

<https://doi.org/10.31631/2073-3046-2024-23-3-27-37>

Антибиотикочувствительность выделенных на территории России штаммов *Bordetella pertussis* к эритромицину и азитромицину

А. С. Пименова¹, Н. Т. Гадуа¹, И. Ю. Андриевская¹, О. Ю. Борисова^{*1, 2},
М. С. Петрова¹, А. Б. Борисова¹, С. С. Афанасьев¹, И. В. Подопригра²,
М. С. Афанасьев³, Т. И. Москвина⁴, Г. В. Воробьева⁵, И. М. Дегтярева⁶,
О. В. Тимиркина⁷, С. А. Лукьянцева⁸, Т. Н. Тригорлова⁹

¹ ФБУН МНИИЭМ им. Г. Н. Габричевского Роспотребнадзора, Москва

² ФГАОУ ВО РУДН им. Патриса Лумумбы, Москва

³ ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва

⁴ ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Челябинской области», г. Челябинск

⁵ ГАУЗ СО «ДГБ г. Каменск-Уральский», г. Каменск-Уральский

⁶ ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Воронежской области», г. Воронеж

⁷ ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Ульяновской области», г. Ульяновск

⁸ ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Пермском крае», г. Пермь

⁹ ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Хабаровском крае», г. Хабаровск

Резюме

Актуальность. Антибактериальные препараты широко применяются для лечения и профилактики инфекций верхних и нижних дыхательных путей. Однако масштабное, длительное, а также необоснованное применение антимикробных препаратов для лечения этих инфекций привело к возникновению резистентности у большинства патогенных микроорганизмов. **Цель.** Изучить антибиотикочувствительность циркулирующих на территории России штаммов возбудителя коклюша к эритромицину и азитромицину. **Материалы и методы.** В исследование включено 165 клинических изолятов *B. pertussis*, выделенных с 2014 г. по 2020 г. Антибиотикочувствительность к эритромицину и азитромицину определяли двумя методами: диско-диффузионным и с помощью МИК теста. Мутацию A2047G в гене 23S rRNA у штаммов *B. pertussis* выявляли в ПЦР с последующим секвенированием продуктов амплификации. **Результаты и обсуждение.** При использовании диско-диффузионного метода было выявлено, что диаметр зоны задержки роста к эритромицину у исследуемых изолятов варьировал в пределах 25–62 мм (медиана 44 мм), а диаметр зоны задержки роста к азитромицину колебался в пределах 22–80 мм (медиана 50 мм). При этом наличие зоны задержки роста диаметром ≥ 42 мм после 7 дней инкубации свидетельствовало о чувствительности штамма к этим антибиотикам. Учитывая этот критерий, было определено, что среди изученных штаммов 57 (34,5%) оказались резистентными к эритромицину и 23 (13,9%) – к азитромицину. Далее проведено исследование по установлению МПК эритромицина и азитромицина для 57 и 23 штаммов соответственно. В группу сравнения вошло 79 изолятов, относящихся по результатам предыдущего исследования к категории чувствительных. Значение МПК, равное 0,12 мкг/мл, рассматривалось в качестве cut-off для антибиотикочувствительности штаммов. Установлено, что МПК эритромицина и МПК азитромицина для изолятов *B. pertussis* находились в пределах 0,01–0,001 мкг/мл (медиана 0,001 мкг/мл) и 0,01–0,0001 мкг/мл (медиана 0,0001 мкг/мл) соответственно, и, следовательно, все изученные штаммы оказались чувствительными к этим антибиотикам. Проведенные молекулярно-генетические исследования показали, что у изолятов *B. pertussis*, которые имели зону задержки роста диаметром < 42 мм, также отсутствовала и мутация A2047G в гене 23S rRNA. **Выводы.** Полученные результаты свидетельствуют о том, что необходимо определить критерии оценки антибиотикочувствительности штаммов *B. pertussis* к эритромицину и азитромицину с помощью диско-диффузионного метода и использовать его только в качестве скринингового метода при мониторинге возбудителей коклюша с обязательной последующей оценкой МПК антибиотиков. По итогам проведенного исследования штаммы *B. pertussis*, выделенные в России в 2014–2020 гг., сохраняют свою чувствительность *in vitro* к эритромицину и азитромицину и проявляют гомозиготный фенотип.

Ключевые слова: коклюш, *Bordetella pertussis*, антибиотикочувствительность, эритромицин, азитромицин, диско-диффузионный метод, градиентный метод, минимальная подавляющая концентрация, гомозиготный фенотип

Конфликт интересов не заявлен.

* Для переписки: Борисова Ольга Юрьевна, д. м. н., профессор, руководитель лаборатории диагностики дифтерийной и коклюшной инфекций, ФБУН МНИИЭМ им. Г. Н. Габричевского Роспотребнадзора, 125212, Москва, ул. Адмирала Макарова, д. 10. +7 (499) 747-64-84, +7 (916) 147-19-60, факс +7 (495) 452-18-30, olgaborisova@mail.ru. ©Пименова А. С. и др.

