

СОВРЕМЕННОЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЕ ОБ АНТИГЕНАХ КОКЛЮШНОГО МИКРОБА И ИХ РОЛИ В ПАТОГЕНЕЗЕ И ДИАГНОСТИКЕ КОКЛЮШНОЙ ИНФЕКЦИИ

СТАРШИЙ НАУЧНЫЙ
СОТРУДНИК ЛАБОРАТОРИИ
МОЛЕКУЛЯРНЫХ
МЕХАНИЗМОВ
ИНФЕКЦИЙ ФБУН «ЦНИИ
ЭПИДЕМИОЛОГИИ»
РОСПОТРЕБНАДЗОРА

Ирина Эриковна
Борисова



ЗАВЕДУЮЩАЯ
ЛАБОРАТОРИЕЙ
СПЕЦИФИЧЕСКОЙ
ПРОФИЛАКТИКИ ФБУН
«ЦНИИ ЭПИДЕМИОЛОГИИ»
РОСПОТРЕБНАДЗОРА

Татьяна Сергеевна
Селезнева



Возбудитель коклюша *Bordetella pertussis* был выделен из мокроты больного ребенка в 1906 году французскими исследователями Ж. Борде и О. Жангу. Морфологически микробные клетки представляли собой короткие грамтрицательные капсулированные палочки овоидной формы, гладкие, блестящие, прозрачные, куполообразные, с жемчужным или ртутным оттенком, размером 0,2 на 0,4–1,2 мкм. При окраске толуидиновым синим в них обнаруживались биполярно расположенные капсулированные метакроматические гранулы.

Свежевыделенные культуры коклюшного микроба (S-форма, или 1-я фаза по Лесли и Гарднеру) могут расти на обычных питательных средах, тем не менее основными являются: среда Борде – Жангу, состоящая из кар-

тофельно-глицеринового агара с добавлением крови, и полусинтетическая среда – казеиново-угольный агар. На этих средах колонии возбудителя (размером 0,5–1 мм) имеют выпуклые, четко контурированные формы, блестящие, гладкие, серовато-кремового цвета и вязкой консистенции. При этом на среде Борде – Жангу они окружены характерной зоной гемолиза.

Коклюшный микроб – факультативный аэроб, он не редуцирует сахара и нитраты, не образует индола и не использует цитраты. Оптимальная температура при его культивировании 35–36°C. Он отличается сложностью антигенного строения – у него удастся выявить до 12 антигенных компонентов; имеет собственные видо-вые антигены, а также сходные с паракоклюшным микробом, но не идентичные.

ОСНОВНЫЕ АНТИГЕНЫ

BORDETELLA PERTUSSIS

ФИМБРИАЛЬНЫЙ ГЕМАГГЛЮТИНИН

Подобно многим грамтрицательным бактериям *B. pertussis* продуцирует филаментозные полимерные белки на поверхности клеток, которые называются фимбриями. Одним из основных антигенов коклюшной микробной клетки является фимбриальный гемагглютинин (ФГА). Это высокоиммуногенный белок, имеющий характерную шпильчатую молекулу, которая служит для прикрепления *Bordetella pertussis* к слизистому эпителию дыхательных путей хозяина. ФГА синтезируется в качестве предшественника FhaV (м.в. – 367 кД), подвергающегося значительной модификации на N- и C-концах молекулы с образованием зрелой молекулы ФГА (м.в. – 220 кД), которая экспортируется через цитоплазматическую мембрану посредством Sec-сигнального пептидзависимого механизма. Для транслокации и секреции через внешнюю мембрану необходим дополнительный белок FhaC. Исследования *in vitro* с использованием некоторых типов клеток млекопитающих позволили предположить, что

ФГА содержит, по крайней мере, четыре отдельных домена, которые участвуют в прикреплении к клеткам хозяина. Так, звено Arg-Gly-Asp, расположенное в центральной части ФГА и локализованное на одном из концов предполагаемой шпильчатой структуры, прикрепляется к моноцитам/макрофагам и, возможно, лейкоцитам через ответ интегрин/интегрин-связанного белка (LRI/IAP) и рецептора комплемента типа 3 (CR3), содержащегося в лейкоцитах. В частности, RGD-звено ФГА участвует в связывании с очень поздним антигеном 5 (VLA-5). Легирование VLA-5 посредством RGD-домена ФГА индуцирует активацию вещества межклеточной адгезивной молекулы 1 эпителия (ICAM-1), которая, в свою очередь, участвует в активации коклюшной инфекции.

