

Эффективность метода ПЦР-РВ для этиологической диагностики атипичных форм коклюша

А. Ю. Медкова¹, Е. Г. Сёмин¹, Л. Н. Синяшина¹, И. В. Бабаченко², Г. И. Каратаев¹

¹Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, РФ

²Детский научно-клинический центр инфекционных болезней Федерального медико-биологического агентства, г. Санкт-Петербург, РФ

Цель: оценить эффективность применения метода ПЦР-РВ с использованием тест-системы ПЦР-РВ-IS для этиологической диагностики коклюша при обследовании больных с инфекционной респираторной патологией с затяжным и длительным кашлем и у контактных с ними лиц. Материалы и методы. Обследовано 113 детей в возрасте от 1 месяца до 17 лет 11 месяцев и 29 дней и 146 контактных с ними членов семей. Независимо от первичного диагноза все дети обследованы на коклюш бактериологическим, молекулярно-генетическим и серологическим методами. Для молекулярно-генетической диагностики использовали коммерческий набор и тест-систему ПЦР-РВ-IS, разработанную в ФНИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи. Контактные лица обследованы бактериологическим методом и с помощью тест-системы ПЦР-РВ-IS. Результаты. При первичном осмотре установлены диагнозы «ОРВИ, острый ринофарингит», «Острый ларинготрахеит», «Острый бронхит», «Пневмония». Степень выраженности кашля у контактных лиц была различной — от типичного спастического «коклюшного» кашля до полного отсутствия кашля. С помощью разработанной нами тест-системы ПЦР-РВ-IS ДНК возбудителя коклюша выявлена в группах пациентов с «ОРВИ, острым ринофарингитом» в 34,4% случаев, «Острым ларинготрахеитом» — в 64,3%, «Острым бронхитом» — в 69%, с диагнозом «Пневмония» — в 33,3% случаев. В ряде случаев было выявлено сочетанное течение коклюша с респираторными инфекциями (респираторно-синцитиальной, риновирусной и другими). У обследованных контактных лиц возбудитель коклюша с помощью тест-системы ПЦР-РВ-IS выявлен в 51,4% случаев.

Ключевые слова: дети, больные респираторными заболеваниями; коклюш; бактерии *Bordetella pertussis*; атипичные формы коклюша; лабораторные методы диагностики; полимеразная цепная реакция (ПЦР); полимеразная цепная реакция в режиме реального времени (ПЦР-РВ)

The effectiveness of PCR-RT method for etiological diagnosis of atypical forms of whooping cough

A. Yu. Medkova¹, E. G. Syomin¹, L. N. Sinyashina¹, I. V. Babachenko², G. I. Karataev¹

¹National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after Honorary Academician N.F. Gamaleya of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

²Pediatric Research and Clinical Center for Infectious Diseases, Saint-Petersburg, Russia

The aim of the study was to evaluate the effectiveness of the PCR-RT method using the PCR-RT-IS test system for the etiological diagnosis of whooping cough in the examination of patients with infectious respiratory pathology with prolonged cough and in contact persons. 113 children aged from 1 month to 17 years, 11 months and 29 days, and 146 contact family members were examined. Regardless of the initial diagnosis, all children were examined for whooping cough by bacteriological, molecular genetic and serological methods. For molecular genetic diagnostics a commercial kit and PCR-RT-IS test-system developed at the Gamaleya Research Center were used. The contact persons were examined by the bacteriological method and using the PCR-RT-IS test-system. During the initial examination the diagnoses «Acute respiratory viral infectious», «Acute rhinopharyngitis», «Acute laryngotracheitis», «Acute bronchitis», «Pneumonia» were established. The severity of cough in contact persons was different — from a typical spastic «whooping cough» to complete absence of cough. By using the PCR-RT-IS test-system we developed, the DNA of pertussis pathogen was detected in groups of patients with «Acute rhinopharyngitis» in 34.4% of cases, «Acute laryngotracheitis» — in 64.3%, «Acute bronchitis» — in 69%, with a diagnosis of «Pneumonia» — in 33.3% of cases. In a number of cases combined course of whooping cough with respiratory infections (respiratory syncytial virus, rhinovirus and others) was detected. In the examined contact persons the causative agent of pertussis was detected using the PCR-RT-IS test-system in 51.4% of cases.

