторной диагностике коклюшной инфекции в РФ. Референс-центром по мониторингу за возбудителями кори, краснухи, эпидемического паротита, коклюша и дифтерии в 2018 г. в 85 субъектах России проведено анкетирование клинико-диагностических лабораторий лечебно-профилактических организаций и Центров гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, осуществляющих ПЦР-исследования по идентификации микроорганизмов рода *Bordetella*. В 2013 г. ПЦР-диагностика коклюша проводилась в 33 (38,8%) субъектах РФ. К 2017 г. их число увеличилось до 64 (75,3%). На территориях 21 (24,7%) региона данный вид исследования в 2013-2017 г.г. не применялся. В субъектах РФ степень внедрения метода ПЦР в практическую работу лабораторий медицинских организаций различна, в связи с чем, объём проводимых тестирований сильно варьирует. В РФ отмечается тенденция к росту числа ПЦР-исследований при обследовании лиц с подозрением на коклюш, осуществляемых как с диагностической целью, так и по эпидемическим показаниям. В ЛПО по сравнению с ЦГиЭ Роспотребнадзора темпы внедрения метода ПЦР для диагностики коклюшной инфекции в работу лабораторий выше. В период 2013-2017 г. г. отмечается уменьшение доли проб, содержащих ДНК *B. pertussis*, и увеличение доли образцов, в которых идентифицируются ДНК других представителей рода *Bordetella*. В случае выделения ДНК *Bordetella* spp. ставится диагноз «Коклюш неуточнённый», поскольку у врача отсутствуют сведения о видовой принадлежности возбудителя. С целью расширения возможностей обследования больных с подозрением на коклюш, целесообразно совершенствовать ПЦР-диагностику путём включения в диагностические тест-системы генов-мишеней, позволяющих идентифицировать ДНК разных представителей рода *Bordetella*, являющимися актуальными на сегодняшний день возбудителями.*

Ключевые слова: возбудитель коклюша; метод ПЦР; Российская Федерация.

Для цитирования: Пименова А.С., Борисова А.Б., Гадуа Н.Т., Борисова О.Ю., Афанасьев С.С., Петрова М.С., Афанасьев М.С., Миронов А.Ю., Алёшкин В.А. Применение метода ПЦР для видовой идентификации возбудителя коклюша в Российской Федерации. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2021; 66 (1): 52-58.
DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2021-66-1-52-58>

*Pimenova A.S.¹, Borisova A. B.¹, Gadua N.T.¹, Borisova O.Yu.¹, Afanasiev S.S.¹, Petrova M.S.¹, Afanasiev M.S.²,
Mironov A.Yu.¹, Aleshkin V.A.¹*

PCR-BASED DIAGNOSIS OF WHOOPING COUGH IN THE RUSSIAN FEDERATION

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

²I. M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, 119991, Moscow, Russian Federation

*The aim was to determine how often the PCR method is used in different laboratories in Russia. In 2018, we conducted a questionnaire survey in diagnostic laboratories of medical organizations and the Centers of Hygiene and Epidemiology that performed PCR studies to identify microorganisms of the genus *Bordetella* in all 85 Russian regions. We found that in 2013 the PCR was used in 33 (38.8%) regions, but in 2017 the number of regions increased to 64 (75.3%). During 2013-2017 the study has not been applied in 21 regions. The number of PCR tests performed in the laboratories of medical organizations was significantly different. There has been an increase in the number of tests for the diagnosis of pertussis among people with clinical signs of infection and among contact persons in foci of infection. Compared to the Centers of Hygiene and Epidemiology, in medical organizations the rate of introduction of the PCR was higher. Between 2013 and 2017 the proportion of samples containing DNA *B.pertussis* decreased, but the proportion of samples containing DNA of other representatives of the genus *Bordetella* increased. Moreover, in the case of isolation DNA *Bordetella* spp. clinicians diagnose «Whooping cough, other unspecified organism», since there is no information on the species of the pathogen. Thus, in order to improve the diagnosis of pertussis, it is necessary to optimize PCR tests by including target genes that allow to identify of currently relevant DNAs of different representatives of the genus *Bordetella*.*

Key words: whooping cough; PCR-based diagnosis; Russian Federation.

For citation: Pimenova A.S., Borisova A.B., Gadua N.T., Borisova O.Yu., Afanasiev S.S., Petrova M.S., Afanasiev M.S., Mironov A.Yu., Aleshkin V.A. PCR-based diagnosis of whooping cough in the Russian Federation. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2021; 66 (1): 52-58 (in Russ.) DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2021-66-1-52-58>

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 A. B., <https://orcid.org/0000-0003-4425-8428>;
Gadua N. T., <https://orcid.org/0000-0001-6247-6176>;
Borisova O. Yu., <https://orcid.org/0000-0001-6316-5046>;
Afanasiev S. S., <https://orcid.org/0000-0001-6497-1795>;
Petrova M. S., <https://orcid.org/0000-0001-6065-2623>;
Afanasiev M. S., <https://orcid.org/0000-0002-5860-4152>;
Mironov A. Yu. <https://orcid.org/0000-0002-8544-5230>;
Aleshkin V. A., <https://orcid.org/0000-0002-2701-431X>.

