

Коклюшные вакцины и роль липоолигосахарида *Bordetella pertussis* в иммунном ответе на коклюшную инфекцию и вакцинацию

И. А. Алексеева*, О. В. Перельгина, Е. Д. Колышкина

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Научный центр экспертизы средств медицинского применения»
Министерства здравоохранения Российской Федерации,
Петровский б-р, д. 8, стр. 2, Москва, 127051, Российская Федерация

В научной литературе опубликованы данные, свидетельствующие о «возвращении», «возрождении» коклюша. Проблема предупреждения и ликвидации заболеваемости коклюшем может быть решена только с помощью активной иммунизации восприимчивых контингентов высокоэффективной вакциной. Цель работы — охарактеризовать используемые в настоящее время цельноклеточные и бесклеточные коклюшные вакцины и оценить перспективу повышения их качества, в частности показать роль липоолигосахарида — антигена клеточной стенки *Bordetella pertussis* — в индуцировании адаптивного иммунитета. В статье кратко изложена схема патогенеза коклюшной инфекции, особенности формирования постинфекционного и поствакцинального противокклюшного иммунитета и рассмотрены способы улучшения коклюшных вакцин. Повышение качества существующих вакцин связано со снижением реактогенности цельноклеточной коклюшной вакцины и повышением иммуногенной активности бесклеточной коклюшной вакцины. Одна из возможностей понижения реактогенности цельноклеточной вакцины заключается в уменьшении количества коклюшных клеток в дозе вакцины при условии, что эти действия не отразятся на иммуногенной активности препарата. Другой возможный путь снижения реактогенности может заключаться в отборе вакцинных штаммов по содержанию в них эндотоксина липоолигосахарида (ЛОС). Для улучшения качества бесклеточных вакцин необходимо решить многие проблемы. Одна из них заключается в поиске и выделении новых протективных антигенов. В результате анализа данных литературы продемонстрировано, что ЛОС является чрезвычайно важным антигеном, участвующим в иммунном ответе организма и обеспечивающим Th1- и Th17-клеточный ответ на коклюшную инфекцию, что является определяющим при борьбе с бактериями *B. pertussis*. Учитывая эволюционную стабильность структуры ЛОС, этот антиген (его нетоксичная олигосахаридная часть) может рассматриваться в качестве кандидата в состав бесклеточной коклюшной вакцины.

Ключевые слова: коклюш; цельноклеточная коклюшная вакцина; бесклеточная коклюшная вакцина; липоолигосахарид *Bordetella pertussis*

Для цитирования: Алексеева ИА, Перельгина ОВ, Колышкина ЕД. Коклюшные вакцины и роль липоолигосахарида *Bordetella pertussis* в иммунном ответе на коклюшную инфекцию и вакцинацию. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2021;21(1):10–19. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2021-21-1-10-19>

***Контактное лицо:** Алексеева Ирина Андреевна; Alekseeval@expmed.ru

Pertussis vaccines and the role of *Bordetella pertussis* lipooligosaccharide in the immune response to pertussis infection and vaccination

I. A. Alekseeva*, O. V. Pereyagina, E. D. Kolyshkina

Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products,
8/2 Petrovsky Blvd, Moscow 127051, Russian Federation

Some scientific publications contain data suggesting the “return” or “resurgence” of pertussis. Prevention and elimination of pertussis can only be achieved by extensive immunisation of susceptible populations with a highly effective vaccine. The aim of the study was to characterise available whole-cell and acellular pertussis vaccines and to assess the feasibility of improving their quality, for instance, to demonstrate the role of lipooligosaccharide (LOS)—*Bordetella pertussis* cell wall antigen—in the induction of adaptive immunity. The paper summarises pathogenesis of pertussis, development of post-infection and post-vaccination immunity, and potential ways of improving pertussis vaccines. Improvement of quality of available vaccines can be achieved by reducing reactogenicity of whole-cell pertussis vaccines and enhancing immunogenic activity of acellular pertussis vaccines. One way to reduce reactogenicity of a whole-cell vaccine is to reduce the number of pertussis cells in the vaccine dose, provided that this does not affect the immunogenic activity of the product. Another possible way of reducing reactogenicity is to select vaccine strains based on the LOS endotoxin content. Improvement of acellular vaccine quality involves addressing many issues, such as identification and isolation of new protective antigens. Literature review demonstrated that LOS is a key antigen, because it is involved in the body’s immune response and ensures Th1 and Th17 cell responses to pertussis, which is crucial for protection from *B. pertussis* bacteria. Considering the evolutionary stability of the LOS structure, this antigen (i.e. its non-toxic oligosaccharide part) can be considered as a candidate for acellular pertussis vaccine.

Key words: pertussis; whole-cell pertussis vaccine; acellular pertussis vaccine; *Bordetella pertussis* lipooligosaccharide

For citation: Alekseeva IA, Pereyagina OV, Kolyshkina ED. Pertussis vaccines and the role of *Bordetella pertussis* lipooligosaccharide in the immune response to pertussis infection and vaccination. *BIOpreparaty. Profilaktika, diagnostika, lechenie = BIOpreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2021;21(1):10–19. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2021-21-1-10-19>

***Corresponding author:** Irina A. Alekseeva; Alekseeval@expmed.ru

Коклюш — это инфекционное заболевание дыхательных путей, вызываемое грамотрицательной бактерией *Bordetella pertussis*, являющейся строгим патогеном человека, который поражает как детей, так и взрослых [1]. В настоящее время коклюш входит в число 10 инфекций с самыми высокими показателями заболеваемости и смертности во всем мире среди детей в возрасте до 5 лет [2]. У детей грудного возраста (до 1 года) коклюш протекает наиболее тяжело, при этом бактерии распространяются в легкие и вызывают некротизирующий бронхолит, внутриальвеолярное кровотечение, фибринозное воспаление и отек [3]. Инфекция *B. pertussis* может осложниться энцефалопатией и, хотя и редко, кровоизлиянием в мозг¹. В тяжелых случаях возникает выраженный лимфоцитоз, который коррелирует с трудноизлечимой гипертензией, дыхательной недостаточностью и летальным исходом. Почти 90% всех случаев смерти от коклюша приходится на детей в возрасте до 4 месяцев [3].

Для борьбы с коклюшем уже более шести десятилетий используют цельноклеточную коклюшную вакцину (ЦКВ). Со второй половины 1990-х годов в практику здравоохранения введены бесклеточные коклюшные вакцины (БКВ). Однако применение этих вакцин не защищает население от распространения коклюша, которое регистрируется во многих странах мира.

Цель работы — охарактеризовать используемые в настоящее время цельноклеточные и бесклеточные коклюшные вакцины и оценить перспективу повышения качества коклюшных вакцин, в частности показать роль липоолигосахарида — антигена клеточной стенки *B. pertussis* — в индуцировании адаптивного иммунитета.

Введение в США в 1940-е годы ЦКВ привело к резкому снижению заболеваемости и смертности от этой инфекции, и к началу 1970-х годов коклюш был практически искоренен в развитых странах мира [4]. При своей высокой эффективности ЦКВ обладает определенной реактогенностью, что в 1970-х годах послужило поводом для высказывания опасений по поводу ее безопасности [5]. На основании инициированного исследования, проведенного в Великобритании и направленного на оценку острых неврологических заболеваний у детей в возрасте от 2 до 26 месяцев, был сделан вывод, что цельноклеточная вакцина могла индуцировать у вакцинированных энцефалические реакции и энцефалопатию [6]. Позже эта информация была признана необоснованной. Результаты постмаркетингового анализа, проведенного в ответ на «нападки» антипрививочной кампании, не подтвердили взаимосвязь между развитием энцефалопатии, повреждениями головного мозга или тяжелыми неврологическими расстройствами и введением ко-

клюшной вакцины². Тем не менее сомнения в качестве вакцины привели во многих странах мира к резкому сокращению охвата детского населения прививками, что почти сразу же вызвало крупнейшие со времен довакцинального периода эпидемии коклюша и привело к существенному увеличению младенческой смертности — гораздо более тяжелому исходу, чем предполагаемая опасность от ЦКВ [4].