Keywords: children with respiratory diseases; whooping cough; *Bordetella pertussis* bacteria; atypical forms of whooping cough; laboratory diagnostic methods; polymerase chain reaction (PCR); real-time polymerase chain reaction (PCR-RT)

Для цитирования: Медкова А.Ю., Е.Г. Сёмин, Л.Н. Синяшина, И.В. Бабаченко, Г.И. Каратаев. Эффективность метода ПЦР-РВ для этиологической диагностики атипичных форм коклюша. *Детские инфекции*. 2022; 21(4):37-42. doi.org/10.22627/2072-8107-2022-21-4-37-42

For citation: Medkova A.Yu., E.G. Syomin, L.N. Sinyashina, I.V. Babachenko, G.I. Karataev. The effectiveness of PCR-RT method for etiological diagnosis of atypical forms of whooping cough. *Detskie Infektsii = Children's Infections*. 2022; 21(4):37-42. doi.org/10.22627/2072-8107-2022-21-4-37-42

Информация об авторах:

Медкова Алиса Юрьевна (A. Medkova, PhD), к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории генетики бактерий отдела медицинской микробиологии, НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи Минздрава России; baburida@yandex.ru; https://orcid.org/0000-0002-1509-0622

Сёмин Евгений Григорьевич (E. Semin), научный сотрудник лаборатории генетики бактерий отдела медицинской микробиологии, НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи Минздрава России; recitar@mail.ru; https://orcid.org/0000-0001-6696-8362

Синяшина Людмила Николаевна (L. Sinyashina, MD), д.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории генетики бактерий отдела медицинской микробиологии, НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи Минздрава России; vasilissa7777@yandex.ru; https://orcid.org/0000-0003-1708-5453

Бабаченко Ирина Владимировна (I. Babachenko, MD), д.м.н., профессор, заведующий научно-исследовательским отделом каплевых инфекций, ДНКЦИБ ФМБА России, Санкт-Петербург; babachenko-doc@mail.ru; https://orcid.org/0000-0002-1159-0515

Каратаев Геннадий Иванович (G. Karataev), д.б.н., в.н.с., руководитель лаборатории генетики бактерий отдела медицинской микробиологии, НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи Минздрава России; karataevgi@rambler.ru; https://orcid.org/0000-0001-8771-6092

Коклюш до настоящего времени является острым инфекционным респираторным заболеванием, относящимся к категории «детских» инфекций, хотя за последние годы зарегистрированы случаи коклюша и среди взрослых [1]. Возбудителем коклюша являются бактерии *Bordetella pertussis*, входными воротами

для которых служит слизистая верхних дыхательных путей.

Согласно современной клинической классификации коклюша, выделяют типичные и атипичные формы заболевания [2]. Типичная коклюшная инфекция проявляется в виде спастического кашля, часто сопровождаемого характерным судорожным вдохом (репризом), который продолжается от нескольких недель до месяцев, при этом приступы кашля могут заканчиваться рвотой. Тяжесть коклюша определяется выраженностью гипоксии, частотой приступов кашля, наличием рвоты после кашля, отёчного и геморрагического синдромов, неврологической симптоматики, высоким уровнем лейкоцитоза (более 40–50 тысяч клеток за счет лимфоцитоза). Осложнения при коклюше могут выражаться в виде нарушения ритма дыхания, легочной гипертензии, пневмонии, разрывов диафрагмы, судорог, энцефалопатии, кровоизлияний в мозг и других. Атипичное течение коклюша проявляется в виде стёртых и бессимптомных форм заболевания, число которых за последние десятилетия значительно возросло [3, 4, 5]. Стёртые формы могут протекать с сухим навязчивым кашлем без характерных для коклюша репризов, без повышения температуры тела, при этом длительный сухой кашель до 3-х и более месяцев может быть единственным проявлением коклюша. Многолетняя вакцинопрофилактика, проводимая во всем мире с 1950-х гг. XX столетия, а также широкое использование различных лекарственных препаратов позволили значительно снизить детскую смертность от коклюша и количество тяжелых клинических форм. Однако по-прежнему наиболее тяжело болеют коклюшем новорожденные и неиммунные младенцы с высоким риском осложнений, вплоть до смертельного исхода. В случае инфицирования болезнь развивается у непривитых детей в 70–100% случаев.

Несмотря на широкие масштабы массовой вакцинопрофилактики отмечен рост заболеваемости коклюшем среди подростков и взрослых, которые, как правило, переносят коклюш в атипичных формах. Это связано главным образом с недостаточной длительностью сохранения поствакцинального иммунитета (менее 10 лет). Несмотря на то, что традиционно заболевание продолжают считать «детским», показано, что взрослые также могут заразиться коклюшем и переносить заболевание с сухим навязчивым кашлем длительностью более 21-ого дня или вовсе без кашля (субклинически) [6].