Для цитирования: Пименова А. С., Гадуа Н. Т., Андриевская И. Ю. и др. Антибиотикочувствительность выделенных на территории России штаммов *Bordetella pertussis* к эритромицину и азитромицину. Эпидемиология и Вакцинопрофилактика. 2024;23(3):27-37. <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2024-23-3-27-37>

Antimicrobial Susceptibility Testing to Erythromycin and Azithromycin of Clinical Isolates of *Bordetella pertussis* Circulating in Russia

AS Pimenova¹, NT Gadua¹, IYu Andrievskaya¹, OYu Borisova^{**1}, MS Petrova¹, AB Borisova¹, SS Afanas'ev¹, IV Podoprigora², MS Afanas'ev³, TI Moskvina⁴, GV Vorob'eva⁵, IM Degtyareva⁶, OV Timirkina⁷, SA Luk'yanceva⁸, TN Trigorlova⁹

¹G.N. Gabrichevsky Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Russia

²Peoples' Friendship University of Russia (RUDN University), Russia

³Sechenov University, Russia

⁴Center of Hygiene and Epidemiology in Chelyabinsk region, Russia

⁵Children's city hospital Kamensk-Uralsky, Russia

⁶Center of Hygiene and Epidemiology in Voronezh region, Russia

⁷Center of Hygiene and Epidemiology in Ulyanovsk region, Russia

⁸Center of Hygiene and Epidemiology in Perm region, Russia

⁹Center of Hygiene and Epidemiology in Khabarovsk region, Russia

Abstract

Relevance. Antibacterial drugs are widely used to treat and prevent infections of the upper and lower respiratory tract. The large-scale and unjustified use of antimicrobials to treat these infections has led to the emergence of resistance in most pathogens.

The aim. To study antimicrobial susceptibility testing to erythromycin and azithromycin of strains of *B. pertussis* isolated in Russia.

Materials & Methods. The research included 165 strains of *B. pertussis* isolated in January 2014 to June 2020. Antimicrobial susceptibility to erythromycin and azithromycin was determined by disk diffusion method and MIC test (HiMedia Laboratories Pvt. Limited, India). The A2047G mutation in the 23S rRNA gene was detected by PCR and subsequent sequencing. **Results.** Disk diffusion zone diameters for erythromycin in the studied strains ranged from 25 to 62 mm (median 44 mm) and disk diffusion zone diameters for azithromycin ranged from 22 to 80 mm (median 50 mm). Isolates with growth inhibition of more than 42 mm in diameter after 7 days of incubation were considered as susceptible. Among the studied strains, 57 (34.5%) were resistant to erythromycin and 23 (13.9%) to azithromycin. Then, MIC of erythromycin and MIC of azithromycin, respectively, were determined for these 57 and 23 strains using the MIC test. The comparison group included 79 isolates that were classified as sensitive to erythromycin (n = 31) and azithromycin (n=48) according to the results of the previous study. A MIC value of 0.12 µg/ml was considered as the cut-off for susceptible strains. All isolates were fully susceptible to erythromycin (MIC ≤ 0.01 µg/ml, median MIC 0.001 µg/ml) and azithromycin (MIC ≤ 0.01 µg/ml, median MIC 0.0001 µg/ml). An A-to-G mutation was not found at position 2047 in the 23S rRNA gene in 80 isolates that had a diameter of growth inhibition zone less than 42 mm. **Conclusion.** This study demonstrates no significant decrease in the susceptibility to erythromycin and azithromycin among *B. pertussis* strains isolated in Russia in 2014–2020. The studied *B. pertussis* strains exhibit a homozygous phenotype for macrolide resistance.

Keywords: whooping cough, *Bordetella pertussis*, antimicrobial susceptibility, erythromycin, azithromycin, disk diffusion method, gradient method, minimum inhibitory concentration, homozygous phenotype

No conflict of interest to declare.

For citation: Pimenova AS, Gadua NT, Andrievskaya IYu, et al. Antimicrobial susceptibility testing to erythromycin and azithromycin of clinical isolates of *Bordetella pertussis* circulating in Russia. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2024;23(3):27-37 (In Russ.). <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2024-23-3-27-37>

Введение

Антибактериальные препараты широко применяются для лечения и профилактики инфекций верхних и нижних дыхательных путей. Однако масштабное, длительное, а также необоснованное применение антимикробных препаратов для лечения этих инфекций привело к возникновению резистентности у большинства патогенных микроорганизмов. В связи с этим борьба с антибиотикорезистентностью стала с 2015 г. одной из основных глобальных стратегий Всемирной организации здравоохранения, так как устойчивость

к противомикробным препаратам ставит под угрозу эффективную профилактику и лечение растущего числа инфекций и представляет серьезную угрозу для мирового здравоохранения. Кроме того, распространение устойчивости микроорганизмов к антимикробным препаратам снижает эффективность лечения инфекционных болезней, удлиняет сроки выздоровления, приводит к инвалидности и смертельным исходам, а также способствует удорожанию медицинских услуг. В Российской Федерации разработана и принята «Стратегия предупреждения распространения антимикробной резистентности

* For correspondence: Borisova OI'ga Yu., Dr. Sci. (Med.), professor, head of laboratory of diagnostic of diphtheria and pertussis infections, G.N. Gabrichevsky Research Institute of Epidemiology and Microbiology, 10, Admiral Makarov str., Moscow, 125212, Russia. +7 (499) 747-64-84, +7 (916) 147-19-60, fax: +7 (495) 452-18-30, olgborisova@mail.ru. ©Pimenova AS, et al.

на период до 2030 г.», одним из направлений которой является мониторинг антибиотикочувствительности циркулирующих штаммов возбудителей инфекционных заболеваний и установление молекулярных механизмов резистентности.

Формирование устойчивости к антибактериальным препаратам происходит в результате естественного отбора посредством приобретения новой генетической информации или изменения уровня экспрессии собственных генов. Учитывая, что микроорганизмы способны переносить генетическую информацию путем горизонтального переноса генов, распространение резистентных штаммов становится одной из основных проблем современной медицинской микробиологии. Кроме того, нормальная микрофлора становится резервуаром генов, в том числе генов резистентности, которые могут передаваться патогенным микроорганизмам.

Существуют два известных механизма устойчивости к эритромицину: приобретение генов резистентности метилазы (*erm*), приводящих к высокому уровню устойчивости [1], и мутация в положении A2047G последовательности 23S rRNA, приводящая к структурным изменениям, препятствующим связыванию эритромицина (критический сайт связывания эритромицина) [2]. Более того, эти устойчивые к эритромицину изоляты также устойчивы и к другим макролидам [1,3]. Смещение в сторону A2058G-эквивалентной мутации объясняется более высокими показателями минимальной подавляющей концентрации (МПК), большей стабильностью мутации и лучшей способностью к деформации (более высокая скорость роста), по сравнению с другими 23S мутациями, которые придают устойчивость к макролидам [2].