ФГА обладает углеводно-узнающим доменом (CRD), который прикрепляется к реснитчатым эпителиальным клеткам дыхательных путей, так же как к макрофагам *in vitro*. Кроме того, ФГА характеризуется лектиноподобной активностью для гепарина и других сульфированных углеводов, могущих опосредованно прикрепляться к нереснитчатым клеткам эпителия. Этот гепарин-связывающий компонент отличается от CRD- и RGD-участков и необходим для опосредуемой гематглютинации ФГА. Фимбрии могут опосредованно связывать *V. pertussis* с эпителием дыхательных путей через главные фимбриальные субъединицы, а также с моноцитами через FimD. Geuijen et al. показали, что очищенные фимбрии *V. pertussis* даже без FimD способны связываться с сульфатами гепарина, хондроитина, декстрана, а также с сахарами, которые представлены в дыхательных путях реципиента. Две главные фимбриальные субъединицы, которые образуют два доминантных серотипа *Bordetella* (Fim2 и Fim3), кодируются несвязанными хромосомными локусами *fim2* и *fim3*. Домены, связывающие гепарин внутри субъединицы Fim2, имеют сходство с доменами белка фибронектина из экстрацеллюлярного матрикса эукариотических клеток. В работах Hazenbos et al. показано, что FimD опосредует связывание неопсонизированных бактерий *V. pertussis* с VLA-5 на поверхности моноцитов. Этот процесс вызывает активацию CR3, увеличивая способность этого белка связываться с ФГА. Дальнейшие исследования фимбрий свидетельствовали, что они обладают свойствами иммуномодуляторов, действуя как Т-независимые антигены на ранних стадиях IgM-ответа, индуцируя Th2-опосредуемый компонент иммунного ответа хозяина к инфекции *V. pertussis*. Необходимо отметить, что через ФГА-зависимый способ *V. pertussis* ингибирует Т-клеточную пролиферацию к экзогенным антигенам *in vitro*. McGuirk и Mills показали, что взаимодействие ФГА с рецепторами макрофагов приводит в результате к супрессии цитокина интерлейкина-12 (IL-12) через IL-10-зависимый механизм. Дальнейшие исследования позволили предположить, что ФГА может облегчать провоспалительный и проапоптозный ответы в человеческих моноцитоподобных и бронхиальных эпителиальных клетках. Результаты изучения фимбрий позволили предположить, что FIM-опосредуемые взаимодействия с эпителиальными клетками и/или моноцитами/макрофагами могут играть важную роль не только в прикреплении, но

и в усилении иммунного ответа хозяина к инфекции, вызванной *Bordetella pertussis*.

КОКЛЮШНЫЙ ТОКСИН

Основной токсин коклюшного микроба – коклюшный токсин (КТ) – обладает различной биологической активностью и в связи с этим имеет ряд названий: лимфоцитозстимулирующий фактор (ЛСФ), гистаминсенсibiliзирующий фактор (ГСФ) и протективный антиген (ПА). Молекулярный вес КТ равен приблизительно 107 кД. КТ – типичный А-В-токсин, состоящий из двух основных субъединиц: субъединицы А (или S1), обладающей ферментативной активностью, и В-олигомера, который связывается с рецепторами клеток-мишеней. В-олигомер состоит из нескольких субъединиц (S2–S5). Молекулярный вес субъединицы S1 составляет 30 кД; субъединицы S2 – 27 кД; субъединицы S3 – 25 кД и субъединицы S5 – 14 кД. Хотя В-олигомер нетоксичен, он необходим для эффективного связывания токсина с клеткой и позволяет ферментативной субъединице S1 проникать в клетки-мишени. В процессе исследования КТ было показано, что S1-субъединица катализирует перенос АДФ-рибозы от NAD на субъединицу гуанин-нуклеотид-связывающих белков (G-протеинов) в эукариотических клетках. КТ может осуществить также АДФ-рибозилирование и инактивацию G-белков, таких как G_β, G_γ, G_τ (трансдукцин). В активном состоянии G_τ ингибирует аденилатциклазу и активирует каналы K⁺ и циклическую GMP-фосфодиэстеразу в специфических фоторецепторах.