Реактогенность этой вакцины стимулировала исследования по изготовлению препаратов нового поколения — БКВ, состоящих из изолированных антигенов *B. pertussis*³ [1, 5]. БКВ могут содержать от одного до пяти очищенных и детоксифицированных бактериальных белков — коклюшный анатоксин (КА), филаментозный гемагглютинин (ФГА), пертактин (ПРН), фимбрии (агглютиногены) 2 и 3 (ФИМ 2, ФИМ 3)⁴ [5, 7]. Разработанные БКВ по сравнению с ЦКВ более безопасны, несомненно, менее реактогенны и, как уже установлено, менее эффективны⁵ [4, 8, 9]. БКВ является компонентом комбинированного препарата DTapP, в который, помимо коклюшной вакцины, входят дифтерийный и столбнячный анатоксины. БКВ вначале использовали в качестве бустера, а затем быстро заменили ими ЦКВ и распространили на все группы населения. Следствием явилось изменение коллективного иммунитета путем целенаправленного (специфического) воздействия на вирулентность циркулирующих бактерий [4].

В последующие годы, несмотря на высокий уровень охвата населения прививками (более 90%), во многих странах Европы, Северной Америки⁶, а также в Австралии⁷ (страны, которые для профилактики используют исключительно БКВ⁸ [10–13]) стал наблюдаться рост заболеваемости коклюшем. Много вспышек заболевания произошло среди детей, получивших только БКВ, появились сообщения об ослаблении иммунитета после БКВ [9, 14]. В ряде стран были зарегистрированы эпидемии⁹ [2, 13].

Данные, опубликованные в научной литературе, свидетельствуют о «возвращении», «возрождении» коклюша, что, несомненно, является угрозой общественному здоровью [15, 16]. Проблема роста заболеваемости коклюшем после широкого использования БКВ может быть связана с недостаточным и кратковременным иммунитетом, вызванным этими вакцинами¹⁰ [4, 8]. Так, даже 5 прививок БКВ не способны обеспечить такую же длительную защиту от коклюша, как одна прививка ЦКВ [9].

Возможные причины недостаточной эффективности бесклеточных коклюшных вакцин

Исследователи выделяют несколько возможных причин недостаточной эффективности адаптивного иммунитета, индуцированного БКВ. Среди них — несоответствие постав-

¹ Pertussis vaccines: WHO position paper. Wkly Epidemiol Rec. 2010;85(40):385–400.

² Там же.

³ Там же.

⁴ Там же.

⁵ Pertussis vaccines: WHO position paper. Wkly Epidemiol Rec. 2010;85(40):385–400.

Pertussis vaccines: WHO position paper. Wkly Epidemiol Rec. 2015;90(35):433–60.

Meeting of the Strategic Advisory Group of Experts on Immunization, April 2014 — conclusions and recommendations. Wkly Epidemiol Rec. 2014;89(21):221–36.

⁶ Provisional 2015 Reports of Notifiable Diseases. 2015 Provisional Pertussis Surveillance Report. 2016;64(52). <http://www.cdc.gov/pertussis/downloads/pertuss-surv-report-2015-provisional.pdf>

⁷ Australian Government Department of Health and Ageing. National Notifiable Diseases Surveillance System (NNDSS). Notification Rate for Pertussis, Australia, in the period of 1991 to 2019 and year-to-date notifications for 2020. (Reports. All diseases by State/Territory). http://www9.health.gov.au/cda/source/rpt_3.cfm

⁸ Pertussis epidemic — Washington, 2012. Centers for Disease Control and Prevention. Morb Mortal Wkly Rep. 2012;61(28):517–22.

⁹ Там же.

¹⁰ Pertussis vaccines: WHO position paper. Wkly Epidemiol Rec. 2015;90(35):433–60.

Meeting of the Strategic Advisory Group of Experts on Immunization, April 2014 — conclusions and recommendations. Wkly Epidemiol Rec. 2014;89(21):221–36.

цинального иммунитета постинфекционному; недостаточно сбалансированный состав антигенов, входящих в вакцину; отсутствие в профилактическом препарате потенциально важных протективных антигенов *B. pertussis*; эволюция патогена, что проявляется различием между антигенами в вакцине и аналогичными антигенами, экспрессируемыми современными циркулирующими штаммами [8, 16, 17].

Как считают исследователи, эволюция патогена, которая проявляется адаптивными мутациями генов *B. pertussis*, берет свое начало с периода использования ЦКВ, а широкое применение БКВ усилило и ускорило изменения в антигенах: коклюшный токсин (КТ), ФГА, ПРН, ФИМ 2, ФИМ 3, входящих (после инактивации) в коклюшные вакцины [17]. Незначительная продолжительность защиты, создаваемой БКВ, способствовала появлению штаммов, способных уклоняться от иммунитета хозяина, индуцированного вакциной с ограниченным содержанием антигенов [18, 19]. Ряд современных циркулирующих штаммов экспрессирует более высокие уровни ряда факторов вирулентности, включая КТ, систему секреции III типа ТЗСС (Type three secretion system) и др., то есть бактерии *B. pertussis*, становясь более вирулентными для человека, способны более эффективно подавлять иммунитет хозяина [10, 20]. Среди циркулирующих штаммов выделены отдельные изоляты, которые не продуцируют поверхностный антиген ПРН. В настоящее время активно оценивается влияние ПРН-отрицательных (ПРН-) штаммов на тяжесть течения заболевания [21]. Появление изолятов ПРН- в Австралии [22], Европе [23], Японии [24] и США [25] отражает лучшую приспособленность бактериального патогена к популяции людей, иммунизированной БКВ и имеющей антитела, направленные против ПРН [22, 23, 25]. Эти изоляты так же вирулентны, как и те, которые экспрессируют все факторы вирулентности, что показано в исследованиях на животных и клеточных моделях инфекции [26], а также по данным врачей клиницистов [27]. Помимо штаммов ПРН- выделены изоляты, не продуцирующие КТ, ФГА, ФИМ 2, ФИМ 3, то есть те антигены, которые также входят в состав БКВ [16, 28]. Эти данные свидетельствуют, что бактерии *B. pertussis* адаптировались к селективному давлению БКВ. В связи с этим актуальны исследования, направленные на выявление новых антигенов из современных циркулирующих штаммов *B. pertussis*, которые могут быть использованы в качестве кандидатов в БКВ.

Возрождение коклюша как глобальной проблемы общественного здравоохранения ставит задачу по разработке вакцины:

- обладающей приемлемым профилем безопасности;
- обеспечивающей длительный иммунитет, по эффективности сравнимый с ЦКВ;
- имеющей состав, позволяющий минимизировать влияние антигенного дрейфа;
- способной индуцировать бактерицидные антитела;
- предотвращающей передачу патогена;
- снижающей тяжесть течения инфекции.

Возможные способы улучшения коклюшных вакцин

По мнению исследователей, возможные способы улучшения коклюшных вакцин включают:

- снижение реактогенности ЦКВ при сохранении ее высокой защитной активности;
- использование в БКВ новых адъювантов, способных направлять иммунный клеточный ответ по типу Th1/Th17;
- применение живых аттенуированных вакцин;
- добавление в БКВ других протективных антигенов *B. pertussis* [15, 29–31].

Выявление и выбор других протективных антигенов требует более глубокого понимания механизмов вирулентности *B. pertussis* и развития иммунных реакций в организме человека в ответ на вакцинацию или естественную инфекцию [32]. Сложность решения поставленных вопросов связана с тем, что до настоящего времени в связи с многофакторностью патогенеза коклюша не установлен соответствующий маркер, отражающий состояние иммунитета при этой инфекции [33]. В связи с этим исследователи продолжают предпринимать усилия для идентификации антигенов *B. pertussis*, ответственных за индукцию защитного противококлюшного иммунитета.