Acknowledgment. *The study had no sponsorship.*

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

Received 01.08.2020
Accepted 04.08.2020

Введение. Многолетняя специфическая профилактика, проводимая в Российской Федерации, позволила значительно снизить заболеваемость коклюшем и свести до минимума летальность и смертность от этой инфекции [1]. Несмотря на несомненные успехи, проблема коклюшной инфекции остается актуальной, поскольку сохраняются не только основные характеристики эпидемиологического процесса коклюша, но и замедляются темпы снижения заболеваемости [2, 3]. По данным официальной статистики в 2019 г. отмечался рост заболеваемости коклюшем по сравнению с 2017 г. в 2,6 раза. Показатель заболеваемости в 2019 г. составил 9,8 на 100 тыс. населения против 3,7 в 2017 г. Всего в 2019 г. зарегистрировано 14 406 случаев заболевания коклюшем, из которых 94% выявлены у детей в возрасте до 17 лет. При этом самые высокие интенсивные показатели регистрировались среди детей первого года жизни, что указывает на эпидемиологическую значимость этой возрастной группы [4]. У непривитых и утративших иммунитет с возрастом лиц, восприимчивость к данной инфекции также сохраняется высокой [2, 5-7].

В соответствии с действующими нормативными документами лабораторное обследование лиц с подозрением на коклюш проводят либо с диагностической целью, либо по эпидемиологическим показаниям для своевременного выявления больных. Начиная с 2013 г. лабораторная диагностика коклюша осуществляется с помощью культурального, молекулярно-генетического, серологического методов исследования, выбор которых определяется сроком заболевания. Культуральное исследование проводят в течение первых 2-3 недель болезни. Молекулярно-генетический метод исследования наиболее эффективен на 1-4-й нед от начала заболевания. Серологическую диагностику коклюша методом ИФА применяют, начиная с 3 нед болезни, для определения уровня специфических противокклюшных антител классов IgA, IgM, IgG.

Наиболее эффективным методом диагностики коклюшной инфекции является молекулярно-генетический. Проведение ПЦР-исследований целесообразно у пациентов с различными формами клинического течения болезни независимо от вакцинального статуса обследуемых и прохождения ими курса антибактериальной терапии [8, 9]. Применение метода ПЦР для иден-

тификации возбудителя коклюша эффективно у детей в возрасте до 1 года, у взрослых со стертой клинической картиной [10, 11], при обследовании очагов с целью установления источника инфекции [12, 13]. В РФ официально зарегистрирован лишь один набор реагентов для выявления и дифференциации ДНК *B. pertussis*, *B. parapertussis*, *B. bronchiseptica* методом ПЦР с гибридно-флуоресцентной детекцией в режиме реального времени [14].

Цель работы - оценить практическую значимость метода ПЦР в лабораторной диагностике коклюша в России с целью разработки перспективных направлений её дальнейшего развития.

Материал и методы. В соответствии с приказом Роспотребнадзора от 01.12.2017 г. № 1116 «О совершенствовании системы мониторинга, лабораторной диагностики инфекционных и паразитарных болезней и индикации ПБА в Российской Федерации» Референс-центром по мониторингу за возбудителями кори, краснухи, эпидемиологического паротита, коклюша и дифтерии, действующим на базе ФБУН МНИИЭМ им. Г. Н. Габричевского, в период с июля по сентябрь 2018 г. в 85 субъектах РФ проведено анкетирование клинико-диагностических лабораторий (КДЛ) лечебно-профилактических организаций (ЛПО) и Центров гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора (ЦГиЭ), осуществляющих исследования по выявлению возбудителя коклюша методом ПЦР. В рамках выполнения функциональных обязанностей Референс-центром подготовлена аналитическая справка «Состояние лабораторной диагностики коклюшной инфекции в России в 2013-2017 гг.» с целью проведения заседания проблемной комиссии Ученого совета Роспотребнадзора «Профилактика инфекций, управляемых средствами вакцинопрофилактики». В работе использовали методы описательной статистики.

Результаты. Установлено, что на территории РФ в 2013-2017 гг. внедрение метода ПЦР для видовой идентификации возбудителя коклюша в рутинную работу КДЛ медицинских организаций (МО) различной ведомственной принадлежности осуществлялось постепенно. В 2013 г. ПЦР-диагностика коклюша проводилась только в 33 (38,8%) субъектах РФ (табл. 1). К 2017 г. их число увеличилось до 64 (75,3%). На территориях 21 (24,7%) субъекта РФ данный вид исследования за анализируемый период не применялся.

Субъекты РФ, на территориях которых с 2013 по 2017 г. г. для видовой идентификации возбудителя коклюша применялся метод ПЦР

Федеральный округ	Всего субъектов РФ		Из них количество субъектов РФ, на территориях которых ПЦР-исследования на коклюш начали проводить				
	абс.	%	в 2013 г.	в 2014 г.	в 2015 г.	в 2016 г.	в 2017 г.
ЦФО	14	77,8	11	1	1	–	1
СЗФО	10	90,9	8	–	1	–	1
ЮФО	5	62,5	2	–	2	–	1
СКФО	3	42,9	1	1	–	1	–
ПФО	12	85,7	4	2	3	3	–
УФО	5	83,3	1	3	–	1	–
СФО	9	75,0	3	2	1	1	2
ДФО	6	66,7	3	2	–	1	–
РФ	64	75,3	33	11	8	7	5