Статистические данные о заболеваемости коклюшем чаще всего не отражают реального распространения инфекции, что связано с недостатками лабораторной диагностики коклюша, при этом наблюдается феномен «вершины айсберга», когда значительная часть случаев коклюша остается нераспознанной и проходит под диагнозами других респираторных инфекций и заболеваний, чаще всего таких, как острая респираторная инфекция (ОРИ), трахеит, бронхит, ларингит, бронхиальная астма и другие. При этом самой уязвимой группой остаются новорожденные и дети первого года жизни, которые еще не успели пройти полный курс вакцинации, необходимый для выработки протективного иммунитета. По данным литературы, до 85% новорожденных заражаются от членов семьи, часто переносящих коклюш в атипичных формах, формирую-

щих группы источников возбудителя, что представляет эпидемиологическую опасность [7, 8].

Для верификации атипичных форм коклюша, протекающих с сухим покашливанием, продолжающимся длительное время (затяжной кашель — более двух недель, длительный кашель — более четырех недель), которые диагностируют чаще всего как бронхит, трахеит и др., при изменении возрастной структуры заболевших (увеличение доли подростков и взрослых) необходимо более широко применять современные методы лабораторной диагностики, которые в настоящее время внедрены далеко не везде. Согласно санитарно-эпидемиологическим требованиям по профилактике инфекционных болезней (СанПиН 3.3686-21) для больных с подозрением на коклюш регламентировано применение молекулярно-генетического метода, который имеет ряд преимуществ по сравнению с бактериологической и серологической диагностикой (обеспечивает сокращенное время получения результата анализа на ранних сроках заболевания и др.). Однако на территории РФ официально зарегистрирован лишь один набор реагентов для выявления и дифференциации ДНК возбудителей коклюша, паракоклюша и бронхисептикоза в биологическом материале с помощью метода ПЦР в режиме реального времени (ПЦР-РВ) с гибридационно-флуоресцентной детекцией «АмплиСенс® *Bordetella multi-FL*». Результаты ПЦР-исследования по выявлению и идентификации возбудителей коклюша, паракоклюша и бронхисептикоза в данном случае часто интерпретируются как «Обнаружена ДНК одного из представителей рода *Bordetella*», что недостаточно для полноценной верификации.

Нами разработана тест-система ПЦР-РВ-IS, позволяющая обнаруживать единичные геномэквиваленты (ГЭ) ДНК *B. pertussis*. Тест-система ПЦР-РВ-IS использует в качестве мишени ПЦР множественно повторяющуюся последовательность IS481 (238 копий в хромосоме *B. pertussis*), имеет высокую чувствительность (менее 0,1 ГЭ *B. pertussis* в 5 мкл) [9]. Проверку специфичности тест-системы ПЦР-РВ-IS проводили в поисковой системе BLAST, а также в ПЦР-РВ на образцах ДНК различных микроорганизмов, в том числе вызывающих респираторные инфекции: *B. parapertussis*, *B. bronchiseptica*, *S. pneumoniae*, *M. pneumoniae*, *C. pneumoniae* и др. Результаты анализа ДНК этих микроорганизмов с помощью тест-системы ПЦР-РВ-IS не выявили достоверных сигналов амплификации.

Цель работы: оценить эффективность применения метода ПЦР-РВ с использованием тест-системы ПЦР-РВ-IS для этиологической диагностики коклюша при обследовании больных с инфекционной респираторной патологией с затяжным и длительным кашлем и у контактных с ними лиц.

Материалы и методы исследования

Обследовано 113 детей в возрасте от 1 месяца до 17 лет 11 месяцев 29 дней с подозрением на коклюш, получавших стационарное или амбулаторное лечение в инфекционном детском отделении ЦКБ с поликлиникой УДП РФ, и 146 членов семей, контактировавших с этими детьми. Критериями включения в исследование были наличие у больных признаков респираторного заболевания, сопровождавшегося типичным для коклюша приступооб-

разным кашлем или сухим навязчивым кашлем длительностью более 14 дней, не поддающимся терапии. Родители, госпитализированные по уходу за детьми или посещавшие врача амбулаторно совместно с ребенком, обследовались как контактные. Также в исследование включали детей из одной семьи с госпитализированными детьми. Контактных лиц включали в протокол исследования после подписания информированного согласия.

Обследование больных детей включало детальный сбор анамнеза с уточнением вакцинального статуса, физикальное обследование, рентгенографию органов грудной клетки (по показаниям), общий анализ крови, биохимический анализ крови, посев отделяемого из ротоглотки на флору, ПЦР-исследование назо- и орофарингеальных мазков для выявления РНК и ДНК возбудителей вирусных респираторных инфекций при проведении дифференциальной диагностики, исследование крови на антитела IgA, IgM, IgG к *Ch. pneumoniae* и *M. pneumoniae*.