Схема патогенеза коклюшной инфекции

Схематично изложенная в данном разделе картина патогенеза показывает роль отдельных выявленных в настоящее время антигенов *B. pertussis*. Патогенез коклюша до конца не ясен, периодически появляющиеся публикации дополняют информацию о роли факторов вирулентности *B. pertussis* в развитии заболевания [34].

Инфекционный процесс начинается с колонизации бактериями *B. pertussis* дыхательных путей хозяина. Колонизация происходит благодаря факторам вирулентности: адгезинам ФГА, ФИМ 2, ФИМ 3, ПРН, имеющим белковую природу. Адгезины, действуя синергически с коклюшным токсином, позволяют бактериям распространяться через носоглотку в трахею и легкие хозяина и вызывать патологические изменения. Кроме того, эти компоненты вызывают инактивацию движения ресничек клеток эпителия, приводящую к неспособности удаления слизи из дыхательных путей, что препятствует механическому удалению бактерий *B. pertussis* и является одной из причин длительного кашля [32].

Трахеальный цитотоксин (ТЦТ), пептидогликан, высвобождаемый из клеточной стенки *B. pertussis*, и липоолигосахарид (ЛОС) — компонент наружной клеточной мембраны, действуя синергически, разрушают клетки эпителия дыхательной системы путем инициирования высвобождения реактивных форм кислорода, таких как окись азота (NO). ЛОС, взаимодействуя с Toll-подобным рецептором 4 (TLR-4) дендритных клеток (ДК), инициирует синтез и секрецию этими клетками провоспалительных цитокинов. ТЦТ, подавляя синтез ДНК в клетках эпителия трахеи, вызывает в них цитотоксические изменения [32, 35].

Дермонекротический токсин (ДНТ), цитоплазматический полипептид, вызывает воспаление, спазм кровеносных сосудов и некротические поражения в месте колонизации.

Бактерии *B. pertussis* с помощью ФГА способны к прямой инвазии эпителиальных клеток. Кроме того, как и другие патогенные микроорганизмы слизистых оболочек, они создают биопленку на поверхности эпителия дыхательных путей, способствующую бактериальной колонизации и выживанию патогена в дыхательных путях хозяина [34]. Биопленка обладает пространственной и метаболической структурой и обеспечивает для своих членов устойчивость к фагоцитозу и антибиотикам. Кроме того, она способна подавлять иммунный ответ хозяина, что приводит к высокой патогенности такой структуры и необходимости изучать новые «биопленочные» антигены.

Токсин аденилатциклаза (АЦТ) и система секреции III типа (ТЗСС) вместе с эффекторным белком бактерии BteA влияют на пути передачи сигналов в эндотелиальных клетках, вызывая цитотоксичность, которая увеличивает доступность источников железа (Fe²⁺), необходимых для жизнедеятельности бактерий при прикреплении к тканям организма хозяина.

Таким образом, в патогенезе коклюша участвуют многие факторы вирулентности. Очевидно, что для обеспечения оптимального ответа коклюшная вакцина должна быть композицией многих антигенов *B. pertussis*, каждый из которых выполняет определенную функцию в формировании адаптивного иммунитета.

Эффективный иммунитет при коклюшной инфекции обусловлен активностью клеток врожденной иммунной системы, стимулирующих под влиянием факторов патогенности *B. pertussis* развитие как гуморальных, так и клеточных реакций адаптивного иммунитета, и включает в себя защиту как против внеклеточных циркулирующих бактерий, так и против бактерий, которые преодолели механизмы иммунитета хозяина и проникли в клетки.

Постинфекционный и поствакцинальный противококлюшный иммунитет

При естественной инфекции *B. pertussis* индуцирует выработку антител IgG и IgA класса, направленных против антигенов наружной клеточной стенки бактерии: ЛОС, ФГА, ПРН, ФИМ 2, ФИМ 3. Бактерии *B. pertussis*, расположенные внеклеточно, могут быть уничтожены антителами, распознающими и связывающими поверхностные антигены патогена при условии активации комплемента [36]. Такие антитела присутствуют в сыворотке крови пациентов во время заболевания и после выздоровления. Установлено, что антитела IgG3 класса, направленные против ЛОС *B. pertussis*, обладают бактерицидной активностью [32, 36]. Результаты исследований, проведенных среди детей с коклюшной инфекцией, подтвердили, что иммунная система хозяина реагирует на ЛОС *B. pertussis* выработкой антител, направленных против ЛОС и обладающих бактерицидной активностью [32, 37]. Полученные результаты [36, 38] подтвердили, что, несмотря на развитые механизмы адаптации *B. pertussis* к иммунной системе хозяина, бактерицидные антитела преодолевают защитные барьеры бактерий, в частности механизмы резистентности, обусловленные белками наружной мембраны патогена BrkA (*Bordetella resistance to killing, frame A*), что приводит к инaktivации и гибели патогена. Антитела, направленные против токсинов *B. pertussis*, нейтрализуют их и препятствуют связыванию бактерий с клетками дыхательного эпителия, тем самым облегчая абсорбцию и уничтожение патогенных микроорганизмов макрофагами и нейтрофилами.

Необходимо отметить, что в основном все выявленные поверхностные протективные антигены *B. pertussis* являются белками, подверженными антигенному дрейфу, в результате которого появляются новые, измененные формы белков, что позволяет циркулирующим бактериям избежать иммунной реакции хозяина [16, 39]. В отличие от них ЛОС является консервативным молекулярным паттерном (pathogen associated molecular patterns, PAMP), сохраняющим постоянство своей структуры и состава и играющим важную роль в отношениях хозяин–бактерия, в частности приводящим к активации клеток врожденной иммунной системы, таких как макрофаги и дендритные клетки. ДК, в свою очередь, способствуют переводу врожденного иммунитета в адаптивный [40]. ДК и макрофаги экспрессируют широкий спектр рецепторов PRR (pattern recognition receptor), способных распознавать молекулярные паттерны микроорганизма, что позволяет через обнаружение паттерна выявлять и идентифицировать патогены [41]. Так, TLR4 обнаруживает липополисахарид (ЛПС), в случае *B. pertussis* — ЛОС [41]. TLR4 в комплексе с рецептором MD-2 участвует в связывании лиганда, рецептор CD14 контролирует пре-

зентацию ЛОС комплексу TLR4/MD-2. Взаимодействие между ЛОС и рецепторным комплексом CD14/TLR4/MD-2 оказывает решающее влияние на амплитуду клеточных реакций [42].

ЛОС *B. pertussis*, связавшись с TLR4, направляет в дендритную клетку активирующий сигнал, который инициирует этой клеткой синтез и секрецию провоспалительных интерлейкинов (IL) IL-1 β , IL-6, IL-12, IL-23, IFN- γ (интерферон- γ) [32, 43, 44]. IL-12 способствует дифференцировке наивных Т-клеток в Т-клетки хелперы типа 1 (Th1); IL-1 β и IL-23 — в Th17 [45, 46]. В свою очередь, Т-клетки Th1 и Th17 секретуют цитокины IFN- γ и IL-17, которые усиливают выработку опсонизирующих антител и привлекают макрофаги и нейтрофилы для поглощения и внутриклеточного уничтожения бактерий в результате действия активных форм кислорода и азота [5, 32, 36].

При естественной инфекции индуцируется выработка антител против многочисленных бактериальных токсинов, что препятствует цитотоксическому действию патогена на клетки хозяина. Кроме того, происходит выработка бактерицидных антител, направленных непосредственно на элиминацию бактерий *B. pertussis* [36].

Таким образом, для эффективной защиты коклюшная вакцина, подобно естественной инфекции, должна индуцировать выработку как противотоксичных антител, так и антител с бактерицидной активностью, способствующей прямому устранению бактерий из дыхательных путей.