В свою очередь G₀ в активном состоянии активирует K⁺-каналы, фосфолипазу С и инактивирует Ca²⁺-каналы. Биологические эффекты, связанные с нарушением этих сигнальных путей, были представлены сенсibiliзацией к гистамину, увеличением секреции инсулина в ответ на регуляторные сигналы, а также супрессирующими и стимулирующими иммунологическими эффектами. Являясь регулятором аденилатциклазной активности, КТ приводит к усилению распада АТФ и повышению цАМФ в клетках, что нарушает процессы обмена глюкозы, фосфорилирования мембраны, функцию кальциевых помп, повышает высвобождение кальция из внутриклеточных депо и обеспечивает избыточное поступление его в клетку. Адьювантные свойства *V. pertussis*, представленные на моделях животных, сопровождаются увеличением уровня сывороточных антител, развитием клеточных иммунных реакций на разные белковые антигены, а также возникновением подострого экспериментального аутоаллергического энцефаломиелита и увеличенной анафилактической реакцией. Показано, что КТ ингибирует хемотаксис, высвобождает лизосомальные ферменты в нейтрофилах и макрофагах и снижает миграцию нейтрофилов, моноцитов/макрофагов и лимфоцитов.

ПЕРТАКТИН

V. pertussis продуцирует некоторые родственные белки, поверхностно сходные с рядом других бактериальных клеток и принадлежащие к аутотранспортной секреторной системе. Семейство аутотранспортных



белков в бактериях включает различные в функциональном отношении белки, такие как протеазы, адгезины, токсины, инвазины и липазы, которые осуществляют свой транспорт во внешнюю мембрану клетки. Первым изученным компонентом аутотранспортного семейства у *Bordetella* был пертактин (ПН). Зрелый ПН является белком *B. pertussis* (м.в. – 69 кД); у *B. parapertussis* – белком (м.в. – 68 кД) и у *B. bronchiseptica* – белком (м.в. – 70 кД). Пертактин играет важную роль в прикреплении к реснитчатому эпителию дыхательных путей, так как все три его белка содержат Arg-Gly-Asp (RGD) трипептидное звено, так же как некоторые пролин-богатые области и лейцин-богатые повторы, представленные обычно в молекулах, участвующих во взаимодействиях «белок – белок» в эукариотических клетках. Способность ПН и других аутотранспортных функционировать как адгезины была изучена как *in vitro*, так и *in vivo*. Результаты некоторых исследований свидетельствовали, что защита организма может быть усилена посредством нарушения опосредованного ПН-прикрепления штаммов *B. pertussis* к клеткам эпителия хозяина. Hellwig et al. получили доказательство, что антитела к пертактину *B. pertussis* необходимы при иммунном ответе хозяина.

АГГЛЮТИНОГЕНЫ

Агглютиногены (AGGs) являются поверхностными белками коклюшных микробных клеток, к которым при инфекции образуются агглютинирующие антитела *in vitro*. Изначально было изучено 11 антигенов типа AGGs, 6 из которых были специфичны для *B. pertussis*. Из этих 6 антигенов только антиген AGG1 являлся общим для всех штаммов, при этом антигены AGG2-AGG6 обнаруживались в различных комбинациях у отдельных изолированных штаммов. Антигены AGG1, AGG2 и AGG3 были определены как доминантные фимбриальные агглютинирующие антигены, тогда как AGG4, AGG5 и AGG6 – как минорные агглютиногены. В многолетних исследованиях было показано, что защита от коклюша у детей коррелирует с высоким уровнем сыровоточных антител к агглютиногенам.

