

## Бесклеточная коклюшная вакцина из антигенов свежeweыделенных и вакцинного штаммов *Bordetella pertussis* с различными генотипическими характеристиками

Е. М. Зайцев\*, И. Г. Бажанова, М. В. Брицина, Н. У. Мерцалова, М. Н. Озерецковская

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова», Москва

### Резюме

**Актуальность.** Разработка эффективных и безопасных вакцин для профилактики коклюша остается актуальной задачей здравоохранения. **Цель.** Изучение протективной активности и безопасности бесклеточных коклюшных вакцин (БКВ), содержащих комплекс протективных антигенов из свежeweыделенных и вакцинных штаммов *Bordetella pertussis*. **Материалы и методы.** Для изготовления БКВ использованы свежeweыделенные (№ 287, и № 317) и вакцинные (№ 305 и № 475) штаммы *B. pertussis* с «невакцинным» и «вакцинным» аллельными вариантами гена субъединицы А коклюшного токсина (КТ), гена промотора КТ, гена пертактина, гена фимбрий 2 и гена фимбрий 3. **Результаты.** Все исследованные варианты БКВ были безвредны в тесте изменения массы тела мышей и чувствительности к гистамину. Протективная активность БКВ3 (штаммы № 287, № 317 и № 305) и БКВ1 (штаммы № 287, № 305 и № 475) была выше, чем у БКВ2 (штаммы № 317, № 305 и № 475). Титры IgG к КТ также были выше у мышей, иммунизированных БКВ1 и БКВ3. **Заключение.** Более высокая протективная активность БКВ3 и БКВ1 может быть связана с генотипом штамма № 287, имеющего промотор КТ *ptxP3* и отличающегося повышенным уровнем продукции КТ и высокой вирулентностью. Наиболее перспективной для дальнейших доклинических и клинических исследований представляется БКВ3, имеющая в своем составе 2/3 антигенов штаммов доминирующего «невакцинного» генотипа и 1/3 «вакцинного» генотипа, в целом соответствующих по генам КТ, пертактина и фимбрий, циркулирующим в настоящее время штаммам *B. pertussis*.

**Ключевые слова:** штаммы *B. pertussis*, генотип, бесклеточная коклюшная вакцина, протективные свойства, токсичность  
Конфликт интересов не заявлен.

**Для цитирования:** Зайцев Е. М., Бажанова И. Г., Брицина М. В. и др. Бесклеточная коклюшная вакцина из комплекса протективных антигенов штаммов *Bordetella pertussis* с «невакцинным» и «вакцинным» генотипами. Эпидемиология и Вакцинопрофилактика. 2021;20(4): 68–72. <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2021-20-4-68-72>.

### Acellular Pertussis Vaccine from Antigens of Freshly Isolated and Vaccine Strains of *Bordetella pertussis* with Different Genotypic Characteristics

EM Zaitsev\*\*, IG Bazhanova, MV Britsina, NU Mertsalova, MN Ozeretskovskaya  
Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow

### Abstract

**Relevance.** The development of effective and safe vaccines for pertussis prevention remains an urgent public health challenge. **Aim.** To study the protective activity and safety of acellular pertussis vaccine (AcPV) containing a complex of protective antigens from freshly isolated and vaccine strains of *Bordetella pertussis*. **Materials and methods.** Freshly isolated (No. 287, and No. 317) and vaccine (No. 305 and No. 475) *B. pertussis* strains with «non-vaccine» and «vaccine» allelic variants of the pertussis toxin (PT) subunit A gene, the PT promoter gene, the pertactin gene, the fimbria 2 gene, and the fimbria 3 gene strains were used for the production of AcPV. **Results.** All the studied variants of AcPV were harmless in the test of changes in the body weight of mice and sensitivity to histamine. The protective activity of AcPV3 (strains No. 287, No. 317 and No. 305) and AcPV1 (strains No. 287, No. 305 and No. 475) was higher than that of AcPV2 (strains No. 317, No. 305, and No. 475). IgG antibody titers to PT were also higher in mice immunized with AcPV1 and AcPV3. **Conclusion.** The higher protective activity of AcPV3 and AcPV1 may be associated

\* Для переписки: Зайцев Евгений Михайлович, д. м. н., заведующий лабораторией иммуномодуляторов, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова», Россия 105064, Москва, Малый Казенный переулок, д. 5а. +7 (495) 916-22-63, [pertussis@yandex.ru](mailto:pertussis@yandex.ru). ©Зайцев Е. М. и др.