ЦКВ, состоящая из инактивированных бактерий *B. pertussis*, индуцирует выработку иммунного ответа, аналогичного ответу при естественном инфицировании, только на более низком уровне [47]. ЛОС инактивированных клеток, так же как ЛОС циркулирующих штаммов, являясь основным экспонируемым компонентом на поверхности клетки, активирует дендритные клетки и макрофаги к выработке провоспалительных интерлейкинов IL-12, IL-23 [48]. Под их влиянием образуются опсонизирующие антитела, активируются макрофаги и нейтрофилы, способные поглощать и уничтожать бактерии. Как считают исследователи [49], ЛОС как основной компонент *B. pertussis*, ответственный за производство IL-12 дендритными клетками и макрофагами, обуславливает высокую эффективность ЦКВ.

Значима роль ЛОС как активатора рецептора TLR4, так как на ранней стадии инфекции специфические антимикробные механизмы, запускаемые стимуляцией TLR4, способны препятствовать колонизации *B. pertussis*. У мышей, имеющих точечную мутацию в гене Tlr4, приводящую к дефектной трансдукции сигнала, не происходит элиминации патогенных бактерий после заражения культурой *B. pertussis* [48].

БКВ, в отличие от естественной инфекции *B. pertussis* и ЦКВ, не содержит ЛОС, не активирует ДК и макрофаги, не вызывает выработку опсонизирующих антител IgG2a [43, 49]. Этот тип вакцин индуцирует экспрессию цитокинов, поляризуя клеточный иммунный ответ, в основном в сторону Th2, что при инфицировании задерживает удаление бактерий из организма хозяина [5]. Так, в исследовании A. Gzyl с соавт. [50] установлено, что у иммунизированных БКВ мышей после их заражения патогенной культурой *B. pertussis* элиминация бактерий из легких происходит за 16–27 сут, тогда как у мышей, иммунизированных ЦКВ, — за 3–7 сут. Аналогичная тенденция установлена в экспериментах с обезьянами бабуинами [47].

Таким образом, коклюшные вакцины (ЦКВ и БКВ) стимулируют различные Т-клеточные ответы. Естественная инфекция и ЦКВ индуцируют смешанный Т-клеточный ответ IFN- γ /IL-17 (Th1/Th17), тогда как БКВ индуцируют в основном ответ IL-4,

IL-5/IL-17 (Th2/Th17) и относительно низкие уровни IFN- γ [15, 51]. Важную роль IFN- γ в защите от инфекции *B. pertussis* установили К. Н. Mills с соавт. [52].

Белковые антигены БКВ обеспечивают выработку анти-токсических антител IgG1 класса, направленных на нейтрализацию КТ, и антител, направленных против адгезинов (ФГА, ПРН, ФИМ 2, ФИМ 3), но не вызывают выработку бактерицидных антител, которые необходимы для элиминации бактерий *B. pertussis*. Неспособность БКВ индуцировать бактерицидную активность в организме вакцинированного может быть одной из причин ее низкой эффективности [53].

В связи с этим роль ЛОС, основного компонента клеточной стенки бактерий *B. pertussis*, способного стимулировать выработку бактерицидных антител, чрезвычайно важна в формировании эффективного иммунного ответа. ЛОС следует рассматривать как важный компонент коклюшной вакцины [54].

Значение липоолигосахарида *B. pertussis* в индуцировании иммунитета

ЛОС *B. pertussis* — это молекулярный паттерн, обладающий чрезвычайно важным для протективного антигена свойством — стабильностью структуры. Различные ЛОС, выделенные из клинических изолятов до и после эры вакцинации, были идентичны ЛОС вакцинного штамма. Это подтверждает, что использование на протяжении более 60 лет коклюшных вакцин не привело к каким-либо изменениям в структуре ЛОС [54]. Приведенные данные демонстрируют жизненно важную роль ЛОС для бактериальной клетки. Структура некоторых других антигенов клетки *B. pertussis*, по-видимому, менее значимых для ее жизнедеятельности, в борьбе с селективным давлением вакцин была подвержена изменениям или утрате отдельных генов (например, гена пертактина).

Кроме иммуномодулирующей функции ЛОС играет важную роль в защите от врожденного иммунитета хозяина. В частности, защищает бактерии *B. pertussis* от сурфактантного белка А (Surfactant Protein A, SP-A), который участвует в иммунной защите дыхательных путей хозяина, связываясь с липидом А бактериального ЛОС и вызывая дестабилизацию бактериальной мембраны, что способствует фагоцитозу бактерий нейтрофилами и макрофагами. Бактерии, у которых ЛОС был лишен хотя бы одного моносахарида в терминальном трисахариде, были связаны и агрегированы белком SP-A. Предполагается, что ЛОС *B. pertussis* защищает бактерии от SP-A-опосредованного клиренса, возможно, путем стерического ограничения доступа к области липида А [55]. Иммуностимулирующие свойства ЛОС делают его потенциально важным компонентом вакцины [56]. Являясь основным поверхностным антигеном бактериальной клетки, ЛОС может подвергаться бактерицидной атаке, направленной против *B. pertussis* [57].

ЛПС является важнейшим компонентом наружной части клеточной мембраны всех грамотрицательных бактерий, обладает термостабильными свойствами [58]. Подсчитано, что одна бактериальная клетка содержит миллионы молекул ЛПС, которые занимают три четверти бактериальной поверхности, остальную область занимают белки [59]. Молекулы ЛПС благодаря сильному взаимодействию между собой формируют очень плотный слой. А насыщенные жирные кислоты липида А, входящего в состав ЛПС, обеспечивают гидрофобными свойствами как саму молекулу ЛПС, так и наружную мембрану, в состав которой эти молекулы входят [60, 61]. Молекулы ЛПС обеспечивают структурную целостность бактериальной клетки и защищают мембрану от агрессивных воздействий окружаю-

щей среды, в том числе от действия ряда лекарственных препаратов, используемых в клинической практике [58].

Как правило, молекула ЛПС состоит из трех ковалентно связанных компонентов [60]:

1) липидного, который представлен двумя липидами, так называемыми А и Х. Фракция Х обладает классической активностью эндотоксина. Липид А обладает меньшей токсичностью, является сильным адъювантом и стимулирует выработку интерлейкина 1 [34]. Липид А является наиболее консервативной частью ЛПС и закрепляет молекулу ЛПС в бактериальной мембране. Именно липид А в молекуле ЛПС является молекулярным паттерном, а именно «патогенным штрихкодом», интерпретируемым врожденной иммунной системой млекопитающего как признак инфекции [62]. Липиды А и Х ответственны за эндотоксичность ЛОС [63], которая обуславливает относительно высокую реактогенность ЦКВ и исключает использование ЛОС в нативной форме в качестве вакцинного антигена. При разрушении бактериальной клетки липиды высвобождаются в кровь и могут вызывать тяжелые токсические последствия вплоть до септического шока;

2) центрального олигосахарида — ядра, которое представлено одной молекулой кетодезоксиоктоновой кислоты (KDO) и двумя гептозами, которые, как молекулярный мостик, соединяют ядро с липидом А [55]. Химическая структура ядра достаточно консервативна и не претерпела изменений за весь период использования вакцин. Так, структура олигосахарида *B. pertussis* современных клинических изолятов идентична структуре олигосахарида довакцинальных штаммов [54]. Сравнительно недавно было предложено считать стабильную и консервативную часть внутреннего ядра ЛОС, а именно гептозу-1,7-бисфосфат, молекулярным паттерном [64]. Бактерии-мутанты, у которых в ядре отсутствует молекула гептозы, не способны колонизировать ткани хозяина и чрезвычайно восприимчивы к экологическим стрессам [61]. Это доказывает, что построение полноценной молекулы ЛОС имеет решающее значение для выживания бактерий в организме хозяина. В связи с чем ЛОС является перспективным антигеном для введения в состав БКВ при условии снижения или освобождения от токсичности липида. Ядро и О-антиген экспонированы в окружающую среду;

3) О-антигена, дистальной части молекулы ЛПС, представляющей собой высоковариабельную цепь полисахаридов. Эта часть ЛПС является наиболее иммуногенной и легко распознается иммунной системой хозяина. О-антиген отсутствует у некоторых грамотрицательных бактерий, в частности у *Bordetella pertussis*, *Neisseria meningitidis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis*, *Campylobacter coli*, *Campylobacter jejuni* [65]. На месте О-боковой цепи у *B. pertussis* имеется нерастворимый трисахарид [63, 65], в связи с чем ЛПС *B. pertussis* называют ЛОС [65]. Особенности структуры ЛОС приводят к более низкому уровню индукции цитокинов, что позволяет (в определенной степени) бактериям избегать ответа иммунной системы организма хозяина [66].