АДЕНИЛАТЦИКЛАЗА

Все виды *Bordetella*, которые инфицируют млекопитающих, секретируют бифункциональную кальмодулинчувствительную аденилатциклазу/гемолизин (СуаА), которая синтезируется как протоксин из 1706 аминокислотных остатков. Каталитическая активность аденилатциклазы локализована на N-конце участка, содержащем 400 аминокислотных остатков. Домен на C-конце молекулы, состоящий из 1300 аминокислотных остатков, опосредует доставку каталитического домена в цитоплазму эукариотических клеток и обладает низкой, но определяемой гемолитической активностью. Сходство аминокислотных последовательностей между C-терминальным доменом СуаА и гемолизинами *Escherichia coli* (HlyA), *Actinobacillus pleuropneumoniae* (Hpp A) и лейкотоксинами *Pasteurella hemolytica* (CktA), *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (AaLtA) позволяет определить

СуаА как члена семейства кальцийзависимых, порообразующих цитотоксинов, известных как RTX-токсины. Поверхностный гликопротеин эукариотических клеток CD11b служит в качестве рецептора для зрелого СуаА-токсина. Недавно было показано, что для оказания патогенетического действия СуаА-токсина необходима его активная секреция, что может происходить только при тесном контакте живых бактерий с клетками-мишенями хозяина. СуаА активируется посредством кальмодулина и катализирует продукцию некоторого количества циклической АМФ (цАМФ) из АТФ. Очищенный СуаА ингибирует хемилюминесценцию, хемотаксис и генерацию супероксидных анионов посредством моноцитов периферической крови и полиморфно-ядерных нейтрофилов *in vitro*. СуаА также индуцирует апоптоз в культивируемых макрофагах мышей и ингибирует фагоцитоз.

ДЕРМОНЕКРОТИЧЕСКИЙ ТОКСИН

Дермонекротический токсин (DNT) является одним из факторов вирулентности *B. pertussis*. Этот термолabile токсин индуцирует локальные некротические повреждения у мышей и других лабораторных животных. Если DNT вводится подкожно или внутривенно, то он является летальным для мышей даже при низких дозах. Несмотря на то что рецепторы для DNT еще окончательно не идентифицированы, лабораторные исследования с использованием фибробластов и остеобластоподобных линий клеток позволили установить, что DNT реализуется через эндоцитоз. При эндоцитозе DNT подвергается протеолитическому разрыву посредством протеаз млекопитающих, таких как фурин, необходимый для клеточной активности DNT. Транслокация является независимой от подкисления эндосом и катаболического везикулярного транспорта, поскольку для нее необходима N-терминальная область DNT-энзиматического домена, который включает предполагаемый трансмембранный домен. DNTs из *B. pertussis*, *B. bronchiseptica* и *B. parapertussis* характеризуются значительным сходством аминокислотных последовательностей (99%) и идентичностью последовательностей между DNTs из других видов *Bordetella*. Каждый из этих DNTs является цитоплазматическим полипептидом (м.в. – 160 кД). DNT – типичный А-В-токсин, состоящий из домена на N-конце, связывающего рецептор и включающего 54 аминокислоты, а также из энзиматического домена на C-конце, включающего 300 аминокислот.