\*\* For correspondence: Zaitsev Evgeny M., Dr. Sci. (Med.), Head of the Laboratory of Immunomodulators, I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, 5a, Maly Kazenny Pereulok, Moscow, 105064, Russia. +7 (495) 916-22-63, [pertussis@yandex.ru](mailto:pertussis@yandex.ru). ©Zaitsev EM, et al.

with the genotype of strain No. 287, which has a *ptxP3* PT promoter and is characterized by an increased level of PT production and high virulence. The most promising for further preclinical and clinical studies is AcPV3, which contains 2/3 of the antigens of the dominant «non-vaccine» genotype and 1/3 of the «vaccine» genotype, corresponding to the genes of PT, pertactin and fimbria to the currently circulating *B. pertussis* strains.

**Keywords:** *B. pertussis* strains, genotype, acellular pertussis vaccine, protective properties, toxicity  
No conflict of interest to declare

**For citation:** Zaitsev EM, Bazhanova IG, Britsina MV, et al. Acellular pertussis vaccine from antigens of freshly isolated and vaccine strains of *bordetella pertussis* with different genotypic characteristics. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2021;20(4): 68–72 (In Russ.). <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2021-20-4-68-72>.

## Введение

Коклюш продолжает оставаться одним из распространенных заболеваний, особенно опасным для детей раннего возраста. Массовая вакцинация против коклюша позволила резко снизить уровень заболеваемости, однако в последние десятилетия вновь отмечается постепенное увеличение количества вспышек коклюша во всех странах мира, в том числе в странах с высоким уровнем охвата вакцинацией [1,2]. Одной из вероятных причин продолжающегося эпидемического процесса коклюша является изменчивость генома *B. pertussis*, сопровождающаяся циркуляцией штаммов с повышенным уровнем токсинообразования и высокой вирулентностью. Молекулярно-генетический анализ штаммов *B. pertussis* выявил аллельные варианты генов, кодирующих целый ряд вирулентных факторов, среди которых наибольшее значение имеют гены *S1* субъединицы коклюшного токсина (*ptxA*), промотора коклюшного токсина (*ptxP*), пертактина (*prn*) и фимбриальных белков (*fim2* и *fim3*). В циркулирующих в настоящее время популяциях штаммов *B. pertussis* наиболее часто встречается *ptxA1* аллель гена коклюшного токсина; аллельный вариант *ptxP3* гена промотора коклюшного токсина; доминируют штаммы, имеющие *prn2* и *prn3* аллели гена пертактина; отмечается тенденция к увеличению доли штаммов с *fim2-2* и *fim3B* аллелями фимбриальных генов. У вакцинных штаммов преобладают *ptxA2* и *ptxA4* аллели гена коклюшного токсина, аллель *ptxP1* промотора коклюшного токсина, *prn1* аллель гена пертактина, *fim2-1* и *fim3A* аллели генов фимбрий [3–5]. Изменения генома возбудителя коклюша ставят вопрос о необходимости создания вакцин нового поколения и замены «старых» вакцинных штаммов на «новые» [5,6]. Штаммы с новым «невакцинным» генотипом доминируют в популяции, однако продолжается циркуляция определенной части штаммов с «вакцинным» генотипом [7]. В связи с этим актуальным является разработка коклюшных вакцин, сочетающих комплексы протективных антигенов штаммов «вакцинного» и «невакцинного» генотипов, соответствующих по генотипическим характеристикам циркулирующим штаммам *B. pertussis*. В НИИВС им. И. И. Мечникова были адаптированы к росту в жидкой питательной среде штаммы *B. pertussis* выделенные от больных

коклюшем, депонированные в «Научном центре экспертизы средств медицинского применения» под № 287 (серовар 1.0.3) и № 317 (серовар 1.2.3). Бесклеточные коклюшные вакцины (БКВ), изготовленные из комплексов протективных антигенов этих штаммов обладали защитной активностью при отсутствии токсических и сенсибилизирующих свойств.

**Цель работы** – сравнительное изучение протективной активности и безопасности БКВ из сочетания комплексов протективных антигенов штаммов *B. pertussis* с «вакцинным» и «невакцинным» генотипом.