Элиминация бактерий является лучшим исходом при инфицировании, поскольку инфицированные люди с субклиническим заболеванием могут заразить восприимчивых людей, у которых может развиваться фульминантная форма заболевания [36]. На ЛОС, основной поверхностный компонент *B. pertussis*, вырабатываются бактерицидные антитела, которые защищают организм хозяина от проникновения возбудителя в клетки, предотвращая цитотоксическое повреждение и таким образом обеспечивая эффективную защитную противокклюшную устойчивость. Бактерицидная активность не кор-

релировала с наличием антител ни к коклюшному токсину, ни к ФГА [36]. Установлено, что моноклональные антитела к ПРН, белку внешней мембраны, также обладают бактерицидным действием [67]. Но ПРН подвержен антигенному дрейфу и, видимо, не является жизненно необходимой структурой клетки, так как у некоторых современных изолятов этот поверхностный антиген отсутствует.

Важная роль ЛОС в защите от коклюшной инфекции подтверждена исследованиями Т.С. Селезневой. Автор доказала, что в постинфекционном иммунитете к *B. pertussis* основную роль играет бактерицидная активность антител против ЛОС¹¹. В проведенном исследовании были использованы сыворотки крови детей, вакцинированных АКДС-вакциной, вакцинированных АКДС-вакциной и переболевших коклюшем, невакцинированных и переболевших коклюшем, а также сыворотки крови переболевших коклюшем взрослых.

В сыворотках крови методом ИФА определяли уровень антител к экспериментально изготовленным фракциям коклюшного микроба — дезинтеграгу, белковой фракции, ЛПС. У вакцинированных детей (табл. 1) были выявлены наиболее высокие значения уровней антител к дезинтеграгу и белковой фракции коклюшного микроба, самый незначительный — к ЛПС. Через 18 месяцев уровни антител к ЛПС у привитых, непривитых, неболевших детей и взрослых практически не различались.

У переболевших коклюшем детей и взрослых наблюдается иная динамика иммунного ответа к использованным антигенам. Дети, ранее полностью привитые АКДС-вакциной, с бак-

териологически подтвержденным диагнозом «коклюш» имели достоверно более низкие титры антител к дезинтеграгу и белковой фракции по сравнению с вакцинированными. Напротив, уровень антител к ЛПС фракции значительно — в 5,6 раза превосходил уровень у привитых детей и в 24 раза — фоновый уровень. Такая же закономерность была выявлена у непривитых детей, которые переболели коклюшем. Диагноз непривитым детям ставили на основании клинических, эпидемиологических и серологических данных. Уровень антител к дезинтеграгу и белковой фракции был достоверно ниже по сравнению с уровнем антител у группы вакцинированных детей. Уровень антител к ЛПС фракции значительно — в 4,9 раза превосходил уровень у привитых детей и в 21,2 раза — фоновый уровень. В группе переболевших взрослых была продемонстрирована аналогичная динамика накопления антител к дезинтеграгу и белковой фракции. Максимальный прирост уровня антител отмечен для ЛПС фракции — в 24,8 раза по сравнению с группой взрослых, непривитых и неболевших коклюшем.

Таким образом, можно отметить, что во всех трех группах детей и взрослых, перенесших коклюшную инфекцию, формируются уровни антител к дезинтеграгу и белковой фракции *B. pertussis*, сходные (или несколько ниже) с уровнями антител у детей, привитых АКДС-вакциной. Значительные отличия можно отметить для ЛПС фракции: уровень индуцированных антител к ЛПС у перенесших коклюшную инфекцию был значительно выше как фонового уровня, так и уровня антител, сформированного после вакцинации. Полученные результаты могут указывать на то, что, по-видимому, после курса вакци-

Таблица 1. Уровни антител в сыворотке крови людей к различным фракциям коклюшных бактерий¹²
Table 1. Levels of human serum antibodies to various fractions of pertussis bacteria¹²

Антигены <i>B. pertussis</i> <i>B. pertussis</i> antigens	Средняя геометрическая титров антител, ед. ИФА/мл Mean antibody titers, ELISA unit/mL						
	Фоновый уровень Baseline		Вакцинированные Vaccinated		Перенесшие инфекцию <i>B. pertussis</i> With past history of <i>B. pertussis</i> infection		
	Дети неболевшие, непривитые Children with no previous history of the disease, not vaccinated	Взрослые неболевшие, непривитые Adults with no previous history of the disease, not vaccinated	Уровень антител у вакцинированных троекратно Antibody titer after three vaccinations	Уровень антител, определенный через 1–1,5 года Antibody titer 1–1.5 years following vaccination	Дети привитые с лабораторно подтвержденным диагнозом Vaccinated children with a confirmed diagnosis	Дети непривитые Children, not vaccinated	Взрослые Adults
Дезинтеграг коклюшных бактерий Disintegrated fraction of pertussis bacteria	615,2±11,7	650,1±10,9	4371,0±11,4	2245,0±12,2	4130,0±11,7	3592,0±10,9	3177,0±10,7
Белковая фракция коклюшных бактерий Protein fraction of pertussis bacteria	314,5±11,4	288,1±10,7	3341,0±11,6	1131,0±11,5	2573,0±11,4	2501,0±10,9	2479,0±11,1
ЛПС фракция коклюшных бактерий LPS fraction of pertussis bacteria	152,4±11,3	157,8±11,6	654,0±12,2	236,1±11,5	3676,0±11,4	3225,0±10,0	3908,0±10,7

¹¹ Селезнева Т.С. Научно-эпидемиологическое обоснование снижения антигенной нагрузки АКДС вакцины в условиях нового календаря прививок: дис. ... канд. мед. наук. М.; 1986.

¹² Там же.

нации по сравнению с естественной инфекцией не всегда формируется протективный уровень антител к ЛПС, что, вероятно, является одной из причин, почему вакцинированные дети заболевают коклюшем. Возможно, качественная особенность противокклюшного иммунитета у переболевших по сравнению с вакцинированными характеризовалась высоким уровнем антител к липополисахариду *B. pertussis*.

Полученные результаты позволяют исследователям рассматривать ЛОС как перспективный вакцинный антиген. В настоящее время проводятся исследования, направленные на получение конъюгированного соединения инактивированного (путем удаления липида А) ЛОС с белком для последующего возможного использования в БКВ [68]. Перспективной является комбинация нетоксичного изолированного фрагмента из ЛОС и коклюшного анатоксина, что может позволить получить антиген, вызывающий выработку антител с нейтрализующей и бактерицидной активностью [32]. Для снижения реактогенности ЦКВ предпринимаются попытки проведения экстракции ЛОС из клеточной стенки *B. pertussis* [69]. Перспективным является проведение детоксикации ЛОС с применением генетического метода. Одна из возможностей понижения реактогенности ЦКВ заключается в уменьшении количества коклюшных клеток в дозе вакцины. С этой целью проводят оптимизацию процесса инактивации бактерий *B. pertussis* [70]. Ранее Р. П. Чуприниной с соавт. было показано, что защитная активность ЦКВ коррелирует с содержанием в клетке агглютиногенов 1, 2, 3 [71]. Из этого следует, что если использовать в производстве коклюшной вакцины штаммы с высоким уровнем агглютиногенов 1, 2, 3, то возможно снижение количества бактериальных клеток без потери препаратом иммуногенной активности. Другой возможный путь снижения реактогенности ЦКВ может заключаться в отборе вакцинных штаммов по содержанию в них эндотоксина ЛОС.