ТРАХЕАЛЬНЫЙ ЦИТОТОКСИН

Патогенетическое действие трахеального цитотоксина (ТСТ) было изучено *in vitro* на культуре эпителиальных клеток трахеи хомячка (НТЕ). Обнаружено, что ТСТ обуславливает специфическую цитопатологию, характерную для инфекции, вызванной *B. pertussis* в эксплантируемых клетках трахеи (трахея, культивируемая вне организма животного или человека), путем набухания митохондрий, а также дозозависимым ингибированием синтеза ДНК в НТЕ-клетках. ТСТ является дисахарид-тетрапептидным фрагментом пептидогликана, который



продуцируется многими грамотрицательными бактериями. Пептидогликаны участвуют в образовании и разрыве клеточных стенок бактерий в процессе их роста. Так в *Escherichia coli* и некоторых других бактериях превращение фрагмента пептидогликана осуществляется через транспортировку интегрального цитоплазматического мембранного белка, имеющего название *AmpG*, в цитоплазму клетки. В *Bordetella spp.* этот фрагмент пептидогликана освобождается в окружающую среду, что обусловлено отсутствием функционального *AmpG*. ТСТ вызывает потерю реснитчатых клеток за счет повреждения митохондрий, что было доказано с использованием образцов биопсии эпителия носа человека. Кроме того, ТСТ запускает IL-1 продукцию в НТЭ-клетки и приводит к увеличению продукции NO. Возможно, что *in vivo* ТСТ стимулирует продукцию IL-1 и в нереснитчатых клетках, секретирующих слизь, влияя при этом на экспрессию индуцибельной нитратсинтазы, приводящей к высоким уровням продукции NO. В последующем NO диффундирует в соседние реснитчатые клетки, которые становятся более чувствительными к повреждающим действиям цитотоксина. При этом, действуя синергически с LPS *B. pertussis*, ТСТ индуцирует продукцию NO в эпителии воздушных путей.

ЛИПОПОЛИСАХАРИД

Молекулы липополисахарида (LPS) из *B. pertussis* отличаются по химической структуре от хорошо известных LPS гладкого типа, которые продуцируются членами семейства *Enterobacteriaceae*. LPS из *B. pertussis* не имеет повторяющейся O-антигенной структуры и, следовательно, имеет большее сходство с LPS шероховатого типа. При изучении методом электрофореза в полиакриламидном геле с SDS идентифицировали две различные зоны LPS. Зона В, мигрирующая с большей скоростью, содержит липид А, связанный через остаток кетодезоксиоктолусоновой кислоты с разветвленной коровой структурой молекулы, содержащей гептозу, глюкозу, глюкуроновую кислоту, глюкозамин и галактозаминуруновую кислоту (GalNAcA). Заряженные сахара, глюкуроновую кислоту и глюкозамин обычно не обнаруживают в коровых структурах других молекул LPSs. Зона А, мигрирующая более медленно, содержит зону В и трисахарид, включающий N-ацетил-N-метилфукосамин (FuNAcMe); 2,3-дезоксиди-N-ацетилманозаминуруновую кислоту (2,3-ди-NAcManA) и N-ацетилглюкозамин (GlcNAc). Подобно эндотоксинам из других грамотрицательных бактерий, LPS из *B. pertussis* обладает пирогенными, митогенными и токсическими свойствами и может индуцировать продукцию фактора некроза опухолей в макрофагах. LPS играет важную роль в адгезии коклюшного микроба к клеткам хозяина и обладает свойствами адьюванта.

ПАТОГЕНЕЗ

КОКЛЮШНОЙ ИНФЕКЦИИ

Механизм заражения коклюшем – воздушно-капельный. Заражение происходит на расстоянии не бо-

лее 2 м от источника возбудителя. Естественная восприимчивость людей – всеобщая. Воротами инфекции является слизистая оболочка респираторного тракта. Коклюшные микробы прикрепляются к клеткам мерцательного эпителия, где они размножаются на поверхности слизистой оболочки, не проникая в кровоток. Коклюшный экзотоксин (КТ) влияет на функционирование клеток иммунной системы человека, обуславливая развитие вторичного иммунодефицита, что в настоящее время рассматривается в качестве одного из основных факторов патогенеза. Во взаимодействии *B. pertussis* с клетками-мишенями выделяют три стадии. Первая – адгезия. На этой стадии с участием ФГА, AGGs и наружных белков мембраны происходит адгезия возбудителя коклюша на клетках реснитчатого эпителия слизистой оболочки дыхательных путей (гортань, трахея, бронхи) с последующей колонизацией. Для второй стадии характерно локальное повреждение фактором ТСТ мукоцилиарного клиренса, приводящего к цилиостазу за счет нарушенной функции эпителиальных и фагоцитирующих клеток СуаА. При этом DNT оказывает непосредственное повреждающее действие на окружающие ткани. Кроме того, СуаА вместе с КТ подавляет антибактериальные и цитотоксические функции нейтрофилов, моноцитов и натуральных киллеров, способствуя присоединению вторичной инфекции. На третьей стадии имеют место системные проявления инфекции, в которой ведущая роль также принадлежит КТ.