Обследование на коклюш включало: бактериологическое исследование отделяемого из зева (посев на Бордетеллагар), определение уровня специфических противокклюшных антител класса IgM, IgG и IgA с помощью коммерческой тест-системы RIDASCREEN («R-Biopharm AG», Германия), в которой в качестве антигенов используются коклюшный токсин и филаментозный гемагглютинин, ПЦР-исследование орофарингеальных мазков с использованием набора реагентов «АмплиСенс® *Bordetella multii-FL*» (ИнтерЛабСервис, Москва) и с помощью разработанной коллективом авторов НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи тест-системы ПЦР-РВ (ПЦР-РВ-IS).

Исследование проводилось у всех пациентов на 13 распространенных респираторных вирусов: респираторно-синцитиального вируса (hRSV), метапневмовируса человека (hMPV), аденовируса (hAdV), бокавируса (hBoV), риновируса (hRV), вируса парагриппа 1–4 (hPiv 1, hPiv 2, hPiv 3, hPiv 4), сезонных коронавирусов (hCoV-229E, hCoV-OC43, hCoV-NL63, hCoV-HKU-1) используя набор «Ампли-Сенс® ОРВИ-скрин-FL».

Обследование лиц, контактировавших с больными, состояло в детальном сборе анамнеза, включая вакцинальный статус, визуальном осмотре ротоглотки, измерении температуры тела, отборе материала для идентификации возбудителя коклюша. Контактных с больными лиц обследовали с помощью ПЦР-исследования (тест-системой ПЦР-РВ-IS) и параллельно бактериологическим методом.

Для статистической обработки результатов использовали программу Microsoft Excel 2013 и методы описательной статистики, принятые в биологии и медицине [10].

Результаты и их обсуждение

Обследовано 113 детей с подозрением на коклюш, госпитализированных в инфекционное детское отделение ЦКБ Управления делами Президента РФ и наблюдавшихся амбулаторно. При первичном осмотре каждому ребенку установлен один из следующих клинических диагнозов: «ОРВИ, острый ринофарингит, острый ларинготрахеит, острый бронхит, пневмония» (табл. 1). Из них 9-ти детям при первичном осмотре диагноз «Коклюш, типичная форма» был установлен сразу, на основании данных анамнеза и физикального осмотра. Подавляющую долю детей, впоследствии обследованных для подтверждения диагноза «Коклюш», составили пациенты с диагнозами «ОРВИ, острый ринофарингит» — 28,3%, «Острый ларинготрахеит» — 24,8% и «Острый бронхит» — 25,7%.

В возрастной структуре обследованных детей преобладали пациенты от 1 года до 7 лет — 49,6%. Дети младше 1 года составили 16,8%, дети среднего и старшего школьного возраста (7–14 лет и 14–17 лет, соответственно) составили 33,6% (рис. 1).

При дальнейшем обследовании верификация диагноза проводилась на основании клинических, анамнестических, эпидемиологических и лабораторно-инструментальных данных.

Клиническая симптоматика, за исключением 9-ти детей, которым диагноз коклюш был установлен сразу при первичном осмотре, у всех обследованных пациентов была не типичной для коклюша. Основной особенностью кашля являлась его длительность — более 14 дней. Степень выраженности кашля была различной — от редкого сухого покашливания в течение дня до навязчивого непродуктивного кашля, в том числе в ночные часы.

Из 113 обследованных детей у 54-х было обнаружено сочетанное течение коклюша с другими респираторными инфекциями (рис. 2). Среди выявленных вирусных инфекций преобладали респираторно-синцитиальная и риновирусная инфекции. Также в ряде случаев были выявлены маркеры респираторных бактериальных заболеваний — респираторного микоплазмоза, хламидиоза и пневмококковой инфекции. В клинической картине обращал на себя внимание длительный сухой навязчивый кашель более 14 дней, у части детей — ночной, но без типичных для коклюша затяжных приступов. В первые дни заболевания у

Таблица 1. Клинический диагноз, установленный при первичном осмотре детей с подозрением на коклюш
Table 1. Clinical diagnosis at the initial examination of children with suspected whooping cough

Первичный клинический диагноз	Количество больных, абс.	% от общего числа обследованных
ОРВИ, острый ринофарингит	32	28,3
Острый ларинготрахеит	28	24,8
Острый бронхит	29	25,7
Пневмония	15	13,3
Коклюш	9	7,9

Таблица 2. Результаты сравнительного исследования методов этиологической верификации коклюша у больных респираторными инфекциями

Table 2. Results of comparative study of methods of etiological verification of whooping cough in patients with respiratory infections

Группы по клиническому диагнозу	Бактериологический метод		ПЦР качеств.		ПЦР-РВ-IS количеств.	
	n	% ± m	n	% ± m	n	% ± m
Коклюш, n = 9	2	22,2 ± 14,7%	7	77,8 ± 14,7%	9	100%
ОРВИ, острый ринофарингит, n = 32	0	—	8	25 ± 7,7%	11	34,4 ± 8,4%
Острый ларинготрахеит, n = 28	0	—	13	46,4 ± 9,4%	18	64,3 ± 9,1%
Острый бронхит, n = 29	1	3,4 ± 3,4%	14	48,3 ± 9,3%	20	69 ± 8,6%
Пневмония, n = 15	0	—	2	13,3 ± 8,8%	5	33,3 ± 12,2%

пациентов с сочетанными инфекциями отмечали лихорадочный период в течение 3–4-х дней, что характерно для вирусных инфекций. В последующие дни отмечалась нормализация температуры тела, купирование катаральных явлений, при этом кашель сохранялся или усиливался.