В Российской Федерации, согласно клиническим рекомендациям (протокол лечения) оказания медицинской помощи детям больным коклюшем, макролиды являются антибиотиками первого выбора для лечения. Исследования чувствительности штаммов *B. pertussis* к антибиотикам в Советском Союзе впервые осуществлены в 1983 г. [4], когда приоритетными препаратами были тетрациклин в суточной дозе 25 мг/кг, доксициклин – 4 мг/кг и ампициллин – 100 мг/кг. Однако было отмечено, что в 30% случаев антибактериальные препараты не оказывали должного эффекта, а их применение производило токсический эффект на организм, особенно детей грудного возраста. В связи с этим с 1980-х гг. стало проводиться изучение чувствительности возбудителя коклюша к антибактериальным препаратам. Было установлено [4], что среди штаммов *B. pertussis*, выделенных в 1985–1989 гг., 12% штаммов оказались устойчивыми к тетрациклину в концентрации 2 мкг/мл, а 8% штаммов – к тетрациклину в концентрации 5 мкг/мл. В отношении стрептомицина 35% исследуемых штаммов оказались устойчивыми к концентрации 2 мкг/мл и 10% штаммов – к концентрации 5 мкг/мл.

На основании этого авторы сделали вывод, что за несколько десятилетий активного использования антибиотиков (тетрациклина и стрептомицина) возбудитель коклюша претерпел ряд изменений, способствующих появлению устойчивости штаммов к этим препаратам. В результате, руководствуясь «Инструкцией Минздрава СССР по применению препаратов тетрациклинового ряда от 27.10.1978 г.», было предложено несколько новых антибиотиков, прошедших клинические испытания, среди которых числился эритромицин. Исследования показали 100% антибиотикочувствительность штаммов *B. pertussis* к нему, и его признали самым эффективным препаратом для лечения коклюша, в том числе и у детей до 1 года. В течение последующих лет эритромицин считался приоритетным антибактериальным препаратом и широко использовался в медицинской практике, а начиная с 2000-х гг., в лечебных целях стали активно применять и азитромицин.

Поэтому, учитывая общемировую тенденцию распространения антибиотикорезистентности среди возбудителей инфекций верхних и нижних дыхательных путей, а также расширение туристических связей со странами, на территории которых циркулируют штаммы *B. pertussis* с высокой резистентностью к макролидам, представляется необходимым провести мониторинг антибиотикочувствительности изолятов *B. pertussis* в Российской Федерации.

Цель исследования – изучить антибиотикочувствительность циркулирующих на территории России штаммов возбудителя коклюша к эритромицину и азитромицину.

Материалы и методы

Материалом для исследования послужили 165 штаммов *B. pertussis*, выделенных в микробиологических лабораториях лечебно-профилактических организаций и Федеральных бюджетных учреждений здравоохранения «Центр гигиены и эпидемиологии» в субъектах Российской Федерации, которые были присланы в функционирующий на базе ФБУН МНИИЭМ им. Г. Н. Габричевского Роспотребнадзора Референс-центр по мониторингу за возбудителями кори, краснухи, эпидемического паротита, коклюша и дифтерии с января 2014 г. по июнь 2020 г. Клинические изоляты *B. pertussis* высеяны от пациентов с диагнозом «Коклюш», обследование которых проводилось с диагностической целью бактериологическим методом.

Культивирование штаммов *B. pertussis* осуществляли согласно методическим рекомендациям МР 3.1.2.0072-13 «Диагностика коклюша и паракоклюша». Исследуемый материал засеивали на чашки Петри с плотной питательной средой «Бордетеллагар» (Россия). Посевы инкубировали при температуре 37 °C в течение 72 ч. Идентификацию микроорганизмов проводили по культурально-морфологическим, тинкториальным и биохимическим свойствам.

Антибиотикочувствительность клинических изолятов *B. pertussis* определяли двумя методами: диско-диффузионным и градиентным с помощью МИК-теста. В эксперименте использовали коммерческие стандартизованные бумажные диски с азитромицином (15 мкг/диск) и с эритромицином (15 мкг/диск) «HiMedia Laboratories Pvt. Limited» (Индия). Для определения МПК применяли коммерческие стандартизованные полоски HiComb™ MIC test с градиентом концентраций антибиотика той же фирмы: азитромицин – полоска «А» с высокими концентрациями препарата (диапазон в мкг: 128–0.01; уровни в мкг: 128, 64, 32, 16, 8, 4, 0.1, 0.01) и полоска «В» с низкими концентрациями препарата (диапазон в мкг: 2 – 0.0001; уровни в мкг: 2, 1, 0.5, 0.1, 0.05, 0.01, 0.005, 0.0001), эритромицин – полоска «А» с высокими концентрациями препарата (диапазон в мкг: 240 – 0.01; уровни в мкг: 240, 120, 60, 30, 10, 5, 0.1, 0.01) и полоска «В» с низкими концентрациями препарата (диапазон в мкг: 4 – 0.001; уровни в мкг: 4, 2, 1, 0.5, 0.25, 0.1, 0.01, 0.001). В пробирку с 0,9% физиологическим раствором вносили исследуемую культуру *B. pertussis* и готовили инокулюм, соответствующий по плотности 0,5 по стандарту МакФарланда. Полученную суспензию наносили зондом из полистирола с вязким тампоном «COPAN» (Италия) на поверхность плотной питательной среды «Бордетелагар» (Россия) с добавлением 10% крови крупного рогатого скота, тщательно втирая штриховыми движениями. Аппликацию дисков проводили с помощью стерильного пинцета. Чашки Петри термостатировали при температуре 37 °C в течение 7 суток [12]. Диаметр зон задержки роста измеряли через 3, 5 и 7 дней инкубации штангенциркулем с точностью до 1 мм. При постановке МИК теста приготовление чашек Петри с плотной питательной средой и инокуляцию бактериальной суспензии осуществляли описанным выше способом. После полного впитывания инокулюма в агар на его поверхность помещали два вида полосок: тип «А» и тип «В». Затем термостатировали при температуре 37 °C в течение 72 ч. Результаты, полученные в ходе постановки МИК теста, анализировали с расчетом показателя МПК₅₀. В исследованиях по оценке антибиотикочувствительности в качестве контрольных использовали следующие типовые штаммы: *Bordetella pertussis* ATCC 9797, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 и *Haemophilus influenzae* ATCC 49247.