## Материалы и методы

### Животные

Мыши-гибриды  $F_1$  (СВАх<sub>57</sub>Bl<sub>6</sub>), массой 12–14 и 14–16 грамм, полученные из биопитомника «Стезар», г. Владимир.

### Штаммы *B. pertussis*

Вакцинные: № 305, серовар 1.2.0, аллельный вариант *ptxA2* гена субъединицы А КТ, аллельный вариант *ptxP1* гена промотора КТ, аллельный вариант *prn1* гена пертактина, аллельный вариант *fim 2-1* гена фимбрий 2, аллельный вариант *fim3A* гена фимбрий 3; № 475, серовар 1.2.3, аллельный вариант *ptxA4* гена субъединицы А КТ, аллельный вариант *ptxP1* гена промотора КТ, аллельный вариант *prn1* гена пертактина, аллельный вариант *fim 2-1* гена фимбрий 2, аллельный вариант *fim3A* гена фимбрий *fim 3*.

Свежевыделенные: № 287 (серовар 1.0.3) и № 317 (серовар 1.2.3) с аллельными вариантами *ptxA1* гена субъединицы А КТ, *ptxP3* гена промотора КТ, *prn2* гена пертактина, *fim 2-1* гена фимбрий *fim 2* и *fim3B* гена фимбрий *fim 3*. Тест – штамм нейротропной культуры *B. pertussis* № 18323.

Отраслевой стандартный образец иммуногенности и токсичности коклюшной вакцины (ОСО).

Гель гидроксида алюминия (Alhydrogel® adjuvant 2%, «InVivoGen», США).

Бесклеточные коклюшные вакцины (БКВ) получены по оригинальной методике из супернатанта жидкой среды культивирования *B. pertussis* штаммов № 287, № 317, № 305 и № 475 в соответствии с ранее описанным методом [8].

Протективные свойства БКВ оценивали в соответствии с руководством по проведению

доклинических исследований лекарственных средств на модели развития менингоэнцефалита у иммунизированных мышей, зараженных нейротропной вирулентной культурой *B. pertussis* штамм 18323. Токсичность и гистаминсенсibiliзирующие свойства БКВ определяли согласно руководству по проведению доклинических исследований лекарственных средств [9].

Титры антител к КТ определяли в сыворотках мышей, иммунизированных тремя вариантами БКВ в дозе 25 мкг. Контрольной группе мышей вводили 0,5 мл 0,9% раствора натрия хлорида. В каждой группе было иммунизировано по 10 мышей. На 14 сутки после иммунизации брали кровь и получали сыворотки. В сыворотках определяли титры IgG антител к КТ с помощью полуколичественного варианта иммуноферментного анализа (ИФА) в 96-луночных полистироловых планшетах с плоским дном фирмы «Nunc». Для адсорбции на полистироле использовали очищенный коклюшный токсин (каталожный номер JN1H-5, Национальный институт стандартов и контроля, Великобритания) в концентрации 5 мкг/мл. Пероксидазный конъюгат антивидовых антител к IgG белой мыши (Филиал «Медгамал» ГУНИИЭМ им. Н. Ф. Гамалеи) использовали в рабочем разведении. В качестве субстратной смеси использовали тетраметилбензидин. Результаты реакции учитывали, измеряя ОП субстратной смеси с помощью спектрофотометра Multiscan FC («Термо Фишер Сайентифик», США) при длине волны 450 нм.

Статистические методы: ЛД<sub>50</sub> (доза, вызывающая 50% выживаемости мышей) и МЗЕ/мл (Международная защитная единица в 1мл вакцины) рассчитывали по методу Вильсон и Вустер, с использованием таблиц Национального института здоровья США. Статистический анализ результатов ИФА проводили по определению средней арифметической (М) и стандартной ошибки (m) [10].

### Результаты и обсуждение

На основе детоксицированных комплексов протективных антигенов, выделенных из среды культивирования вакцинных и свежeweделенных штаммов, были изготовлены 3 варианта БКВ.

Первый вариант БКВ1 содержал в 1-й иммунизирующей дозе для человека 50% белка комплексов протективных антигенов свежeweделенного штамма *B. pertussis* № 287 и по 25% белка комплексов протективных антигенов вакцинных штаммов № 305 и № 475.