Согласно методическим рекомендациям, действовавшим на момент исследования [11], пациенты с подозрением на атипичные формы коклюша были обследованы с помощью бактериологического метода, молекулярно-генетического и серологического методов. Для молекулярно-генетической диагностики использовали в сравнении коммерческую тест-систему ПЦР для качественного определения возбудителя коклюша в образце и разработанную в ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» тест-систему ПЦР-РВ (ПЦР-РВ-IS), позволяющую регистрировать единичные копии ГЭ ДНК *B. pertussis* и проводить количественный анализ.

С помощью бактериологического метода возбудитель коклюша идентифицирован в группе детей с диагнозом «Коклюш» в 22,2% случаев, у детей с диагнозом «Острый бронхит» — в 3,4%. В остальных группах пациентов с диагнозами «ОРВИ, острый ринофарингит», «Острый ларинготрахеит» и «Пневмония» результаты бактериологического посева были отрицательными (табл. 2).

При обследовании пациентов методом качественной ПЦР положительный результат в группе детей с диагнозом «Коклюш» получен в 77,8% случаев (7 из 9), в группе «ОРВИ, острый ринофарингит» — в 25% (8 из 32), «Острый ларинготрахеит» — в 46,4% (13 из 28), «Острый бронхит» — в 48,3% (14 из 29), «Пневмония» — в 13,3% (2 из 15) (табл. 2).

Количественный анализ ДНК возбудителя коклюша с помощью тест-системы ПЦР-РВ-IS («НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи») в образцах пациентов из этих групп показал наибольшую эффективность (табл. 2): у 9-ти детей с первичным диагнозом «Коклюш, типичная форма» ДНК возбудителя коклюша зарегистрирована во всех случаях. Количество возбудителя составило 10^5 – 10^6 ГЭ/5 мкл. В группе пациентов с первичным диагнозом «ОРВИ, острый ринофарингит» у 11 детей из 32 (34,4%) зарегистрировано 10^2 – 10^3 ГЭ ДНК *B. pertussis* в 5 мкл образца. У 18 пациентов с острым ларинготрахеитом получен положительный результат ПЦР-РВ-IS в 64,3%, количество ДНК возбудителя — 10^2 – 10^3 ГЭ/5 мкл. У пациентов с «Острым бронхитом» процент обнаружения возбудителя коклюша оказался наибольшим — 69% (14 из 29) случаев, а у пациентов с первичным диагнозом «Пневмония» — 33% (5 из 15). Количество ДНК возбудителя коклюша варьировало в этих группах от 10^2 до 10^3 ГЭ/5 мкл. Таким образом, количественная ПЦР с тест-системой ПЦР-РВ-IS является наиболее высокочувствительной и эффективной по сравнению с другими методами этиологической диагностики у пациентов с атипичными формами коклюша.

72 пациента из 113 обследованных были вакцинированы в анамнезе против коклюша, не привиты 20 детей, привиты не полностью — 22 ребенка в возрастной группе детей до 1-ого года и в группе 1–3 года.

При исследовании образцов сывороток крови пациентов всех описанных групп антитела класса IgM выше порогового уровня (> 17 Ед/мл) не были выявлены. Лишь у двух пациентов они определялись на пороговом уровне — 17 Ед/мл, у остальных определялись в низких количествах — от 1 до 10 Ед/мл. У 14 привитых детей были выявлены ан-

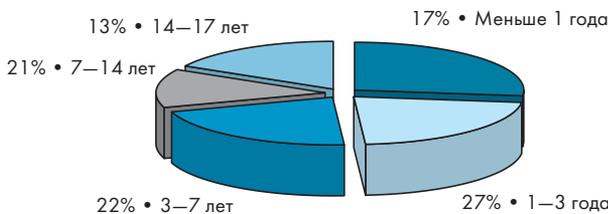


Рисунок 1. Возрастная структура обследованных детей с подозрением на коклюш

Figure 1. The age structure of the examined children with suspected whooping cough

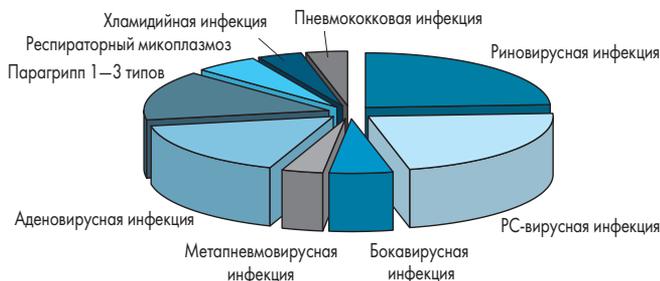


Рисунок 2. Структура сочетанных инфекций у больных коклюшем, абс.