Заключение

Распространенность коклюша во многих странах мира подтверждает непродолжительность противокклюшного иммунитета, индуцированного как инфицированием организма хозяина бактериями *B. pertussis*, так и применением вакцин. Проблема предупреждения и ликвидации коклюша может быть решена только с помощью активной иммунизации восприимчивых контингентов высокоэффективной вакциной. Используемые в настоящее время ЦКВ и БКВ требуют своего совершенствования. Так, ЦКВ, обладая высокой эффективностью, характеризуется определенной реактогенностью, что формирует у населения отрицательное отношение к вакцине. Напротив, БКВ, имея сравнительно низкий уровень реактогенности, требует повышения своей эффективности. ЛОС — поверхностный антиген клеточной стенки *B. pertussis* — является тем антигеном, с помощью которого может быть улучшено качество используемых в медицинской практике вакцин. Исследования, направленные на дальнейшее изучение возможности использования ЛОС *B. pertussis* с целью улучшения качества существующих вакцин, являются актуальными и перспективными.

Вклад авторов. И. А. Алексеева — формирование концепции статьи, сбор, анализ и систематизация информации, изложенной в научной литературе, написание текста, редактирование рукописи; О. В. Перельгина — доработка текста, окончательное утверждение версии рукописи для публикации; Е. Д. Кольшикина — сбор информации, изложенной в научной литературе, работа с табличным материалом, редактирование рукописи.

Authors' contributions. Irina A. Alekseeva—elaboration of the concept of the paper; collection, analysis and systematisation of scientific literature; writing and editing of the paper; Olga V. Perelygina—revision of the text, approval of the final version of the paper for publication; Elena D. Kolyshkina—compilation of data, tabular work, editing of the paper.

Благодарности. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00005-21-00 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР 121022000147-4).

Acknowledgements. The study reported in this publication was carried out as part of a publicly funded research project No. 056-00005-21-00 and was supported by the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (R&D public accounting No. 121022000147-4).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest requiring disclosure in this article.

Литература/References

1. Mattoo S, Cherry JD. Molecular pathogenesis, epidemiology, and clinical manifestations of respiratory infections due to *Bordetella pertussis* and other *Bordetella* subspecies. *Clin Microbiol Rev.* 2005;18(2):326–82. <https://doi.org/10.1128/CMR.18.2.326-382.2005>
2. Black RE, Cousens S, Johnson HL, Lawn JE, Rudan I, Bassani DG, et al. Global, regional, and national causes of child mortality in 2008: a systematic analysis. *Lancet.* 2010;375(9730):1969–87. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(10\)60549-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(10)60549-1)
3. Paddock CD, Sanden GN, Cherry JD, Gal AA, Langston C, Tatti KM, et al. Pathology and pathogenesis of fatal *Bordetella pertussis* infection in infants. *Clin Infect Dis.* 2008;47(3):328–38. <https://doi.org/10.1086/589753>
4. Melvin JA, Scheller EV, Miller JF, Cotter PA. *Bordetella pertussis* pathogenesis: current and future challenges. *Nat Rev Microbiol.* 2014;12(4):274–88. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3235>
5. Marzouqi I, Richmond P, Fry S, Wetherall J, Mukkur T. Development of improved vaccines against whooping cough: current status. *Hum Vaccin.* 2010;6(7):543–53. <https://doi.org/10.4161/hv.6.7.11413>
6. Miller D, Madge N, Diamond J, Wadsworth J, Ross E. Pertussis immunisation and serious acute neurological illnesses in children. *BMJ.* 1993;307(6913):1171–6. <https://doi.org/10.1136/bmj.307.6913.1171>
7. Guiso N. *Bordetella pertussis* and pertussis vaccines. *Clin Infect Dis.* 2009;49(10):1565–9. <https://doi.org/10.1086/644733>
8. Cherry JD. Epidemic pertussis in 2012 — the resurgence of a vaccine-preventable disease. *N Engl J Med.* 2012;367(9):785–7. <https://doi.org/10.1056/NEJMp1209051>
9. Witt MA, Arias L, Katz PH, Truong ET, Witt DJ. Reduced risk of pertussis among persons ever vaccinated with whole cell pertussis vaccine compared to recipients of acellular pertussis vaccines in a large US cohort. *Clin Infect Dis.* 2013;56(9):1248–54. <https://doi.org/10.1093/cid/cit046>
10. King AJ, van der Lee S, Mohangoo A, van Gent M, van der Ark A, van de Waterbeemd B. Genome-wide gene expression analysis of *Bordetella pertussis* isolates associated with a resurgence in pertussis: elucidation of factors involved in the increased fitness of epidemic strains. *PLoS One.* 2013;8(6):e66150. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0066150>