Установлено, что у больных коклюшем иммунный ответ развивается по смешанному Th1/Th2-типу. В ранние сроки, на 1–2-й неделе судорожного кашля (ПСК), в реализации иммунного ответа доминирует клеточное звено иммунитета, в поздние сроки – гуморальное звено. У больных коклюшем начиная с 1–2-й недели ПСК формируется дисбаланс клеточного и цитокинового звеньев иммунитета и угнетение функциональной активности лимфоцитов и нейтрофилов. Отмеченные нарушения сохраняются и нарастают в поздние сроки (на 3–6-й неделе ПСК), проявляясь изменением соотношения абсолютного и относительного количества специфических Т-киллеров, натуральных киллеров, их предшественников, антиген-презентирующих клеток, а также признаками иммуносупрессии – угнетения ответа на специфические антигены *B. pertussis* в реакции бласттрансформации лимфоцитов, а также снижения всех показателей фагоцитоза нейтрофилов. Развивающийся вторичный дефицит клеточного звена иммунитета в поздние сроки ПСК отражает истощение адаптационных возможностей организма и обуславливает частое наложение бактериальных и особенно вирусных инфекций. Именно в эти сроки гипоксия является важным фактором в патогенезе коклюша. Гипоксические нарушения метаболизма клеток проявляются усилением процессов перекисного окисления липидов за счет липаз, протеаз, эндонуклеаз, что способствует нарастанию концентрации свободных радикалов и, как следствие, приводит к мембранопатологическим процессам



в клетке. Усиление разрушающего действия ферментов (эластазы, коллагеназы и др.) на все компоненты соединительной ткани легких и стимуляция процессов кининогенеза с последующим повышением сосудистой проницаемости и развитием бронхоспазма наряду со снижением ферментов антиоксидантной защиты способствуют длительному структурно-функциональному повреждению бронхов и приводят к формированию резидуальных явлений, особенно у детей раннего возраста. Генерализованные расстройства микроциркуляции, обусловленные КТ, являются причиной гипоксии, которая наряду со свободными радикалами способствует повреждению гематоэнцефалического барьера и возникновению гипоксического отека мозга. При этом КТ потенцирует действие вазопрессивных антагонистов, способствуя усилению реабсорбции воды и электролитов (Na^+ и Cl), вызывая антидиуретический и антинатрийуретический эффекты, ведущие к развитию отека мозга. Гипоксический фактор занимает важное место и в патогенезе неврологических расстройств у больных коклюшем, приводя к метаболическим, гемодинамическим и ликвородинамическим нарушениям в ЦНС – от коклюшной энцефалопатии до развития тяжелого нарушения кровообращения. Снижение концентрации Ca^{2+} в сыворотке крови является одним из механизмов формирования судорожного кашля у больных коклюшем. Коклюшный токсин также влияет на чувствительность барорецепторов дуги аорты, ослабляя парасимпатический контроль частоты сердечных сокращений. Плейотропное действие КТ, изученное в экспериментах *in vitro* на моделях животных, не явилось доказательством основной роли КТ в патогенезе коклюшной инфекции у людей. Необходимы дальнейшие исследования, чтобы получить большее количество результатов, подтверждающих его значение.

ДИАГНОСТИКА КОКЛЮШНОЙ ИНФЕКЦИИ

Диагностика коклюша сталкивается со многими трудностями. К ним относятся: некачественные диагностические среды; не вовремя и не в срок собранные образцы изолятов бактерий; трудности в получении качественных питательных сред, дороговизна оборудования, нехватка квалифицированных кадров, необходимость сбора парных сывороток для серологической диагностики, ошибки при интерпретации результатов серологического тестирования и т.д.