Figure 2. Structure of combined infections in patients with whooping cough, abs.

Таблица 3. Количество ДНК *Bordetella pertussis* у контактных лиц, выявленное с помощью тест-системы ПЦР-РВ-IS, в зависимости от характера кашля и возраста (n — абс)

Table 3. The amount of *Bordetella pertussis* DNA in contact persons detected using the PCR-RT-IS test system, depending on the nature of cough and age (n — abs)

Возраст контактных лиц	Характер кашля / Количество ГЭ ДНК <i>Bordetella pertussis</i> *							
	Типичный приступообразный		Сухой навязчивый		Длительный сухой		Отсутствие кашля	
	n	ГЭ ДНК	n	ГЭ ДНК	n	ГЭ ДНК	n	ГЭ ДНК
1 месяц—6 лет	2	10 ⁵ —10 ⁶	2	10 ³ —10 ⁴	1	10 ¹ —10 ²	5	10 ¹ —10 ²
7—17 лет	4	10 ³ —10 ⁴	11	10 ² —10 ³	6	10 ¹ —10 ²	10	10 ¹ —10 ²
18 лет и старше	2	10 ³ —10 ⁴	6	10 ² —10 ³	5	10 ¹ —10 ²	21	10 ² —10 ³

* — количество геномэквивалентов ДНК *Bordetella pertussis* в 5 мкл образца

титела класса IgA и IgG выше пороговых значений — более 26 Ед/мл и более 18 Ед/мл, соответственно — на сроке заболевания более 21-ого дня, что также являлось подтверждением диагноза «Коклюш» наряду с данными ПЦР.

По контакту обследованы родители, госпитализированные по уходу за ребенком с подозрением на коклюш или посещавшие врача на амбулаторном приеме совместно с детьми. По возможности обследовали второго родителя и других детей из одной семьи с больным ребенком. Общая выборка по контактным лицам составила 146 человек. Среди обследованных контактных лиц основную долю составили взрослые и дети от 7 до 17 лет (51,4% и 37% соответственно). Дети в возрасте от 1 месяца до 6 лет составили 11,6%.

Все контактные лица обследованы по эпидемиологическим показаниям. Несмотря на клинические признаки респираторного заболевания, протекающего с кашлем различной интенсивности и выраженности, ни у кого из контактных членов семей, диагноз «Коклюш» амбулаторно не был заподозрен. Типичный для коклюша приступообразный кашель чаще всего наблюдался у детей в возрасте от 1 месяца до 6 лет (17,6%) (рис. 3). В возрастных группах детей 7—17 лет и у взрослых отмечался сухой навязчивый кашель длительностью от 14 до 28 дней и длительный сухой кашель более 29 дней. Обращает на себя внимание высокий процент отсутствия кашля у обследованных контактных лиц во всех возрастных группах.

Для подтверждения диагноза «Коклюш» контактных лиц обследовали с помощью бактериологического метода и ПЦР с использованием тест-системы ПЦР-РВ-IS. Бактериологическим методом подтвердить диагноз в группе контактных лиц удалось лишь в одном случае — у ребенка в возрасте 4-х лет с жалобами на типичный приступообразный кашель. В этой же семье ДНК *B. pertussis* была выявлена у обоих родителей и у младшего брата 9 месяцев.

С помощью тест-системы ПЦР-РВ-IS ДНК *B. pertussis* выявлена у 51,4% контактных лиц при исследовании нозофарингеальных мазков. Наибольшее количество ДНК *B. pertussis* зарегистрировано в образцах от контактных лиц, предъявлявших жалобы на приступообразный кашель, независимо от возраста — от 10³ до 10⁶ ГЭ в 5 мкл. 10²—10⁴ ГЭ ДНК *B. pertussis* выявлено у контактных лиц с

сухим навязчивым кашлем более 14 дней. У контактных лиц с синдромом длительного кашля (от 29 дней) было выявлено малое количество ГЭ ДНК *B. pertussis* в образцах (10¹—10² ГЭ в 5 мкл), что, по всей видимости, обусловлено поздними сроками заболевания. У контактных лиц с отсутствием симптоматики ДНК *B. pertussis* в нозофарингеальных мазках была выявлена в 38,2% случаев. Количество выделенной в мазках ДНК возбудителя коклюша различалось в зависимости от характера кашля и возраста обследованных (табл. 3).