Выделение хромосомной ДНК из бактериальных клеток проводили кипячением, используя 72-часовую культуру *B. pertussis*. В 150 мкл деионизированной воды суспензировали полную микробиологическую петлю культуры. Полученную суспензию инкубировали 20 мин при 95 °C, после чего осаждали центрифугированием при 9600 g в течение 5 мин. Выделенную ДНК хранили в замороженном виде при минус 20 °C.

Амплификацию фрагментов гена 23S rRNA проводили согласно опубликованному протоколу [2] с использованием праймеров 1907U (5'-TTCTTGTGCGGTAAGTTCC-3') и 2408L (5'-GCGGTATCAGCCTGTATCC-3'). Детекцию продуктов амплификации осуществляли методом горизонтального электрофореза в агарозном геле в 50x TAE-буфере в камере «SUB-CELL® GT» (США) с применением источника питания «Power Supply Model 2002/2.0» (США). Продукты ПЦР смешивали с 6x «DNA Loading Dye» (США) и 10000x «SYBR Green I» (Германия), после чего образцы помещали в лунки 1,5% агарозного геля. Электрофорез проводили при напряжении 160 V в течение 60 мин. Продукты амплификации визуализировали с помощью геледокументирующей системы «Quantum-ST4-1100/26M» (Франция). Секвенирование продуктов ПЦР размером 521 п.н., фланкированных праймерами 1907U и 2408L, проводили на базе компании «Евроген» (Россия).

Постановку ПЦР с последующим анализом полиморфизма длины рестрикционных фрагментов (ПЦР-ПДРФ) осуществляли, следуя опубликованному протоколу [2], в соответствии с которым продукты амплификации длиной 521 п.н., полученные в ПЦР при использовании праймеров 1907U и 2408L, расщепляли при помощи эндонуклеазы рестрикции BbsI фирмы «Thermo Fisher Scientific» (США), после чего с целью детекции результатов проводили электрофорез в 2% агарозном геле при условиях, указанных ранее.

Мультиплексную аллель-специфическую ПЦР (МАС-ПЦР) выполняли согласно опубликованному протоколу [5] с использованием праймеров FP (5'-GTGATGGGTGCAAGCTCT-3'), RP (5'-TCTGGCGACTCGGTTCTGC-3'), MP (5'-ATCTACCCGCGGCTAGACAG-3'), WP (5'-ATCTACCCGCGGCTAGACAGA-3'). Детекцию продуктов амплификации осуществляли методом, описанным выше.

Результаты и обсуждение

Макролиды во всем мире используются для лечения и профилактики коклюша более 50 лет. Препаратами выбора являются эритромицин и азитромицин [6]. Первый случай выявления резистентного к эритромицину штамма *B. pertussis* зарегистрирован в Юме (штат Аризона) в 1994 г. [7]. В последующем резистентные штаммы возбудителя коклюша выделены в других регионах США, Франции, Таиланде, Иране и Вьетнаме [2,5,8, 9–12]. По данным исследователей из Китая [13–17], клинические изоляты *B. pertussis*, циркулировавшие в 1970-х и в 2000–2008 гг., были чувствительны к макролидам, в то время как 91,9% штаммов, выделенных в 2013–2014 гг., оказались устойчивыми к этим антибиотикам (МПК > 256 мкг/мл). Такой высокий уровень резистентности клинических изолятов в Китае объясняется широким использованием азитромицина для лечения инфекций верхних и нижних дыхательных путей, которое привело к «эндемичному» распространению мутации в последовательности 23S rRNA

[17]. При этом во многих странах мира штаммы *B. pertussis* по-прежнему чувствительны к эритромицину, например, в Великобритании, Австралии, Японии, Румынии, Канаде, Чехии, на Тайване, а также в некоторых регионах США [18–26].

Нами проведен скрининг антибиотикочувствительности клинических изолятов *B. pertussis*, циркулирующих на территории России в 2014–2020 гг. Чувствительность к эритромицину и азитромицину изучена у 165 штаммов, выделенных от больных коклюшем в различных регионах Российской Федерации: Москве, Челябинской, Новосибирской, Свердловской, Воронежской, Ульяновской областях, Пермском и Хабаровском краях, Ханты-Мансийском округе – Югре. Возрастная структура лиц, от которых были высеяны штаммы *B. pertussis*, представлена следующим образом: дети в возрасте до 1 года – 15 чел. (9,1%), дети в возрасте от 1 до 3 лет – 34 чел. (20,6%), дети 4–6 лет – 18 чел. (10,9%), дети 7–17 лет – 89 чел. (53,9%), взрослые – 9 чел. (5,5%).

В ходе эксперимента по определению чувствительности штаммов *B. pertussis* к антибактериальным препаратам группы макролидов диско-диффузионным методом было установлено, что диаметр зоны задержки роста к эритромицину у исследуемых изолятов варьировал в пределах 25–62 мм (нижний квартиль 38 мм, медиана 44 мм, верхний квартиль 48 мм). При этом диаметр зоны задержки роста к азитромицину у изучаемых штаммов колебался в пределах 22–80 мм (нижний квартиль 44 мм, медиана 50 мм, верхний квартиль 56 мм) (табл. 1).