11. Amirthalingam G, Gupta S, Campbell H. Pertussis immunisation and control in England and Wales, 1957 to 2012: a historical review. *Euro Surveill.* 2013;18(38):20587. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.es2013.18.38.20587>
12. Halperin BA, Halperin SA. The reemergence of pertussis and infant deaths: is it time to immunize pregnant women? *Future Microbiol.* 2011;6(4):367–9. <https://doi.org/10.2217/fmb.11.15>
13. Poland GA. Pertussis outbreaks and pertussis vaccines: new insights, new concerns, new recommendations? *Vaccine.* 2012;30(49):6957–9. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2012.09.084>
14. Klein NP, Bartlett J, Fireman B, Baxter R. Waning Tdap effectiveness in adolescents. *Pediatrics.* 2016;137(3):e20153326. <https://doi.org/10.1542/peds.2015-3326>
15. Gu XX, Plotkin SA, Edwards KM, Sette A, Mills KHG, Levy O, et al. Waning immunity and microbial vaccines — Workshop of the National Institute of Allergy and Infectious Diseases. *Clin Vaccine Immunol.* 2017;24(7):e00034–17. <https://doi.org/10.1128/cvi.00034-17>
16. 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. <https://doi.org/10.1017/S0950268813000071>
17. Schmidtko AJ, Boney KO, Martin SW, Skoff TH, Tondella ML, Tatti KM. Population diversity among *Bordetella pertussis* isolates, United States, 1935–2009. *Emerg Infect Dis.* 2012;18(8):1248–55. <https://doi.org/10.3201/eid1808.120082>
18. Sheridan SL, McCall BJ, Davis CA, Robson JMB, Hull BP, Selvey CE, et al. Acellular pertussis vaccine effectiveness for children during the 2009–2010 pertussis epidemic in Queensland. *Med J Aust.* 2014;200(6):334–8. <https://doi.org/10.5694/mja.13.11069>
19. Tartof SY, Lewis M, Kenyon C, White K, Osborn A, Liko J, et al. Waning immunity to pertussis following 5 doses of DTaP. *Pediatrics.* 2013;131(4):e1047–52. <https://doi.org/10.1542/peds.2012-1928>
20. de Gouw D, Hermans PWM, Bootsma HJ, Zomer A, Heuvelman K, Diavatopoulos DA, Mooi FR. Differentially expressed genes in *Bordetella pertussis* strains belonging to a lineage which recently spread globally. *PLoS ONE.* 2014;9(1):e84523. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0084523>
21. Breakwell L, Kelso P, Finley C, Schoenfeld S, Goode B, Misegades LK, et al. Pertussis vaccine effectiveness in the setting of pertactin-deficient pertussis. *Pediatrics.* 2016;137(5):e20153973. <https://doi.org/10.1542/peds.2015-3973>
22. Lam C, Octavia S, Ricafort L, Sintchenko V, Gilbert GL, Wood N, et al. Rapid increase in pertactin-deficient *Bordetella pertussis* isolates, Australia. *Emerg Infect Dis.* 2014;20(4):626–33. <https://doi.org/10.3201/eid2004.131478>
23. Zeddeman A, van Gent M, Heuvelman CJ, van der Heide HG, Bart MJ, Advaniet A, et al. Investigations into the emergence of pertactin-deficient *Bordetella pertussis* isolates in six European countries, 1996 to 2012. *Euro Surveill.* 2014;19(33):20881. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.es2014.19.33.20881>
24. Otsuka N, Han HJ, Toyozumi-Ajisaka H, Nakamura Y, Arakawa Y, Shibayama K, Kamachi K. Prevalence and genetic characterization of pertactin-deficient *Bordetella pertussis* in Japan. *PLoS ONE.* 2012;7(2):e31985. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0031985>
25. Martin SW, Pawloski L, Williams M, Weening K, DeBolt C, Qin X, et al. Pertactin-negative *Bordetella pertussis* strains: evidence for a possible selective advantage. *Clin Infect Dis.* 2015;60(2):223–7. <https://doi.org/10.1093/cid/ciu788>
26. Bouchez V, Brun D, Cantinelli T, Dore G, Njamkepo E, Guiso N. First report and detailed characterization of *B. pertussis* isolates not expressing pertussis toxin or pertactin. *Vaccine.* 2009;27(43):6034–41. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2009.07.074>
27. Bodilis H, Guiso N. Virulence of pertactin-negative *Bordetella pertussis* isolates from infants, France. *Emerg Infect Dis.* 2013;19(3):471–4. <https://doi.org/10.3201/1903.121475>
28. Williams MM, Sen K, Weigand MR, Skoff TH, Cunningham VA, Halse TA, et al. *Bordetella pertussis* strain lacking pertactin and pertussis toxin. *Emerg Infect Dis.* 2016;22(2):319–22. <https://doi.org/10.3201/eid2202.151332>
29. Hozbor D. New pertussis vaccines: a need and a challenge. In: Fedele G, Ausiello C, eds. *Pertussis Infection and Vaccines. Advances in Experimental Medicine and Biology.* Vol 1183. Springer, Cham; 2019. P. 115–26. https://doi.org/10.1007/5584_2019_407
30. Loch C, Papin JF, Lecher S, Debrie AS, Thalen M, Solovay K, et al. Live attenuated pertussis vaccine BPZE1 protects baboons against *Bordetella pertussis* disease and infection. *J Infect Dis.* 2017;216(1):117–24. <https://doi.org/10.1093/infdis/jix254>
31. Li P, Asokanathan C, Liu F, Khaing KK, Kmiec D, Wei X, et al. PLGA nano/micro particles encapsulated with pertussis toxoid (PTd) enhances Th1/Th17 immune response in a murine model. *Int J Pharm.* 2016;513(1–2):183–90. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2016.08.059>
32. Koj S, Ługowski C, Niedziela T. Neoglikokoniugaty lipooligosacharydu *Bordetella pertussis*-nowe potencjalne składniki szczepionki przeciwkrztuścowej. *Postepy Hig Med Dosw (Online).* 2015;69:1013–30. [Koj S, Ługowski C, Niedziela T. *Bordetella pertussis* lipooligosaccharide-derived neoglycoconjugates — new components of pertussis vaccine. *Postepy Hig Med Dosw (Online).* 2015;69:1013–30 (In Polish)]
33. Farizo KM, Burns DL, Finn TM, Gruber MF, Pratt RD. Clinical evaluation of pertussis vaccines: US Food and Drug Administration regulatory considerations. *J Infect Dis.* 2014;209(Suppl 1):S28–31. <https://doi.org/10.1093/infdis/jit532>
34. Cervantes GE. *Bordetella pertussis*: reemergente. *Rev Mex Patol Clin Med Lab.* 2018;65(1):18–21.
35. Flak TA, Goldman WE. Signalling and cellular specificity of airway nitric oxide production in pertussis. *Cell Microbiol.* 1999;1(1):51–60. <https://doi.org/10.1046/j.1462-5822.1999.00004.x>
36. Weiss AA, Moberley PS, Fernandez RC, Mink CM. Characterization of human bactericidal antibodies to *Bordetella pertussis*. *Infect Immun.* 1999;67(3):1424–31. <https://doi.org/10.1128/IAI.67.3.1424-1431.1999>
37. Trollfors B, Lagergård T, Taranger J, Bergfors E, Schneerson R, Robbins JB. Serum immunoglobulin G antibody responses to *Bordetella pertussis* lipooligosaccharide and *B. parapertussis* lipopolysaccharide in children with pertussis and parapertussis. *Clin Diagn Lab Immunol.* 2001;8(5):1015–7. <https://doi.org/10.1128/CDLI.8.5.1015-1017.2001>
38. Elder KD, Harvill ET. Strain-dependent role of BrkA during *Bordetella pertussis* infection of the murine respiratory tract. *Infect Immun.* 2004;72(10):5919–24. <https://doi.org/10.1128/IAI.72.10.5919-5924.2004>
39. Elomaa A, Qiushui He, Nhu Nguyen Tran Minh, Mertsola J. Pertussis before and after the introduction of acellular pertussis vaccines in Finland. *Vaccine.* 2009;27(40):5443–9. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2009.07.010>
40. Steinman RM, Hemmi H. Dendritic Cells: Translating innate to adaptive immunity. In: Pulendran B, Ahmed R, eds. *From Innate Immunity to Immunological Memory. Current Topics in Microbiology and Immunology.* Vol 311. Springer, Berlin, Heidelberg; 2006. P. 17–58. https://doi.org/10.1007/3-540-32636-7_2
41. Beutler B, Hoebe K, Du X, Ulevitch RJ. How we detect microbes and respond to them: the Toll-like receptors and their transducers. *J Leukoc Biol.* 2003;74(4):479–85. <https://doi.org/10.1189/jlb.0203082>