Второй вариант БКВ2 содержал в 1-й иммунизирующей дозе для человека 50% белка комплексов протективных антигенов свежeweделенного штамма *B. pertussis* № 317 и по 25% белка комплексов протективных антигенов вакцинных штаммов № 305 и № 475.

Третий вариант БКВ3 содержал в 1-й иммунизирующей дозе для человека по 33,3% белка комплексов протективных антигенов

**Таблица 1. Биологические свойства бесклеточных коклюшных вакцин**  
**Table 1. Biological properties of acellular pertussis vaccine [AcPV]**

Состав БКВ (штаммы) AcPV (strains)	Протективная активность Protective activity ЕД <sub>50</sub> мл ED <sub>50</sub> , ml	Титры IgG антител к КТ IgG titers to pertussis toxin (M ± 2 m)			ГСД <sub>50</sub> мкг Histamine sensitizing 0,5 dose mkg	Тест изменения массы тела мышей в % к контролю Test of changes in body weight of mice in% to control
		МЗЕ мл IPU ml	контроль (не-иммунизированные мыши) control (non-immunized mice)	через 14 суток после иммунизации 14 days after immunization		
БКВ1/ AcPV1: № 287 № 305 № 475	0,020 0,014÷0,029	12,8	8 ± 2	168 ± 19**	>100	81,2
БКВ2/ AcPV2: № 317 № 305 № 475	0,029 0,022÷0,038	9,3	8 ± 2	118 ± 17	>100	93,7
БКВ3/ AcPV3: № 287 № 317 № 305	0,015 0,010÷0,020	18,0*	8 ± 2	254 ± 21**	>100	93,8
ОСО Industry standard sample	0,009 0,007÷0,011				4,2 МОЕ	80,3

Примечание: \*различия достоверны с БКВ2. \*\* — различия достоверны с БКВ2.

Титры антител к КТ на 14-е сутки после иммунизации в сыворотках мышей, иммунизированных БКВ1, БКВ 2 и БКВ3, достоверно превышали титры антител у неиммунных мышей.

Note: \*differences are significant with AcPV2. \*\*differences are significant with AcPV2. The titers of antibodies to QD on the 14th day after immunization in the sera of mice immunized with AcPV1, AcPV2, and AcPV3 significantly exceeded the titers of antibodies in non-immune mice.

свежевыделенных штаммов № 287 и № 317 и вакцинного штамма № 305.

Результаты изучения протективной активности и токсических свойств БКВ приведены в таблице 1. Исследована протективная активность БКВ при заражающей дозе культуры тест – штамма № 18323 равной 250 ЛД<sub>50</sub>. Протективная активность всех вариантов препарата превышала 8МЕ/мл и составила у БКВ1 – 12,8 МЕ/мл, у БКВ2 – 9,3МЕ/мл и у БКВ3 -18,0 МЕ/мл.

Препараты БКВ были исследованы на безвредность в тесте изменения массы тела мышей в дозе 25 мкг (рекомендуемой для человека). Все препараты были безвредны в испытываемой дозе (прибавка массы тела мышей по отношению к контролю составила более 60%), что свидетельствует об отсутствии токсичности у испытываемых препаратов.

Все три препарата не обладали гистаминсенсибилизирующей активностью, так как гистаминсенсибилизирующих доз (ГСД) 25, 50 и 100 мкг не было отмечено гибели животных ни через час, ни через 24 часа после введения гистамина дигидрохлорида в дозе 2,5 мг на мыш. ГСД<sub>50</sub> была более 100 мкг (более 4-х иммунизирующих доз для человека).

Для изготовления БКВ нами были использованы различные сочетания комплексов протективных антигенов вакцинных и свежевыделенных штаммов. По генотипическим характеристикам БКВ1 и БКВ2 содержали 2/3 комплексов протективных антигенов штаммов «вакцинного» генотипа и 1/3 комплексов протективных антигенов штамма «невакцинного» генотипа. В БКВ3 входило 2/3 комплексов протективных антигенов штаммов «невакцинного» генотипа и 1/3 комплексов протективных антигенов штамма «вакцинного» генотипа. Все исследованные варианты вакцин обладали защитной активностью (не менее 8 МЗЕ/мл в соответствии с рекомендацией ВОЗ) на фоне отсутствия токсических и сенсибилизирующих свойств. При этом наибольшей протективной активностью обладала БКВ3 (различия статистически достоверны с БКВ2). Протективная активность БКВ1 также была несколько выше, чем у БКВ2. Титры антител к КТ были статистически выше у мышей, иммунизированных БКВ1 и БКВ3. Анализ штаммового состава изученных БКВ позволяет предположить, что более высокая протективная активность БКВ3 и БКВ1 связана с наличием в их составе антигенного комплекса свежевыделенного штамма № 287. Вирулентность *B. pertussis* в организме