Таким образом, разработанная нами тест-система ПЦР-РВ-IS позволяет выявлять ДНК *B. pertussis* в клиническом материале у больных с любой формой коклюша — типичной или атипичной, включая бессимптомные формы, как на ранних, так и на поздних сроках заболевания, независимо от возраста обследуемых.

Заключение

Таким образом, полученные нами данные свидетельствуют о более широкой распространенности ати-

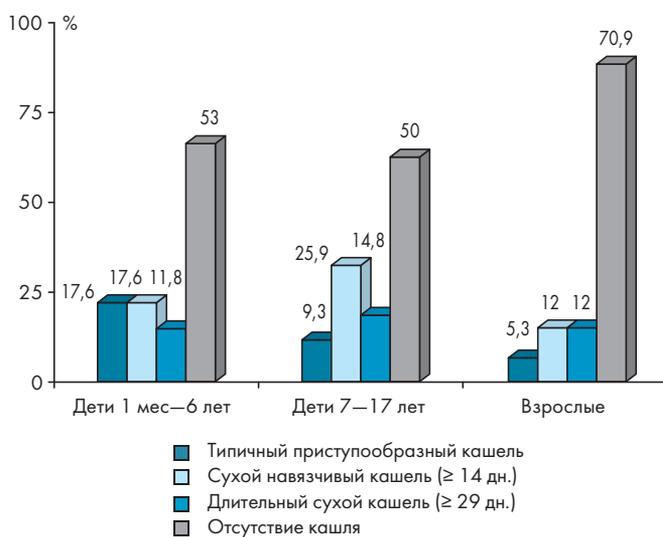


Рисунок 3. Характеристика кашля у контактных лиц разного возраста
Figure 3. Characteristics of cough in contact persons of different ages

пичных форм коклюша не только среди детей с респираторными заболеваниями, но и взрослых, особенно в семейных очагах коклюша. Чаще всего атипичные формы коклюша остаются нераспознанными и не диагностированными вследствие отсутствия у пациентов клинической картины. Эффективность бактериологического метода в диагностике атипичных форм коклюша, проходящих «под масками» других респираторных заболеваний, крайне низка. Отмечается незначительный процент высеваемости коклюшного микроба у привитых детей, у детей старших возрастных групп и контактных лиц, у которых по результатам ПЦР-РВ с использованием тест-системы ПЦР-РВ-IS регистрируется малое количество бактерий в образцах в поздние сроки заболевания (более 14 дней).

Серологический метод, несмотря на высокую специфичность, эффективен в поздние сроки заболевания, не ранее 3–4-ой недели от начала заболевания. При этом суммарный уровень антител класса IgA и IgG у старших возрастных групп — подростков и взрослых — свидетельствует о распространенности атипичных форм коклюша в этих возрастных категориях населения [12]. У вакцинированных детей отмечается быстрая сероконверсия, поэтому часто не выявляют антитела класса IgM. Ранние стадии коклюша остаются не диагностированными, лишены адекватной терапии, в результате чего формируется резервуар возбудителя в популяции подростков и взрослых, являющихся источником инфекции для неиммунных контактных лиц, в том числе — новорожденных и детей 1-ого года жизни.

Очевидно, что коклюш больше не является классической «детской» инфекцией, а его вакцинопрофилактика нуждается в серьезных усовершенствованиях, что касается как качества вакцинных препаратов, так и тактики их применения. Нетипичный навязчивый сухой кашель без характерных репризов или длительный сухой кашель может быть единственным признаком коклюшной инфекции у подростков и взрослых, что требует широкого внедрения в практику современных лабораторных методов этиологической диагностики. Необходимо формирование настойчивости у врачей в отношении атипичных форм коклюша, а внедрение в практическое здравоохранение высокочувствительных и специфичных методов, в том числе количественную ПЦР в режиме реального времени с тест-системой ПЦР-РВ-IS, позволит регистрировать реально существующий уровень заболеваемости коклюшем.