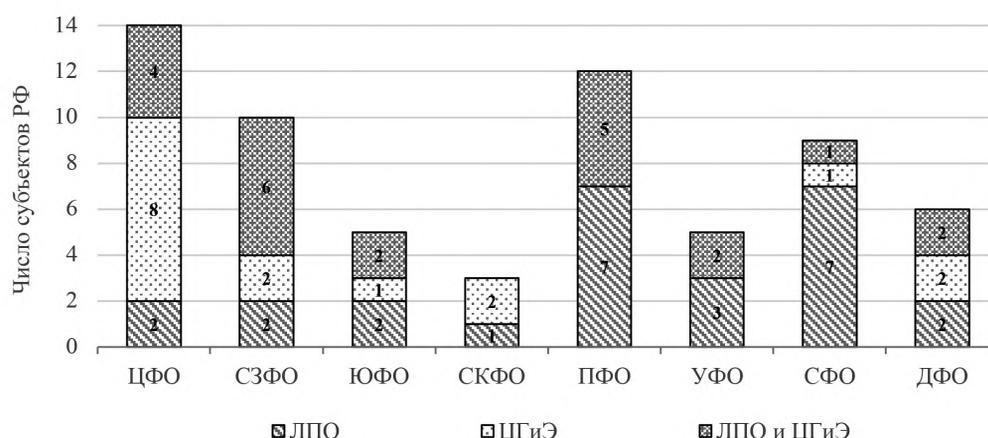


Рис. 1. Число субъектов РФ, на территориях которых в 2013–2017 гг. ПЦР-диагностика коклюша проводилась в лабораториях ЛПО и/или ЦГиЭ.

В РФ в период с 2013 г. по 2017 г. в ЛПО по сравнению с ЦГиЭ темпы внедрения метода ПЦР для диагностики коклюша в практическую работу лабораторий выше. В 2017 г. данный вид исследования в 26 (40,6%) субъектах РФ осуществлялся только в лабораториях ЛПО, в 16 (25,0%) субъектах - только в лабораториях ЦГиЭ, в 22 (34,4%) субъектах - в лабораториях МО различной ведомственной принадлежности. В федеральных округах (ФО) прослеживаются разнонаправленные тенденции (рис. 1).

В Центральном и Северо-Кавказском ФО в период с 2013 по 2017 гг. для видовой идентификации возбудителя коклюша метод ПЦР использовался преимущественно лабораториями ЦГиЭ. В Северо-Западном и Дальневосточном ФО данный вид исследования внедрялся в рутинную работу лабораторий ЛПО и ЦГиЭ в равной степени. В Южном, Приволжском, Уральском, Сибирском ФО отмечается тенденция, аналогичная общероссийской.

В РФ за анализируемый период методом ПЦР всего обследовано 50 860 лиц с подозрением на коклюш и выполнено 62 740 исследований. По сравнению с 2013 годом в 2017 г. на территории РФ отмечалось увеличение числа проведенных тестов в 1,8 раза (рис. 2). В лабораториях ЛПО данный параметр вырос в 2 раза, в лабораториях ЦГиЭ - только в 1,3 раза. В РФ наблюдается тенденция к росту количества исследований по выявлению возбудителя коклюша методом ПЦР.

Данная тенденция отмечается во всех ФО, кроме Уральского, на территории которого в 2017 г. зафиксировано снижение числа тестирований методом ПЦР в 1,4 раза по сравнению с 2013 г. В Сибирском и Дальневосточном ФО объем осуществляемых исследований в период с 2013 г. по 2017 г. увеличился в 12,7 и в 27 раз соответственно (рис. 3).

Проведенный анализ данных показал, что между ФО выявляются выраженные отличия по числу выполненных в период с 2013 по 2017 г. ПЦР-исследований на коклюш. В Центральном ФО выполнено 35,4% анализов от общего количества, в Приволжском - 17,7%, в Южном - 14,5%, в Северо-Западном - 9,6%, в Уральском - 7,8%, в Северо-Кавказском - 5,8%, в Сибирском - 5,4%, в Дальневосточном - 3,8%.

Аналогичная закономерность прослеживается и внутри ФО. В Центральном ФО более 70% от общего объема исследований проведено в 3 субъектах РФ из 14, в Приволжском - в 3 из 12, в Южном - в 1 из 5, в Северо-Западном - в 2 из 10, в Уральском - в 1 из 5, в Северо-Кавказском - в 1 из 3, в Сибирском - в 3 из 9, в Дальневосточном - в 3 из 6. Из 64 субъектов РФ, на территориях которых осуществляется диагностика коклюша методом ПЦР, лишь в 17 (26,6%) данный вид исследования применяется активно.