человека обусловлена сочетанием целого ряда факторов патогенности, среди которых кроме КТ определенное значение могут иметь пертактин, филаментозный гемагглютинин, антигены фимбрий, липополисахарид и другие токсины и поверхностные структуры возбудителя. Однако ведущая роль в патогенезе коклюша принадлежит КТ [11]. При этом важное значение имеет тип промотора КТ. Показано, что штаммы с ptxP3 типом промотора продуцируют КТ более интенсивно, чем штаммы с ptxP1 типом [12]. Ранее нами было показано, что штамм № 287, имеющий промотор коклюшного токсина ptxP3, отличался повышенным уровнем продукции КТ и высокой вирулентностью. Штамм № 317 также имел промотор ptxP3, однако по уровню продукции КТ существенно не отличался от штаммов № 305 и № 475, имеющих промотор ptxP1 [13].

В соответствии с МУК 4.2.2317-08 «Отбор, проверка и хранение производственных штаммов коклюшных, паракоклюшных и бронхисептикозных бактерий» при изготовлении коклюшных вакцин необходимо использовать штаммы трех серотипов (1, 2, 3; 1.2.0; 1.0.3), взятых в равных соотношениях [14]. В наибольшей степени этим требованиям соответствовала БКВ3, изготовленная из антигенных комплексов штаммов сероваров 1. 2. 3; 1.2.0 и 1.0.3. Преимуществом БКВ3 также является наличие в ее составе 2/3 комплексов протективных антигенов штаммов доминирующего «невакцинного» типа. БКВ1 тоже содержала антигенные комплексы сероваров 1. 2. 3; 1.2.0, и 1.0.3, но имела в своем составе большую долю антигенов штаммов «вакцинного» генотипа, по сравнению с БКВ3, у которой преобладали антигены штаммов доминирующего «невакцинного» типа. В БКВ2 присутствовали комплексы протективных антигенов только двух сероваров 1. 2. 3 и 1.2.0, с преобладанием антигенов штаммов «вакцинного» генотипа.

### Заключение

Наиболее перспективной для дальнейших доклинических и клинических исследований представляется БКВ3, изготовленная из комплексов антигенов основных серотипов *B. pertussis* (1.0.3, 1.2.0 и 1.2.3) и имеющая в своем составе 2/3 антигенов штаммов доминирующего «невакцинного» генотипа и 1/3 «вакцинного генотипа», соответствующих по генам КТ, пертактина и фимбрий, циркулирующим в настоящее время штаммам *B. pertussis*.

### Литература

1. Yeung K.H.T., Duclos P., Nelson E.A.S., et al. An update of the global burden of pertussis in children younger than 5 years: a modelling study. *Lancet Infect. Dis.* 2017. Vol. 17(9), P. 974–980. doi: 10.1016/S1473-3099(17)30390-0.
2. Cherry J.D. The prevention of severe pertussis and pertussis deaths in young infants. *Expert. Rev. Vaccines.* 2019. Vol. 18(3), P. 205–208. doi: 10.1080/14760584.2019.1581065.
3. Dorji D., Mooi F., Yantorno O., et al. Bordetella pertussis virulence factors in the continuing evolution of whooping cough vaccines for improved performance. *Med. Microbiol. Immunol.* 2018. Vol. 207(1), P. 3–26. doi:10.1007/s00430-017-0524-z.
4. Imamura T., Shoji K., Kubota M., et al. Allele frequencies of Bordetella pertussis virulence-associated genes identified from pediatric patients with severe respiratory infections. *J Infect Chemother.* 2020. Vol. 26(7), P. 765–768. doi: 10.1016/j.jiac.2020.02.016.