Литература/References:

- Hewlett, E.L., Edwards, K.M. Pertussis — not just for kids. *N. Engl. J. Med.* 2005; 352:1215–1222. PMID: 15788498 DOI: 10.1056/NEJMc041025.
- Клинические рекомендации: «Коклюш у детей», разработаны ФГБУ ДНКЦИБ ФМБА России, ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского, ГКУЗ «ИКБ №1 ДЗМ», ГБОУ ВПО КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого, МБУЗ ГД КБ №1, 2019. [Clinical guidelines: «Whooping cough in children», developed by Pediatric Research and Clinical Center for Infectious Diseases, the G.N. Gabrichevsky Moscow Scientific Research Institute for Epidemiology and Microbiology, Clinical Infectious Diseases Hospital No. 1 of the Moscow Department of Health, State Budget Institution of Higher Education «Krasnoyarsk State Medical University named after Professor V.F. Vojno-Yasenskyy», Krasnoyarsk Interdistrict Children's Clinical Hospital No. 1, 2019 (in Russ)]

- Бабаченко И.В., Харит С.М., Курова Н.Н., Ценева Г.Я. Коклюш у детей. М.: Комментарий; 2014. [Babachenko I.V., Harit S.M., Kurova N.N., Tseneva G.Ya. Whooping cough at children. Moscow: Kommentariy; 2014. (in Russ)]
- Попова О.П., Петрова М.С., Борисова О.Ю., Скирда Т.А., Грачева Н.М., Малышев Н.А. Клинические особенности коклюша у взрослых. *Терапевтический архив.* 2014; 86(11): 78–81. [Popova O.P., Petrova M.S., Borisova O.Yu., Skirda T.A., Gracheva N.M., Malyshev N.A. Clinical features of pertussis in adults. *Terapevicheskii Arkhiv.* 2014; 86(11): 78–81. (in Russ)]
- Locht, C. The Path to New Pediatric Vaccines against Pertussis. *Vaccines.* 2021; 9:228. <https://doi.org/10.3390/vaccines9030228>.
- Петрова М.С., Борисова А.Б., Скирда Т.А., Сметанина С.В., Базарова М.В., Борисова О.Ю., Афанасьев М.С., Алёшкин А.В., Афанасьев С.С., Алёшкин В.А. Особенности клиники и диагностики коклюша у взрослых. *Инфекционные болезни,* 2020; 18(3):104–110. [Petrova M.S., Borisova A.B., Skirda T.A., Smetanina S.V., Bazarova M.V., Borisova O.Yu., Afanasiev M.S., Aleshkin A.V., Afanasiev S.S., Aleshkin V.A. Pertussis in adults: clinical manifestations and diagnosis. *Infect. Bolezni=Infectious Diseases.* 2020; 18(3):104–110. (In Russ)]. <https://doi.org/10.20953/1729-9225-2020-3-104-110>.
- de Greeff S. C., Mooi, F. R., Westerhof, A. et al. Pertussis Disease Burden in the Household: How to Protect Young Infants. *Ox. J. Med. Clin. Infect. Dis.* 15 May 2010; 50(10):1339–1345. <https://doi.org/10.1086/652281>.
- Нестерова Ю.В., Медкова А.Ю., Бабаченко И.В., Е.Г. Семин, Е.Л. Калисникова, Л.Н. Сinyaшина, Г.И. Каратаев. Клинико-диагностическое значение генетических маркеров *Bordetella pertussis* у контактных лиц в семейных очагах. *Журнал инфектологии.* 2019; 11(1):17–24. [Nesterova Yu.V., Medkova A.Yu., Babachenko I.V., Semin E.G., Kalisnikova E.L., Sinyashina L.N., Karataev G.I. Clinical-diagnostic value of *bordetella pertussis* genetic markers in contact persons in familial foci. *Journal Infectology.* 2019;11(1):17–24. (In Russ.)] <https://doi.org/10.22625/2072-6732-2019-11-1-17-24>
- Каратаев Г.И., Сinyaшина Л.Н., Медкова А.Ю. Патент №2506316 Российская Федерация, опубл. 10.02.2014. Способ диагностики коклюша и определения авирулентных мутантов возбудителя и диагностический набор. [Karataev G.I., Sinyashina L.N., Medkova A.Yu. Patent №2506316 of the Russian Federation, published 10.02.2014. A method for diagnosing whooping cough and determining avirulent mutants of the pathogen and a diagnostic kit (in Russ)].
- Гланц С. Медико-биологическая статистика. Пер. с англ. М.: Практика, 1998:459. [Glants S. Medical and biological statistics. Moscow: Praktika, 1998:459. (in Russ)].
- Диагностика коклюша и паракоклюша: Методические рекомендации. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2013:56. [Diagnosis of pertussis and parapertussis: Methodological recommendations. Moscow, Federal Hygiene and Epidemiology Centre of Rospotrebnadzor, 2013:56. (in Russ)].
- Deville J.G., Cherry, J.D., Christenson, P.D., et al. Frequency of unrecognized *Bordetella pertussis* infections in adults. *Clin Infect Dis.* 1995; 21:639–642.

Статья поступила 20.09.2022

Конфликт интересов: Авторы подтвердили отсутствие конфликта интересов, финансовой поддержки, о которых необходимо сообщить. Conflict of interest: The authors confirmed the absence conflict of interest, financial support, which should be reported.