«Золотым стандартом» диагностики коклюша является выделение культуры возбудителя. Микробные клетки *B. pertussis* могут быть идентифицированы и с помощью специфической антисыворотки в реакции агглютинации. DFA (прямой тест на основе флуоресцентных антител) практиковался в течение 40 лет, поскольку являлся быстрым, недорогим и позволял получить положительные результаты при негативных данных культивирования, связанных с использованием ан-

тибиотиков. Однако DFA недостаточно специфичен, поскольку давал перекрестные реакции с представителями нормальной микрофлоры ротовой полости. В настоящее время разработан и широко используется метод ПЦР для быстрой диагностики инфекционных заболеваний, в частности коклюшной инфекции. Важными условиями для успешного применения ПЦР являются: сбор коллекции образцов, приготовление образцов для анализа, выбор праймеров, условия амплификации генов-мишеней, оптимум системы детекции, использование отрицательного, а также внутреннего и внешнего положительных контролей (Muller et al.). Образцы, полученные с помощью аспирации, обрабатываются с помощью муколитических агентов для удаления ПЦР-ингибирующих веществ. Праймеры, используемые для ПЦР, получены из четырех областей хромосомы *B. pertussis*: промоторной области генов, кодирующих КТ; ДНК-области выше гена порина; повторяющихся инсерционных последовательностей; гена аденилатциклазы (*SuaA*). Системы для детекции значительно отличались по стоимости и чувствительности. Применение ПЦР для диагностики позволило установить, что эта реакция характеризуется очень высокой специфичностью.

Для диагностики инфекционных заболеваний используются методы определения уровня антигенов, входящих в состав микробных клеток возбудителя, в частности коклюша. В свою очередь, определение антител к этим антигенам в иммуноферментном анализе (ИФА) рассматривается как ретроспективная диагностика заболевания. Инфекция, вызванная *B. pertussis*, сопровождается увеличением концентрации IgA-, IgG- и IgM-антител в сыворотке крови к специфическим антигенам и препаратам из коклюшных микробных клеток. На первых этапах использования серологических методов для диагностики коклюшной инфекции главным серологическим тестом являлась реакция агглютинации, а диагностическим критерием заболевания – четырехкратное увеличение агглютинирующих антител в парных сыворотках, взятых у больного. Эти антитела были направлены против Fim2/3 и LPS. После инфекции антитела могли быть определены только на относительно поздней стадии заболевания, то есть на 3–4-й неделе после возникновения симптомов. Иммунный ответ обычно направлен против различных антигенов *B. pertussis*, но реакции на КТ и ФГА встречаются чаще. Диагностические методы основаны главным образом на определении антител классов IgM, IgG и IgA, поскольку после инфекции продуцируются антитела всех классов. Диагностическое значение уровня IgM-антител к очищенным коклюшным антигенам в ИФА рассматривается как иммунный ответ на прививку или заболевание. Результаты исследований свидетельствовали, что антитела класса IgG к КТ и ФГА имели место у 90% заболевших, тогда как антитела IgA в ответ на КТ обнаруживались только у 20–40% и на ФГА – у 30–50% заболевших. Иммунный ответ к ПН и фимбриям коклюшного микроба характеризовался выработкой антител класса IgG у 30–60% обследуемых, тогда как



антитела класса IgA встречались менее часто – у 20–40%. Самая высокая чувствительность и специфичность при серологической диагностике коклюшной инфекции была получена при использовании количественного метода ИФА для определения уровня антител к КТ коклюшного микроба. Однако метод в на-

стоящее время не имеет широкого применения по ряду причин. Более глубокие исследования антигенов *B. pertussis*, их роли в патогенезе и диагностике коклюшной инфекции позволят усовершенствовать борьбу с коклюшем, осуществляемую на современном этапе развития медицинской науки и практики.