До настоящего времени критерии оценки антибиотикочувствительности непосредственно штаммов

B. pertussis к макролидам не разработаны ни Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), ни European Committee on Antimicrobial Susceptibility Test (EUCAST) [27,28]. Поэтому на этапе интерпретации результатов мы ориентировались на работы зарубежных авторов, которые проводят скрининговые исследования антибиотикочувствительности циркулирующих штаммов *B. pertussis* [2,7–9,12,29,30]. Согласно опубликованным протоколам [2,7,8,29], наличие зоны задержки роста диаметром ≥ 42 мм после 7 дней инкубации свидетельствует о чувствительности изучаемого штамма к эритромицину и азитромицину. На основании вышеуказанного критерия было установлено, что среди исследованных клинических изолятов 57 (34,5%) штаммов *B. pertussis* оказались резистентными к эритромицину и 23 (13,9%) штамма – к азитромицину. Также определено, что все штаммы *B. pertussis*, вошедшие в эксперимент, проявляли гомозиготный фенотип.

Нами проанализирована антибиотикочувствительность изолятов *B. pertussis* к эритромицину и азитромицину в течение исследуемого периода (табл. 1). Установлено, что диаметр зоны задержки роста у штаммов *B. pertussis* с 2014 г. по 2020 г. колебался в одних и тех же пределах с незначительными отклонениями.

Далее нами проведено исследование по установлению МПК эритромицина и азитромицина для клинических изолятов *B. pertussis* с помощью МИК-теста. В эксперимент включены штаммы, у которых при определении чувствительности к выше указанным антибактериальным препаратам диско-диффузионным методом была зафиксирована зона задержки роста диаметром < 42 мм. В группу

Таблица 1. Результаты определения чувствительности штаммов *B. pertussis*, выделенных на территории России, к эритромицину и азитромицину диско-диффузионным методом
Table 1. The results of determination the sensitivity of *B. pertussis* strains isolated in Russia to erythromycin and azithromycin by disk diffusion method

Год Year	Число штаммов Number of strains	Диаметр зоны задержки роста к эритромицину у штаммов <i>B. pertussis</i> , мм Disk diffusion zone diameters for erythromycin in the studied <i>B. pertussis</i> strains, mm				Диаметр зоны задержки роста к азитромицину у штаммов <i>B. pertussis</i> , мм Disk diffusion zone diameters for azithromycin in the studied <i>B. pertussis</i> strains, mm			
		Интервал значений Range of values	Q ₁	Me	Q ₃	Интервал значений Range of values	Q ₁	Me	Q ₃
2014	9	43–54	48	49	52	44–60	50	51	55
2015	8	38–48	39	42,5	44	42 – 60	43,5	44,5	51,2
2016	26	25 - 54	34	40,5	46	22 – 62	42	45,5	51
2017	28	26–50	35	39	44	34–60	40,5	43,5	48,2
2018	41	29–58	39	45	47	33–71	44	50	55
2019	14	41–62	42	45	51	42–80	48	53	60
2020	39	29–58	42	45	50	40–70	49,5	56	61,5
2014 – 2020	165	25–62	38	44	48	22–80	44	50	56

сравнения вошли изоляты *B. pertussis*, относящиеся по результатам предыдущего исследования к категории чувствительных. Значение МПК равное 0,12 мкг/мл, рассматривалось в качестве порогового значения (cut-off) для антибиотикочувствительности штаммов [2,7,8,12,29,30] (рис. 1).

МПК эритромицина и МПК азитромицина для изученных клинических изолятов *B. pertussis* находились в пределах 0,01–0,001 мкг/мл и 0,01–0,0001 мкг/мл соответственно, и, согласно опубликованным протоколам [2,7,8,12,29,30], все исследованные штаммы оказались чувствительными к этим антибиотикам (табл. 2).

Для 32 (56,1%) штаммов *B. pertussis*, которые имели зону задержки роста диаметром < 42 мм, МПК эритромицина составила 0,01 мкг/мл, а для 25 (43,9%) штаммов – 0,001 мкг/мл. Для вошедших в группу сравнения 31 штаммов *B. pertussis*, которые имели зону задержки роста диаметром ≥ 42 мм, были получены противоположные результаты. Для большинства (23, 71,3%) таких штаммов МПК эритромицина была 0,001 мкг/мл и для 8 (28,1%) штаммов – 0,01 мкг/мл. В отношении азитромицина для изолятов *B. pertussis*, которые имели зону задержки роста диаметром < 42 мм, значения МПК распределились следующим образом: для 1 (4,3%) штамма МПК составила 0,01 мкг/мл, для 9 (39,1%) – 0,005 мкг/мл и для 13 (56,5%) – 0,0001 мкг/мл. Также в качестве сравнения были изучены МПК азитромицина для 48 штаммов *B. pertussis*, которые имели зону задержки роста диаметром ≥ 42 мм, и получены противоположные результаты. Так, для большинства (34,

71,3%) таких штаммов МПК азитромицина составила 0,0001 мкг/мл, для 10 (23,8%) штаммов – 0,005 мкг/мл и для 4 (4,9%) – 0,01 мкг/мл. При расчете МПК₅₀ эритромицина и МПК₅₀ азитромицина для изученных штаммов *B. pertussis* были установлены значения равные 0,006 мкг/мл и 0,0059 мкг/мл соответственно.

Также проведен анализ динамики значений МПК макролидов в течение исследуемого периода для клинических изолятов *B. pertussis*. Выявлено, что значения МПК эритромицина сохранялись практически на одинаковом уровне (табл. 3). При этом отмечается незначительная тенденция роста МПК азитромицина с 0,001 мкг/мл в 2014 г. до 0,004 мкг/мл в 2020 г. (см. табл. 3).