Определён процент тестирований, сделанных при обследовании лиц с подозрением на коклюш и при

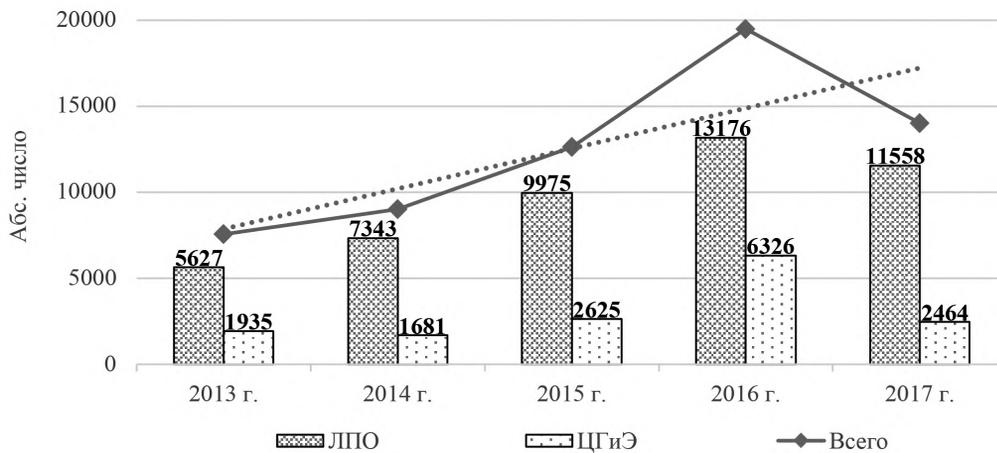


Рис. 2. Количество ПЦР-исследований на коклюш, проведённых на территории РФ в 2013-2017 гг.

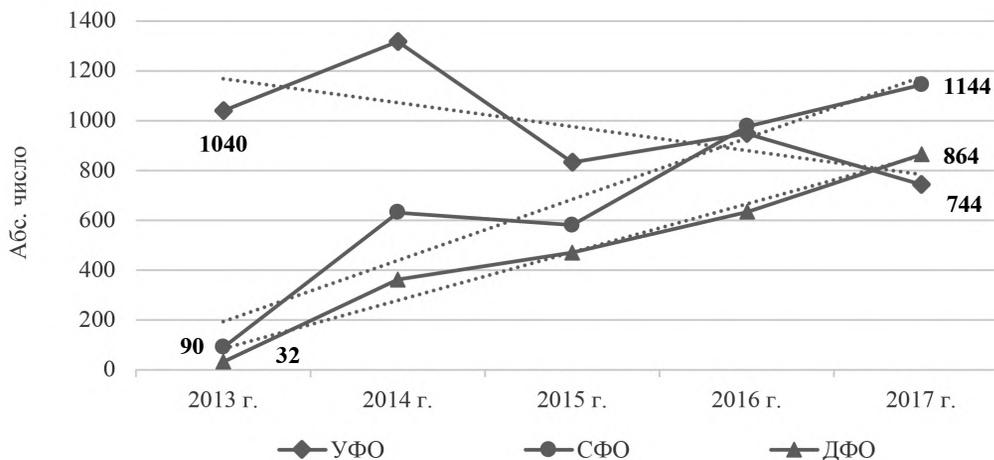


Рис. 3. Количество исследований по выявлению возбудителя коклюша методом ПЦР, выполненных в Уральском, Сибирском, Дальневосточном ФО в 2013-2017 гг.

обследовании контактных в очагах. В 2013-2017 г. г. с диагностической целью проведено 59 790 (95,3%) ПЦР-исследований, из которых 47 377 (79,2%) выполнено в лабораториях ЛПО. По эпидемическим показаниям сделано 2 950 (4,7%) ПЦР-анализов, из них 2 648 (89,8%) протестировано в лабораториях ЦГиЭ. Метод ПЦР чаще всего применяется при обследовании лиц с подозрением на коклюш именно с диагностической целью для верификации клинического диагноза. Подобная ситуация наблюдается и в ФО (рис. 4).

В РФ метод ПЦР при обследовании контактных лиц в очагах коклюша используется ограниченно. За анализируемый период исследования по эпидемическим показаниям проводились только в 17 (26,6%) субъектах РФ из 64. Наибольшее (41,2%) их количество сконцентрировано в Центральном и Северо-Западном ФО. Активное применение метода ПЦР при обследовании контактных отмечается лишь на территории 1 субъекта РФ, входящего в состав Приволжского ФО, в котором в 2013-2017 гг. проведено 948 тестирований, что составило 32,1% от общего количества по РФ. В РФ наблюдается тенденция к росту числа ПЦР-исследований, осуществляемых не только с диагностической целью, но и по эпидемиче-

ским показаниям в лабораториях как ЛПО, так и ЦГиЭ (рис. 5).

За 5-летний период среди протестированных образцов выявлено 11911 (19%) положительных, в которых в 94,4% случаев обнаружена ДНК *B. pertussis* (рис. 6).

С 2013 по 2017 гг. среди положительных образцов доля проб, содержащих ДНК *B. pertussis*, ежегодно уменьшалась на 1-2% (табл. 2). Доля образцов, в которых выявлялась ДНК других представителей рода *Bordetella*, каждый год увеличивалась на 1-2%.

За анализируемый период при обследовании с диагностической целью обнаружено 11781 (98,9%) положительных проб. В этих образцах выделялась ДНК *B. pertussis*, *B. parapertussis*, *B. bronchiseptica*, *Bordetella spp.* (рис. 6). При обследовании контактных лиц в очагах коклюша выявлено 130 (1,1%) положительных проб, в которых в 96,9% случаев детектирована ДНК *B. pertussis* и в 3,1% случаев - ДНК *B. parapertussis*.