## Original Articles

5. Борисова О. Ю., Гадуа Н. Т., Пименова А. С. и др. Структура популяции штаммов возбудителя коклюша на территории России. *Эпидемиология и Вакцинопрофилактика*. 2016. Т. 15(4), С. 22–28. <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2016-15-4-22-28>.
6. Семин Е. Г., Синяшина М. Н., Медкова А. Ю. и др. Конструирование рекомбинантных аттенуированных бактерий *Bordetella pertussis* генотипа PTxP3. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2018. Т. 4, С. 33–41.
7. Алешкин В. А., Борисова О. Ю., Гадуа Н. Т. и др. Особенности генотипической изменчивости штаммов *Bordetella pertussis*, выделенных от больных коклюшем в России. *Acta Biomedica Scientifica (East Siberian Biomedical Journal)*. 2012. Т. 5(1), С. 177–183.
8. Захарова Н. С., Брицина М. В., Мерцалова Н. У. и др. Отечественная бесклеточная коклюшная вакцина. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2008. Т. 1, С. 35–41.
9. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств (иммунологические лекарственные препараты). Ч. 2 МЗ РФ. Москва, 2012.
10. Ашмарин И. П., Воробьев А. А. Статистические методы в микробиологических исследованиях. Ленинград: Медгиз; 1962.
11. Scanlon K, Skerry C, Carbonetti N. Association of pertussis toxin with severe pertussis disease toxins (Basel). 2019. Vol. 11(7), P. 373. doi: 10.3390/toxins11070373.
12. Loconsole D, De Robertis A.L., Morea A. et al. Resurgence of pertussis and emergence of the ptxp3 toxin promoter allele in South Italy. *Pediatr Infect. Dis. J.* 2018. Vol. 37(5), P. e126–e131. doi: 10.1097/INF.0000000000001804.
13. Зайцев Е.М., Мерцалова Н.У., Шинкарев А.С. и др. Продукция коклюшного токсина выделенными от больных коклюшем штаммами *Bordetella pertussis* Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2011. Т. 1, С. 76–79.
14. МУК 4.2.2317-08. Отбор, проверка и хранение производственных штаммов коклюшных, паракклюшных и бронхисептикозных бактерий. Москва; 2009.

## References

1. Yeung KHT, Duclos P, Nelson EAS, et al. An update of the global burden of pertussis in children younger than 5 years: a modelling study. *Lancet Infect. Dis.* 2017; 17(9):974–980. doi: 10.1016/S1473-3099(17)30390-0.
2. Cherry JD. The prevention of severe pertussis and pertussis deaths in young infants. *Expert. Rev. Vaccines*. 2019;18(3):205–208. doi: 10.1080/14760584.2019.1581065.
3. Dorji D, Mooi F, Yantorno O, et al. *Bordetella pertussis* virulence factors in the continuing evolution of whooping cough vaccines for improved performance. *Med. Microbiol. Immunol.* 2018;207(1):3–26. doi: 10.1007/s00430-017-0524-z.
4. Imamura T, Shoji K, Kubota M, et al. Allele frequencies of *Bordetella pertussis* virulence-associated genes identified from pediatric patients with severe respiratory infections. *J Infect Chemother.* 2020;26(7):765–768. doi: 10.1016/j.jiac.2020.02.016.
5. Borisova OYu, Gadua NT, Pimenova AS, et al. Structure of the population of pertussis pathogen strains in Russia. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2016;15(4): 22–28 (In Russ.) <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2016-15-4-22-28>.
6. Semin EG, Sinyashina MN, Medkova AYU, et al. Construction of recombinant attenuated bacteria of the *Bordetella pertussis* genotype PTxP3. *Journal of Microbiology, Epidemiology, and Immunobiology*. 2018; 4: 33–41 (In Russ.).
7. Aleshkin VA, Borisova OYu, Gadua NT, et al. Features of genotypic variability of *Bordetella pertussis* strains isolated from whooping cough patients in Russia. *Acta Biomedica Scientifica (East Siberian Bio-medical Journal)*. 2012; 5(1):177–183 (In Russ.).
8. Zakharova NS, Britsina MV, Mertsalova NU, et al. Domestic cell-free pertussis vaccine. *Journal of Microbiology, Epidemiology, and Immunobiology*. 2008; 1:35–41 (In Russ.).
9. Guidelines for conducting preclinical studies of medicinal products (immunological medicinal products). Part 2 of the Ministry of Health of the Russian Federation. Moscow, 2012 (In Russ.).
10. Ashmarin IP, Vorobyev AA. Statistical methods in microbiological research. Leningrad: Medgiz; 1962. (In Russ.).
11. Scanlon K, Skerry C, Carbonetti N. Association of Pertussis Toxin with Severe Pertussis Disease Toxins (Basel). 2019; 11(7):373. doi: 10.3390/toxins11070373.
12. Loconsole D, De Robertis AL, Morea A, et al. Resurgence of Pertussis and Emergence of the Ptxp3 Toxin Promoter Allele in South Italy. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 2018; 37(5):e126–e131. doi: 10.1097/INF.0000000000001804.
13. Zaitsev EM, Mertsalova NU, Shinkarev AS, et al. Production of pertussis toxin isolated from patients with pertussis strains of *Bordetella pertussis*. *Journal of Microbiology, Epidemiology, and Immunobiology*. 2011;1:76–79 (In Russ.).
14. МУК 4.2.2317-08. Selection, inspection and storage of production stocks of pertussis, parapertussis and bronchisepticosis bacteria. Moscow; 2009 (In Russ.).