Аналогичные исследования, проведенные в других странах (США, Великобритании, Австралии, Китае) [8,16,19,24,29], продемонстрировали более выраженную динамику снижения чувствительности циркулирующих штаммов *B. pertussis* к эритромицину и азитромицину (табл. 4).

Высокий уровень резистентности к эритромицину у клинических изолятов *B. pertussis* объясняется наличием мутации в позиции A2047G последовательности 23S *rRNA* [2,10,15–17]. При этом у резистентного штамма *B. pertussis*, выделенного в Иране [9], не были обнаружены мутации в гене 23S *rRNA*, что, по мнению авторов, свидетельствует о возможном наличии других молекулярных механизмов резистентности.

С целью выявления мутации A2047G в гене 23S *rRNA* у изолятов *B. pertussis*, которые имели зону задержки роста диаметром < 42 мм, нами

Рисунок 1. Определение значений МПК эритромицина (А) и азитромицина (Б), задерживающей видимый рост бактериальных культур *B. pertussis*, градиентным методом с помощью МИК теста

Figure 1. Determination of MIC values of erythromycin (A) and MIC values of azithromycin (B) for the studied *B. pertussis* strains using the MIC test

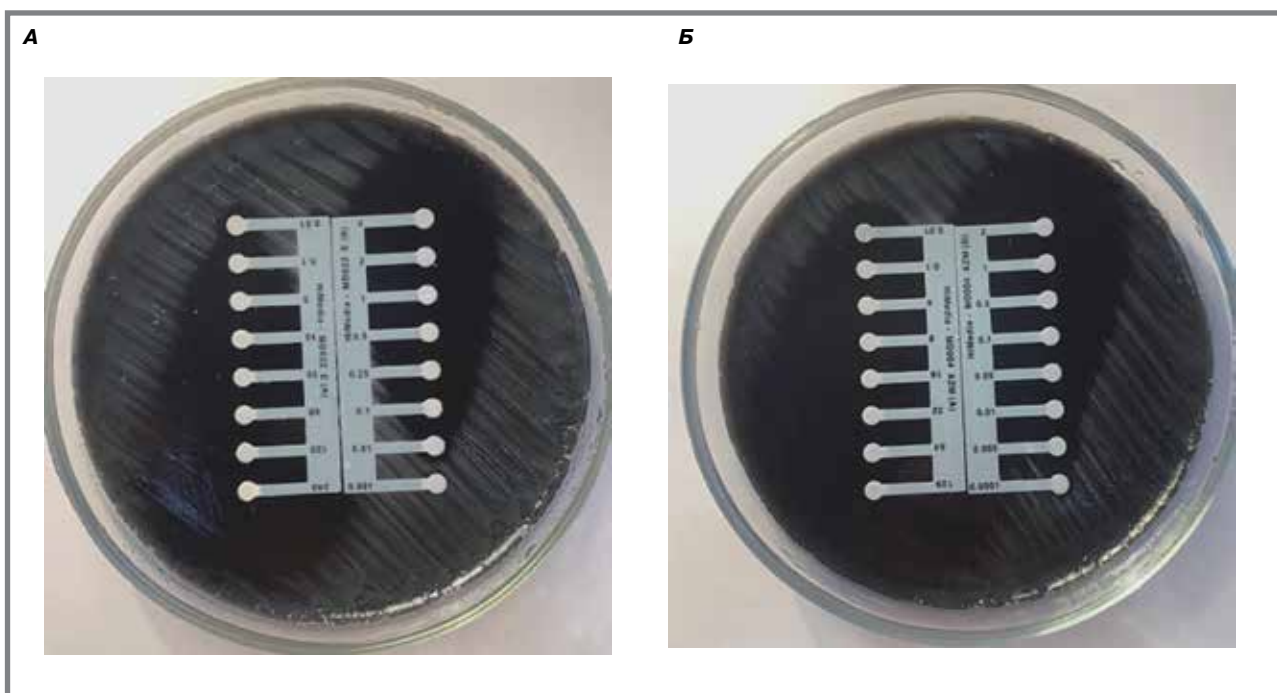


Таблица 2. Результаты определения значений МПК эритромицина и МПК азитромицина для штаммов *B. pertussis* градиентным методом с помощью МИК теста

Table 2. The results of determination of MIC values of erythromycin and MIC values of azithromycin for *B. pertussis* strains isolated in Russia using the MIC test

Категория резистентных к эритромицину штаммов <i>B. pertussis</i> * Erythromycin-resistant strains of <i>B. pertussis</i> *			Категория чувствительных к эритромицину штаммов <i>B. pertussis</i> * Erythromycin-sensitive strains of <i>B. pertussis</i> *		
Всего изучено штаммов Total strains studied	Установленные значения МПК эритромицина для изученных штаммов MIC values of erythromycin for the studied strains		Всего изучено штаммов Total strains studied	Установленные значения МПК эритромицина для изученных штаммов MIC values of erythromycin for the studied strains	
	0,01 мкг/мл mcg/ml	0,001 мкг/мл mcg/ml		0,01 мкг/мл mcg/ml	0,001 мкг/мл mcg/ml
57	32	25	31	8	23

Категория резистентных к азитромицину штаммов <i>B. pertussis</i> * Azithromycin-resistant strains of <i>B. pertussis</i> *				Категория чувствительных к азитромицину штаммов <i>B. pertussis</i> * Azithromycin-sensitive strains of <i>B. pertussis</i> *			
Всего изучено штаммов Total strains studied	Установленные значения МПК азитромицина для изученных штаммов MIC values of azithromycin for the studied strains			Всего изучено штаммов Total strains studied	Установленные значения МПК азитромицина для изученных штаммов MIC values of azithromycin for the studied strains		
	0,01 мкг/мл mcg/ml	0,005 мкг/мл mcg/ml	0,0001 мкг/мл mcg/ml		0,01 мкг/мл mcg/ml	0,005 мкг/мл mcg/ml	0,0001 мкг/мл mcg/ml
23	1	9	13	48	4	10	34