Обсуждение. К настоящему времени разработано большое количество методик на основе амплификационных технологий, в том числе ПЦР в формате «мультиплекс» с детекцией в режиме реального времени, позволяющих выявлять в биологическом материале и

ОРГАНИЗАЦИЯ ЛАБОРАТОРНОЙ СЛУЖБЫ

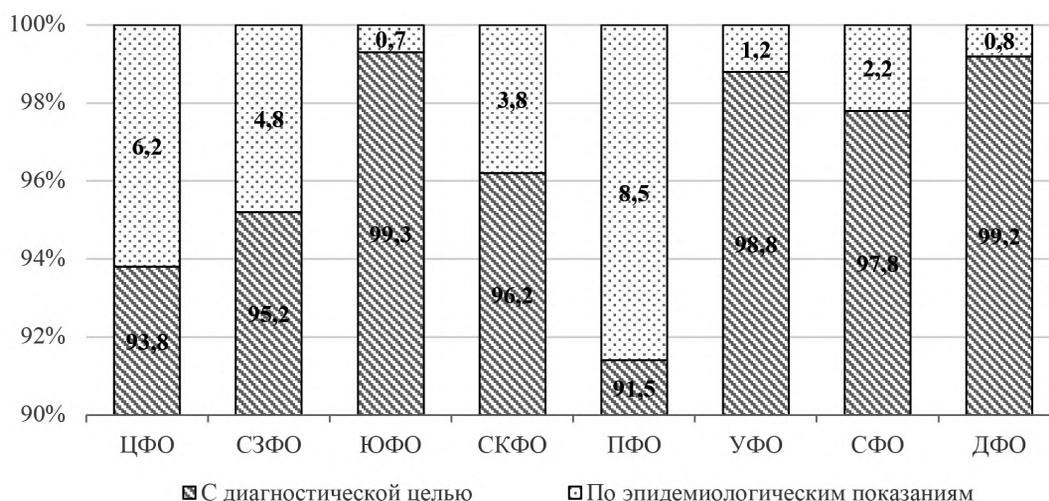


Рис. 4. Соотношение числа ПЦР-анализов на коклюш, проведённых с диагностической целью и по эпидемиологическим показаниям в ФО в 2013-2017 гг.

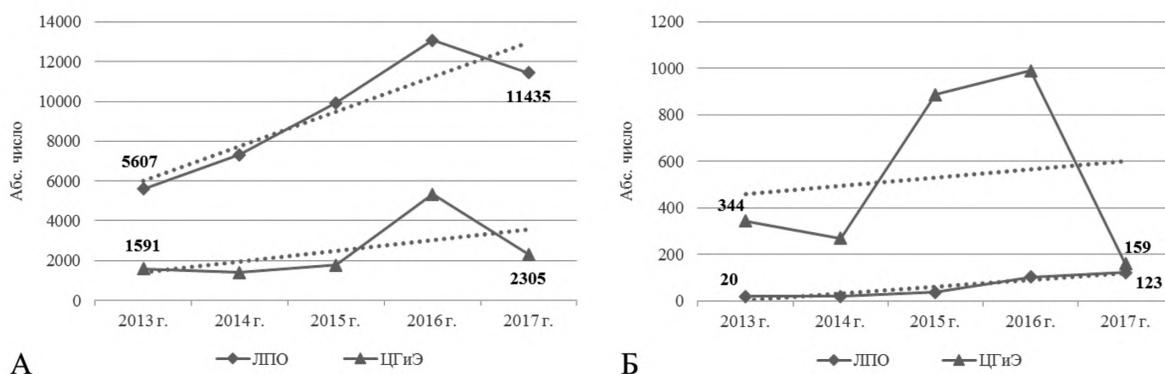


Рис. 5. Количество ПЦР-исследований на коклюш, выполненных в 2013-2017 гг. в лабораториях ЛПО и ЦГиЭ с диагностической целью (А) и по эпидемиологическим показаниям (Б).

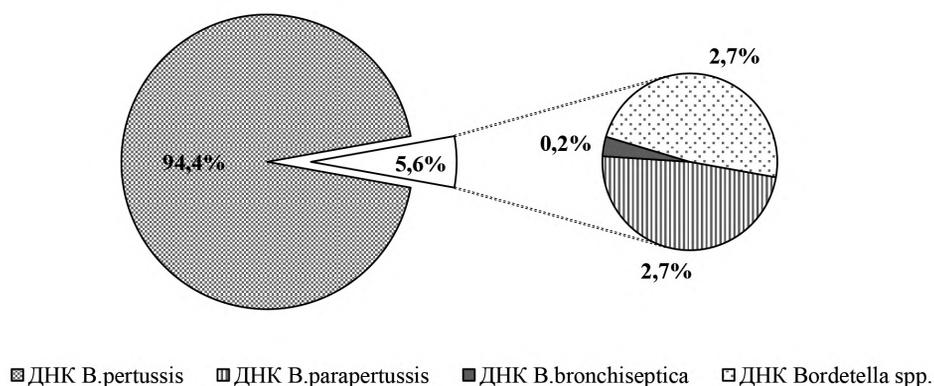


Рис. 6. Частота выявления в биологическом материале больных ДНК возбудителей коклюша и коклюшеподобных заболеваний на территории РФ в 2013-2017 гг.

дифференцировать до вида разных представителей рода *Bordetella* [15-22]. В качестве мишеней предложены специфические участки промоторной области коклюшного токсина, гена порина, гена аденилатциклазы, инсерционных элементов [18, 19, 23-26]. Использование упомянутых в литературе подходов и генов-мишеней сопряжено с рядом трудностей, так как все они наряду с определёнными достоинствами имеют и недостатки.