## Об авторах

- **Евгений Михайлович Зайцев** – д. м. н., заведующий лабораторией иммуномодуляторов ФГБНУ НИИВС им. И. И. Мечникова, Москва. +7 (495) 916-22-63, [pertussis@yandex.ru](mailto:pertussis@yandex.ru). ORCID ID 0000-0002-4813-9074.
- **Марина Васильевна Брицина** – ведущий научный сотрудник ФГБНУ НИИВС им. И. И. Мечникова, Москва. +7 (495) 916-22-63, [britsinamarina@yandex.ru](mailto:britsinamarina@yandex.ru). ORCID ID 0000-0002-3044-0790.
- **Наталья Устиновна Мерцалова** – ведущий научный сотрудник ФГБНУ НИИВС им. И. И. Мечникова, Москва. +7 (495) 916-22-63, [n.mertsalova@yandex.ru](mailto:n.mertsalova@yandex.ru). ORCID ID 0000-0003-1404-1498.
- **Ирина Глебовна Бажанова** – ведущий научный сотрудник ФГБНУ НИИВС им. И. И. Мечникова, Москва. +7 (495) 916-22-63, [ibajanowa@yandex.ru](mailto:ibajanowa@yandex.ru). ORCID ID 0000-0002-9072-2538.
- **Мария Николаевна Озерецковская** – ведущий научный сотрудник ФГБНУ НИИВС им. И. И. Мечникова, Москва. +7 (495) 916-22-63, [manja33@yandex.ru](mailto:manja33@yandex.ru). ORCID ID 0000-0001-9809-4217.

Поступила: 19.04.2021. Принята к печати: 27.07.2021.

Контент доступен под лицензией CC BY 4.0.

## About the Authors

- **Evgeny M. Zaytsev** – Dr. Sci. (Med.), Head of the Laboratory of Immunomodulators, Mechnikov NIIVS, Moscow. +7 (495) 916-22-63, [pertussis@yandex.ru](mailto:pertussis@yandex.ru). ORCID ID 0000-0002-4813-9074.
- **Marina V. Britsina** – Leading Researcher, Mechnikov NIIVS, Moscow. +7 (495) 916-22-63, [britsinamarina@yandex.ru](mailto:britsinamarina@yandex.ru), ORCID ID 0000-0002-3044-0790.
- **Natalia U. Mertsalova** – Leading Researcher, Mechnikov NIIVS, Moscow. +7 (495) 916-22-63, [n.mertsalova@yandex.ru](mailto:n.mertsalova@yandex.ru). ORCID ID 0000-0003-1404-1498.
- **Irina G. Bazhanova** – Leading Researcher, Mechnikov NIIVS, Moscow. +7 (495) 916-22-63, [ibajanowa@yandex.ru](mailto:ibajanowa@yandex.ru). ORCID ID 0000-0002-9072-2538.
- **Maria N. Ozertskovskaya** – Leading Researcher, Mechnikov NIIVS, Moscow. +7 (495) 916-22-63, [manja33@yandex.ru](mailto:manja33@yandex.ru). ORCID ID 0000-0001-9809-4217.

Received: 19.04.2021. Accepted: 27.07.2021.

Creative Commons Attribution CC BY 4.0.