Примечание: *результаты получены в ходе исследования по определению чувствительности штаммов *B. pertussis* к антибактериальным препаратам группы макролидов диско-диффузионным методом
 Note: *the results were obtained in the course of a study to determine the sensitivity of *B. pertussis* strains to antibacterial drugs of the macrolide group by the disk diffusion method

Таблица 3. Значения МПК эритромицина и МПК азитромицина для штаммов *B. pertussis*, выделенных на территории России

Table 3. MIC values of erythromycin and MIC values of azithromycin for *B. pertussis* strains isolated in Russia

Год Year	МПК эритромицина для штаммов <i>B. pertussis</i> , мкг/мл MIC value of erythromycin for <i>B. pertussis</i> strains, mcg/ml		МПК азитромицина для штаммов <i>B. pertussis</i> , мкг/мл MIC value of azithromycin for <i>B. pertussis</i> strains, mcg/ml	
	Число изученных штаммов Number of strains studied	Среднее арифметическое Arithmetic mean	Число изученных штаммов Number of strains studied	Среднее арифметическое Arithmetic mean
2014	—*	—*	—*	—*
2015	5	0,005	5	0,001
2016	17	0,004	12	0,002
2017	22	0,007	19	0,002
2018	23	0,005	18	0,004
2019	13	0,003	13	0,0005
2020	8	0,006	4	0,004
2014 – 2020	88	0,005	71	0,002

Примечание: *выделенные в 2014 г. штаммы *B. pertussis* исключены из эксперимента, так как у всех 9 изолятов на этапе определения чувствительности к эритромицину и азитромицину диско-диффузионным методом была зафиксирована зона задержки роста диаметром ≥ 42 мм (см. табл. 1)

Note: *strains of *B. pertussis* isolated in 2014 were excluded from the experiment, since in all 9 isolates were considered as susceptible to erythromycin and azithromycin by the disk diffusion method (table 1)

Original Articles

Таблица 4. Динамика изменения значений МПК макролидов для штаммов *B. pertussis* в некоторых странах мира
Table 4. Dynamics of changes in MIC values of macrolides for *B. pertussis* strains in some countries of the world

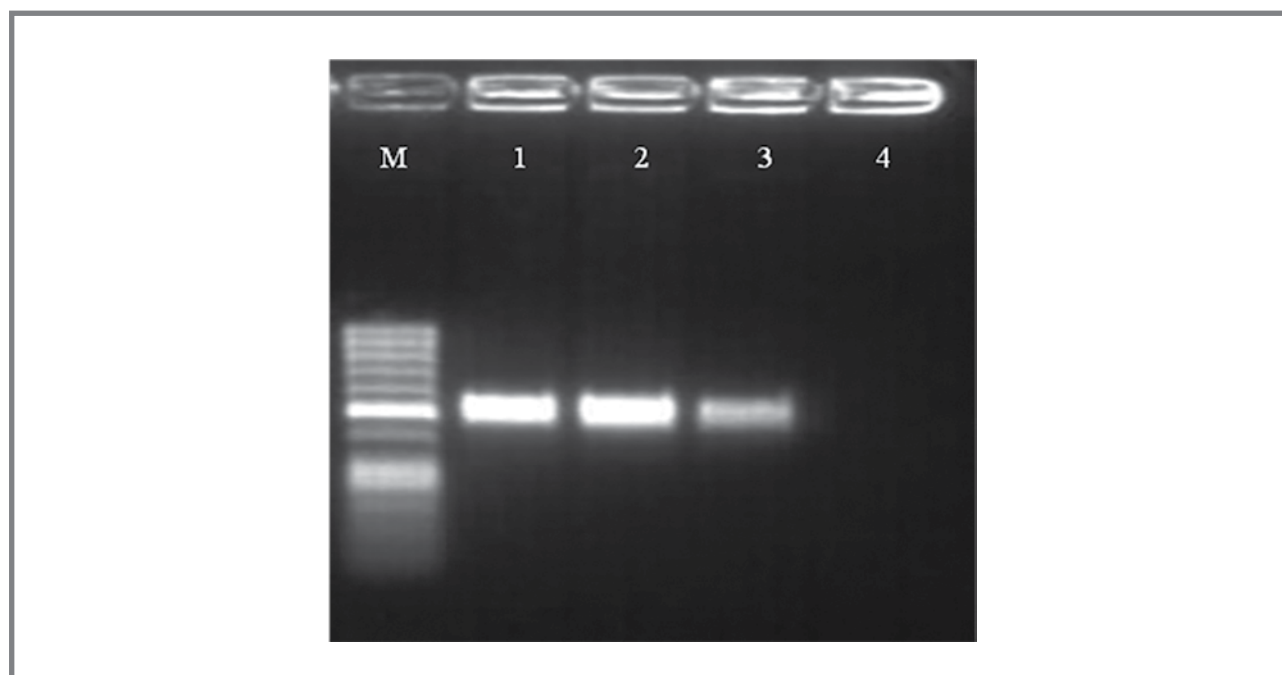
Страны мира Countries of the world	МПК макролидов, мкг/мл MIC values of macrolides, mcg/ml		
	1960–1989 гг.	1990–2000 гг.	2005 - 2019 гг.
Великобритания [19] United Kingdom	–	≤ 0,064	≤ 0,125
Китай [16] China	0,064–0,25	0,047–0,125	0,064 – ≥ 256
США [8,20,29] USA	≤ 0,06	≤ 0,016–0,094	≤ 0,016–0,19
Тайвань [26] Taiwan	–	–	≤ 0,016
Австралия [24] Australia	≤ 0,032	≤ 0,032	≤ 0,047
Япония [21] Japan	–	–	≤ 0,023
Чехия [22] Czech Republic	0,03–0,125	0,06–0,125	0,06–0,125

проведена амплификация и секвенирование фрагмента этого гена длиной 521 п.н. Полученные последовательности были сопоставлены с опубликованной в GenBank последовательностью резистентного штамма *B. pertussis* (X68323). У всех изученных клинических изолятов мутации в позиции A2047G последовательности 23S rRNA не обнаружено.