В последние годы за рубежом появились многочисленные данные, указывающие на увеличение циркуляции штаммов *B. holmesii* в популяции. Случаи заболевания, этиологическим агентом которых является *B. holmesii*, зарегистрированы в Австралии, Северной и Южной Америке, Азии, Африке, Европе [26-33]. Наибольшее число заболевших выявлено в 2010 г. в США в штате Огайо, где примерно у трети обследованных взрослых и детей

ДНК-положительные образцы, выявленные при обследовании лиц с подозрением на коклюш и контактных в очагах в РФ в 2013-2017 гг.

Годы	Всего положительных образцов	Из них содержащие ДНК							
		<i>B. pertussis</i>		<i>B. parapertussis</i>		<i>B. bronchiseptica</i>		<i>Bordetella spp.</i>	
		абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
2013	1 582	1 554	98,2	15	0,9	1	0,1	12	0,8
2014	2 104	2 019	96,0	37	1,7	2	0,1	46	2,2
2015	2 806	2 658	94,7	66	2,4	5	0,2	77	2,7
2016	3 372	3 148	93,3	116	3,4	9	0,3	99	3,0
2017	2 047	1 864	91,1	87	4,2	11	0,5	85	4,2

в возрасте 11-18 лет выделен этот возбудитель [26]. Во Франции у подростков и взрослых с коклюшеподобными симптомами в 20% случаев заболевание вызвано инфицированием *B. holmesii* [27]. В Испании за период 2013-2016 гг. среди пациентов с лабораторно подтвержденным коклюшем обнаружено 4,1% больных, в биологическом материале которых выявлена *B. holmesii*, при этом число заражений данным патогенном увеличилось с 3,9% в 2015 г. до 8,8% в 2016 г. [28]. В Марокко описаны случаи выделения *B. holmesii* в семейных очагах у младенцев и их матерей [29], в Японии – у детей, посещавших одно образовательное учреждение [30], что свидетельствует о возможности передачи возбудителя от человека к человеку воздушно-капельным путём при тесном и длительном контакте. В течение последних лет появились сообщения о циркуляции *B. holmesii* среди населения ряда стран, например Нидерландов, где ранее этот возбудитель не выявлялся [31]. По мнению зарубежных авторов, обусловленная *B. holmesii* респираторная инфекция часто классифицируется как «Коклюш, вызванный *B. pertussis*» [34]. При этом опубликованные данные свидетельствуют о том, что в странах с высоким уровнем охвата профилактическими прививками подъём заболеваемости может быть связан с циркуляцией *B. holmesii* [26-28, 31]. За рубежом разработано большое количество диагностических тестов на основе метода ПЦР, позволяющих идентифицировать ДНК разных представителей рода *Bordetella*, в том числе и *B. holmesii*, что значительно расширяет возможности ПЦР-диагностики коклюшной инфекции [18, 19, 26, 32, 35].

Проведённый анализ показал, что в РФ наблюдается положительная динамика роста числа лиц с подозрением на коклюшную инфекцию, обследование которых осуществляется методом ПЦР. Большинство исследований выполняется с диагностической целью. При этом отмечается увеличение доли лиц, обследуемых по эпидемиологическим показаниям. В субъектах РФ степень внедрения метода ПЦР в практическую работу лабораторий МО различна, в связи с чем, объём проводимых исследований сильно варьирует. Выявлены регионы, на территориях которых ПЦР-тестирование на коклюш не осуществляется. Полученные данные показали, что при обследовании лиц с подозрением на коклюшную инфекцию среди обнаруженных положительных образцов наравне с уменьшением доли проб, содержащих ДНК *B. pertussis*, отмечается увеличение доли образцов, в которых идентифицируется ДНК других представителей рода *Bordetella*, в том числе и *Bordetella spp.* Все образцы такого типа выявлялись исключительно при выполнении исследований с диагностической целью. В случае выделения из биологического материала пациента ДНК *Bordetella spp.* у врача отсутствуют сведения о видовой принадлежности возбудителя, в связи

с чем, при наличии характерной клинической картины заболевания ставится диагноз «Коклюш неуточнённый». С целью расширения возможностей обследования больных с подозрением на коклюш и коклюшеподобные заболевания и повышения информативности ПЦР-исследований в РФ, целесообразно совершенствование ПЦР-диагностики за счёт включения в диагностические тест-системы геномишеней, позволяющих идентифицировать ДНК разных представителей рода *Bordetella*, в том числе и *B. holmesii*. Предлагаемое направление будет способствовать поддержанию санитарно-эпидемиологического благополучия населения РФ по коклюшной инфекции.