42. Triantafilou M, Brandenburg K, Kusumoto S, Fukase K, Mackie A, Seyde U, Triantafilou K. Combinational clustering of receptors following stimulation by bacterial products determines lipopolysaccharide responses. *Biochem J*. 2004;381(2):527–36. <https://doi.org/10.1042/BJ20040172>
43. Mills KH, Ross PJ, Allen AC, Wilk MM. Do we need a new vaccine to control the re-emergence of pertussis? *Trends Microbiol*. 2014;22(2):49–52. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2013.11.007>
44. Siciliano NA, Skinner JA, Yuk MH. *Bordetella bronchiseptica* modulates macrophage phenotype leading to the inhibition of CD4⁺ T cell proliferation and the initiation of a Th17 immune response. *J Immunol*. 2006;177(10):7131–8. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.177.10.7131>
45. Dabbagh K, Lewis DB. Toll-like receptors and T-helper-1/T-helper-2 responses. *Curr Opin Infect Dis*. 2003;16(3):199–204. <https://doi.org/10.1097/00001432-200306000-00003>
46. Kapsenberg ML. Dendritic-cell control of pathogen-driven T-cell polarization. *Nat Rev Immunol*. 2003;3(12):984–93. <https://doi.org/10.1038/nri1246>
47. Warfel JM, Merkel TJ. The baboon model of pertussis: effective use and lessons for pertussis vaccines. *Expert Rev Vaccines*. 2014;13(10):1241–52. <https://doi.org/10.1586/14760584.2014.946016>
48. Higgins SC, Jarnicki AG, Lavelle EC, Mills KH. TLR4 mediates vaccine-induced protective cellular immunity to *Bordetella pertussis*: role of IL-17-producing T cells. *J Immunol*. 2006;177(11):7980–9. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.177.11.7980>
49. van den Berg BM, David S, Beekhuizen H, Mooi FR, van Furth R. Protection and humoral immune responses against *Bordetella pertussis* infection in mice immunized with acellular or cellular pertussis immunogens. *Vaccine*. 2000;19(9–10):1118–28. [https://doi.org/10.1016/s0264-410x\(00\)00329-7](https://doi.org/10.1016/s0264-410x(00)00329-7)
50. Gzyl A, Augustynowicz E, Zawadka M, Rabaczko D, Slusarczyk J. Ocena efektywności pełnokomórkowych i bezkomórkowych szczepionek przeciw krztuścowi w eliminacji eksperymentalnego zakażenia myszy *Bordetella pertussis*. *Med Dosw Mikrobiol*. 2007;59(2):123–35. [Gzyl A, Augustynowicz E, Zawadka M, Rabaczko D, Slusarczyk J. Evaluation of whole-cell and acellular pertussis vaccines effectiveness in clearance of experimental *B. pertussis* infection in mice. *Med Dosw Mikrobiol*. 2007;59(2):123–35 (In Polish)]
51. Brummelman J, Helm K, Hamstra HJ, van der Ley P, Boog CJ, Han WG, et al. Modulation of the CD4⁺ T cell response after acellular pertussis vaccination in the presence of TLR4 ligation. *Vaccine*. 2015;33(12):1483–91. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2015.01.063>
52. Mahon BP, Sheahan BJ, Griffin F, Murphy G, Mills KH. Atypical disease after *Bordetella pertussis* respiratory infection of mice with targeted disruptions of interferon-gamma receptor or immunoglobulin μ chain genes. *J Exp Med*. 1997;186(11):1843–51. <https://doi.org/10.1084/jem.186.11.1843>
53. Weiss AA, Patton AK, Millen SH, Chang SJ, Ward JI, Bernstein DI. Acellular pertussis vaccines and complement killing of *Bordetella pertussis*. *Infect Immun*. 2004;72(12):7346–51. <https://doi.org/10.1128/IAI.72.12.7346-7351.2004>
54. Albitar-Nehme S, Basheer SM, Njamkepo E, Brisson JR, Guiso N, Caroff M. Comparison of lipopolysaccharide structures of *Bordetella pertussis* clinical isolates from pre- and post-vaccine era. *Carbohydr Res*. 2013;378:56–62. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2013.05.002>
55. Schaeffer LM, McCormack FX, Wu H, Weiss AA. *Bordetella pertussis* lipopolysaccharide resists the bactericidal effects of pulmonary surfactant protein A. *J Immunol*. 2004;173(3):1959–65. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.173.3.1959>
56. Geurtsen J, Vandebriel RJ, Gremmer ER, Kuipers B, Tommassen J, van der Ley P. Consequences of the expression of lipopolysaccharide-modifying enzymes for the efficacy and reactogenicity of whole-cell pertussis vaccines. *Micr Infect*. 2007;9(9):1096–103. <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2007.04.015>
57. Caroff M, Karibian D. Structure of bacterial lipopolysaccharides. *Carbohydr Res*. 2003;338(23):2431–47. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2003.07.010>
58. Whitfield C, Trent MS. Biosynthesis and export of bacterial lipopolysaccharides. *Annu Rev Biochem*. 2014;83:99–128. <https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-060713-035600>
59. Nikaido H, Vaara M. Outer membrane. In: Neidhardt FC, Ingraham JL, Low KB, Magasanik B, Schaechter M, Umberger HE, eds. *Escherichia coli and Salmonella typhimurium — cellular and molecular biology*. Washington DC: ASM; 1987. P. 7–22.
60. Sperandio P, Martorana AM, Polissi A. Lipopolysaccharide biogenesis and transport at the outer membrane of Gram-negative bacteria. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids*. 2017;1862(11):1451–60. <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2016.10.006>
61. Nikaido H. Molecular basis of bacterial outer membrane permeability revisited. *Microbiol Mol Biol Rev*. 2003;67(4):593–656. <https://doi.org/10.1128/mbr.67.4.593-656.2003>
62. Park BS, Lee JO. Recognition of lipopolysaccharide pattern by TLR4 complexes. *Exp Mol Med*. 2013;45(12):e66. <https://doi.org/10.1038/emm.2013.97>
63. Caroff M, Deprun C, Richards JC, Karibian D. Structural characterization of the lipid A of *Bordetella pertussis* 1414 endotoxin. *J Bacteriol*. 1994;176(16):5156–9. <https://doi.org/10.1128/jb.176.16.5156-5159.1994>
64. Gaudet RG, Sintsova A, Buckwalter CM, Leung N, Cochran A, Li J, et al. Cytosolic detection of the bacterial metabolite HBP activates TIFA-dependent innate immunity. *Science*. 2015;348(6240):1251–5. <https://doi.org/10.1126/science.aaa4921>
65. Preston A, Mandrell RE, Gibson BW, Apicella MA. The lipooligosaccharides of pathogenic Gram-negative bacteria. *Crit Rev Microbiol*. 1996;22(3):139–80. <https://doi.org/10.3109/10408419609106458>
66. Munford RS. Sensing Gram-negative bacterial lipopolysaccharides: a human disease determinant? *Infect Immun*. 2008;76(2):454–65. <https://doi.org/10.1128/IAI.00939-07>
67. Gotto JW, Eckhardt T, Reilly PA, Scott JV, Cowell JL, Metcalf TN, 3rd, et al. Biochemical and immunological properties of two forms of pertactin, the 69,000-molecular-weight outer membrane protein of *Bordetella pertussis*. *Infect Immun*. 1993;61(5):2211–5. <https://doi.org/10.1128/IAI.61.5.2211-2215.1993>
68. Jennings HJ, Ługowski C, Ashton FE. Conjugation of meningococcal lipopolysaccharide R-type oligosaccharides to tetanus toxoid as route to a potential vaccine against group B *Neisseria meningitidis*. *Infect Immun*. 1984;43(1):407–12. <https://doi.org/10.1128/IAI.43.1.407-412.1984>
69. Dias WO, van der Ark AA, Sakauchi MA, Kubrusly FS, Prestes AF, Borges MM, et al. An improved whole cell pertussis vaccine with reduced content of endotoxin. *Hum Vaccin Immunother*. 2013;9(2):339–48. <https://doi.org/10.4161/hv.22847>
70. Mohammadpour Dounighi N, Razzaghi-Abyane M, Nofeli M, Zolfagharian H, Shahcheraghi F. Study on toxicity reduction and potency induction in whole-cell pertussis vaccine by developing a new optimal inactivation condition processed on *Bordetella pertussis*. *Jundishapur J Microbiol*. 2016;9(7):e34153. <https://doi.org/10.5812/jjm.34153>
71. Чупринина РП, Алексеева ИА. Возможность повышения иммуногенной активности и стабильности цельноклеточного коклюшного компонента комбинирован-

ных вакцин. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2014;2(75):89–95. [Chuprinina RP, Alekseeva IA. The possibility of increasing the potency and stability of

whole-cell pertussis component of combined vaccines. *Epidemiologiya i vaksinoprofilaktika = Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2014;2(75):89–95 (In Russ.)]

Об авторах / Authors

Алексеева Ирина Андреевна, д-р мед. наук. *Irina A. Alekseeva*, Dr. Sci. (Med.). **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0001-5586-2933>

Перельгина Ольга Викторовна, канд. мед. наук. *Olga V. Perelygina*, Cand. Sci. (Med.). **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0001-5029-3751>

Кольшикина Елена Дмитриевна. *Elena D. Kolyshkina*. **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0003-4976-483X>

Поступила 08.10.2020

После доработки 14.01.2021

Принята к публикации 26.02.2021

Received 8 October 2020

Revised 14 January 2021

Accepted 26 February 2021