Заключение. В РФ наблюдается выраженная тенденция к росту числа исследований методом ПЦР при обследовании лиц с подозрением на коклюшную инфекцию, осуществляемых как с диагностической целью, так и по эпидемиологическим показаниям. Показана целесообразность совершенствования ПЦР-диагностики в направлении расширения возможностей по идентификации представителей рода *Bordetella*, являющимися актуальными на сегодняшний день возбудителями коклюша и коклюшеподобных заболеваний.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА (пп. 8–10, 15–35 см. REFERENCES)

1. Паньков А. С., Денисюк Н. Б., Кайкова О. В. Эволюция коклюшной инфекции: вопросы профилактики. *Медицинский альманах*. 2015; 5(40): 129-32.
2. Таточенко В. К. Коклюш - недоуправляемая инфекция. *Вопросы современной педиатрии*. 2014; 13(2): 78-82.
3. Михеева И. В., Фомкина Н. Н., Михеева М. А. Современная эпидемиологическая и экономическая характеристика коклюша в Москве. *Журнал инфектологии*. 2019; 11(1): 84-91.
4. Михеева И. В., Салтыкова Т. С., Михеева М. А. Целесообразность и перспективы вакцинопрофилактики коклюша без возрастных ограничений. *Журнал инфектологии*. 2018; 10(4): 14-23.
5. Попова О. П., Петрова М. С., Бунин С. В., Персиянцева Е. А. Клинические аспекты эволюции коклюша у детей в современных условиях. *Инфекционные болезни*. 2017; 15(3): 33-40.
6. Гасилина Е. С., Китайчик 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. Иозефович О. В., Харит С. М., Каплина С. П. Распространённость коклюша у длительно кашляющих детей 6-17 лет, привитых в раннем возрасте АКДС вакциной. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2012; 66(5): 56-9.
11. Медкова А. Ю., Аляпкина Ю. С., Синяшина Л. Н., Амелина И. П., Алексеев Я. И., Каратаев Г. И. и др. Распространённость стёртых форм коклюша и анализ фазовых состояний бактерий *Bordetella pertussis*. *Детские инфекции*. 2010; 9(4): 19-22.

ОРГАНИЗАЦИЯ ЛАБОРАТОРНОЙ СЛУЖБЫ

12. Пименова А. С., Борисова О. Ю., Цвиркун О. В., Басов А. А., Алёшкин 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.
13. Нестерова Ю. В., Медкова А. Ю., Бабаченко И. В., Семин Е. Г., Калисникова Е. Л., Синяшина Л. Н. и др. Клинико-диагностическое значение генетических маркеров *Bordetella pertussis* у контактных лиц в семейных очагах. *Журнал инфектологии*. 2019; 11(1): 17-24.
14. Прадед М. Н., Яцышина С. Б., Селезнёва Т. С., Малинина С. В., Бирулёва 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. Pan'kov A. S., Denisyuk N. B., Kaykova O. V. Evolution of pertussis infection: issues of prophylaxis. *Meditsinskiy Almanakh*. 2015; 5(40): 129-32. (in Russian)
2. Tatochenko V. K. Pertussis - infection not under complete control. *Voprosy sovremennoy pediatrii*. 2014; 13(2): 78-82. (in Russian)
3. Mikheeva I. V., Fomkina N. N., Mikheeva M. A. Modern epidemiological and economic characteristics of whooping cough in Moscow. *Zhurnal Infektologii*. 2019; 11(1): 84-91. (in Russian)
4. Mikheeva I. V., Saltykova T. S., Mikheeva M. A. Expediency and prospects of a vaccinal prevention of whooping cough without age restrictions. *Zhurnal Infektologii*. 2018; 10(4): 14-23. (in Russian)
5. Popova O. P., Petrova M. S., Bunin S. V., Persiyantseva E. A. Clinical aspects of evolution of pertussis in children under modern conditions. *Infektsionnye bolezni*. 2017; 15(3): 33-40. (in Russian)
6. Gasilina E. S., Kitaychik 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. Iozefovich O. V., Kharit S. M., Kaplina S. P., Gostev V. V., Sidorenko S. V., Kalinogorskaya O. S. et al. The prevalence of pertussis in long coughing children 6-17 years old, vaccinated at an early age with DTP-vaccine. *Epidemiologiya i vaktsinoprofilaktika*. 2012; 66(5): 56-9. (in Russian)
8. 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.
9. 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.
10. Castillo M. E., Bada C., Del Aguila O., Petrozzi-Helasvuo V., Casabona-Ore V., Reyes I. Detection of *Bordetella pertussis* using a PCR test in infants younger than one year old hospitalized with whooping cough in five Peruvian hospitals. *International Journal of Infectious Diseases*. 2015; 41: 36-41.
11. 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)
12. Pimenova A. S., Borisova O. Y., Tsvirkun O. V., Basov A. S., Aleshkin V. A., Afanasiev S. S. et al. Effectiveness of molecular-genetic diagnostics during pertussis infection foci examination. *Infektsiya i immunitet*. 2017; 7(2): 162-70. (in Russian)
13. Nesterova Yu. V., Medkova A. Y., Babachenko I. V., Semin E. G., Kalisnikov E. L., Sinyashina L. N. et al. Clinical-diagnostic significance of genetic markers *Bordetella pertussis* in contacts in family centers. *Zhurnal Infektologii*. 2019; 11(1): 17-24. (in Russian)
14. 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)
15. Fry N. K., Duncan J., Wagner K., Tzivra O., Doshi N., Litt D.J. et al. Role of PCR in the diagnosis of pertussis infection in infants: 5 years' experience of provision of a same-day real-time PCR service in England and Wales from 2002 to 2007. *Journal of Medical Microbiology*. 2009; 58(Pt.8): 1023-9.
16. van der Zee A., Schellekens J.F., Mooi F.R. Laboratory diagnosis of pertussis. *Clinical Microbiology Reviews*. 2015; 28(4): 1005-26.
17. Lee A. D., Cassidy P. K., Pawloski L. C., Tatti K. M., Martin M. D., Briere E. C. et al. Clinical evaluation and validation of laboratory methods for the diagnosis of *Bordetella pertussis* infection: culture, polymerase chain reaction (PCR) and anti-pertussis toxin IgG serology (IgG-PT). *PLoS One*. 2018; 13(4): e0195979.
18. Guthrie J. L., Robertson A. V., Tang P., Jamieson F., Drews S. J. A novel duplex real-time PCR assay detects *Bordetella holmesii* in patients with pertussis-like symptoms in Ontario, Canada. *Journal of Clinical Microbiology*. 2010; 48(4): 1435-7.
19. Roorda L., Buitenwerf J., Ossewaarde J., van der Zee A. A real-time PCR assay with improved specificity for detection and discrimination of all clinically relevant *Bordetella* species by the presence and distribution of three insertion sequence elements. *BMC Research Notes*. 2011; 4(1): 11.
20. Sloan L. M., Hopkins M. K., Mitchell P. S., Vetter E. A., Rosenblatt J. E., Harmsen W. S. et al. Multiplex LightCycler PCR assay for detection and differentiation of *Bordetella pertussis* and *Bordetella parapertussis* in nasopharyngeal specimens. *Journal of Clinical Microbiology*. 2002; 40(1): 96-100.
21. Templeton K. E., Scheltinga S. A., van der Zee A., Diederer B. M., van Kruijssen A., Goossens H. et al. Evaluation of real-time PCR for detection of and discrimination between *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis*, and *Bordetella holmesii* for clinical diagnosis. *Journal of Clinical Microbiology*. 2003; 41(9): 4121-6.
22. Kosters K., Reischl U., Schmetz J., Riffelmann M., Wirsing von Konig C.H. Real-time LightCycler PCR for detection and discrimination of *Bordetella pertussis* and *Bordetella parapertussis*. *Journal of Clinical Microbiology*. 2002; 40(5): 1719-22.
23. Glare E. M., Paton J. C., 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.
24. van der Zee A., Agterberg C., van Agterveld M., Peeters M., Mooi F.R. Characterization of IS1001, an insertion sequence element of *Bordetella parapertussis*. *Journal of Bacteriology*. 1993; 175(1): 141-7.
25. Tatti K. M., Sparks K. N., Boney K. O., Tondella M. L. Novel multitarget real-time PCR assay for rapid detection of *Bordetella* species in clinical specimens. *Journal of Clinical Microbiology*. 2011; 49(12): 4059-66.
26. Rodgers L., Martin S.W., Cohn A., Budd J., Marcon M., Terranella A. et al. Epidemiologic and laboratory features of a large outbreak of pertussis-like illnesses associated with cocirculating *Bordetella holmesii* and *Bordetella pertussis* - Ohio, 2010-2011. *Clinical Infectious Diseases*. 2013; 56(3): 322-31.
27. Njamkepo E., Bonacorsi S., Debryne M., Gibaud S.A., Guillot S., Guiso N. Significant finding of *Bordetella holmesii* DNA in nasopharyngeal samples from French patients with suspected pertussis. *Journal of Clinical Microbiology*. 2011; 49(12): 4347-8.
28. Mir-Cross A., Codina G., Martin-Gomez T.M., Fabrega A., Martinez X., Jane M. et al. Emergence of *Bordetella holmesii* as a causative agent of whooping cough, Barcelona, Spain. *Emerging Infectious Diseases*. 2017; 23(11): 1856-9.
29. Katfy K., Guiso N., Diawara I., Zerouali K., Slaoui B., Joughadi Z. et al. Epidemiology of pertussis in Casablanca (Morocco): contribution of conventional and molecular diagnosis tools. *BMS Infectious Diseases*. 2017; 17(1): 348.
30. Kamiya H., Otsuka N., Ando Y., Odaira F., Yoshino S., Kawano K. et al. Transmission of *Bordetella holmesii* during pertussis outbreak, Japan. *Emerging Infectious Diseases*. 2012; 18(7): 1166-9.
31. Mooi F. R., Bruisten S., Linde I., Reubsat F., Heuvelman K., van der Lee S. et al. Characterization of *Bordetella holmesii* isolates from patients with pertussis-like illness in Netherlands. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*. 2012; 64(2): 289-91.
32. Fong W., Timms V., Holmes N., Sintchenko V. Detection and incidence of *Bordetella holmesii* in respiratory specimens from patients with pertussis-like symptoms in New South Wales, Australia. *Pathology*. 2018; 50(3): 322-6.
33. Bottero D., Griffith M.M., Lara C., Flores D., Pianciola L., Gaillard M.E. et al. *Bordetella holmesii* in children suspected of pertussis in Argentina. *Epidemiology and Infection*. 2013; 141(4): 714-7.
34. Pittet L.F., Posfay-Barbe K.M. *Bordetella holmesii*: still emerging and elusive 20 years on. *Microbiology Spectrum*. 2016; 4(2).
35. Reischl U., Lehn N., Sanden G.N., Loeffelholz M.J. Real-time PCR assay targeting IS481 of *Bordetella pertussis* and molecular basis for detecting *Bordetella holmesii*. *Journal of Clinical Microbiology*. 2001; 39(5): 1963-6.

Поступила 01.08.20

Принята к печати 04.08.20