В качестве дополнительного метода был использован ПЦР-ПДРФ, основанный на том, что

замена в A2047G у устойчивых к эритромицину изолятов *B. pertussis* приводит к добавлению сайта рестрикции BbsI. В результате исследования у контрольного эритромицин-устойчивого штамма *B. pertussis* получили ожидаемые продукты в 128 п.н. и 393 п.н., что свидетельствует о наличии мутации в позиции A2047G. У всех изученных клинических изолятов *B. pertussis* после ПЦР-ПДРФ был выявлен фрагмент в 521 п.н. Это свидетельствует о том, что расщепление нуклеиновой

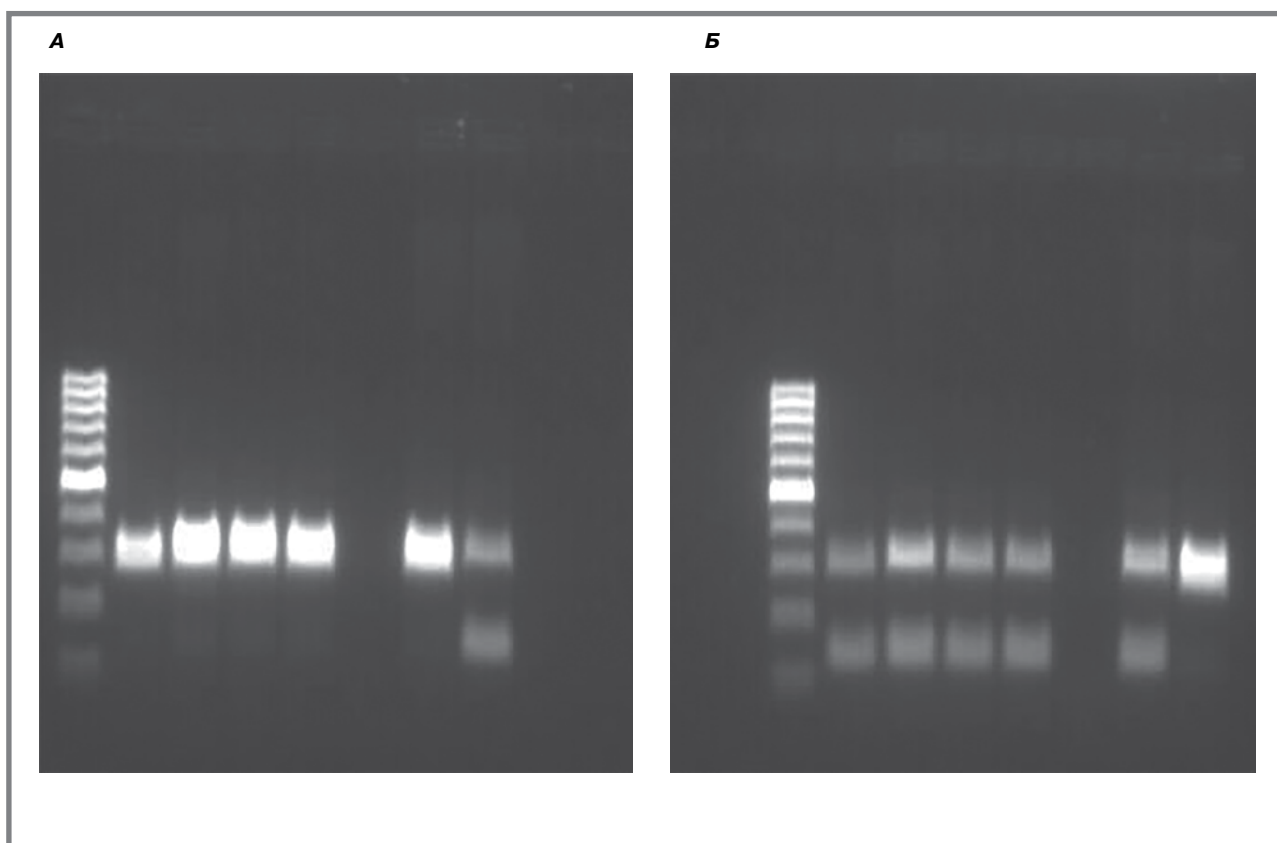
Рисунок 2. Фореграмма результатов МАС-ПЦР
Figure 2. Electropherogram of PCR-RFLP results



Примечание: М – маркер молекулярных весов ДНК GeneRuler 50 bp DNA Ladder; 1–3 – штаммы *B. pertussis*, выделенные от пациентов при обследовании с диагностической целью; 4 – отрицательный контроль амплификации (ПЦР-смесь)

Note: M – GeneRuler 50 bp DNA Ladder; 1–3 – *B. pertussis* strains isolated from patients; 4 – negative amplification control

Рисунок 3. Фореграмма результатов МАС-ПЦР с праймерами FP-RP и MP-RP (А) и FP-RP и WP-RP (Б)
Figure 3. Electropherogram of MAS-PCR results with primers FP-RP and MP-RP (A) and FP-RP and WP-RP (B)



Примечание: М – маркер молекулярных весов ДНК GeneRuler 100 bp DNA Ladder; 1 – 4 – штаммы *B. pertussis*, выделенные от пациентов при обследовании с диагностической целью; 5 – отрицательный контроль амплификации (ПЦР-смесь); 6 – положительный контроль амплификации (ДНК типового штамма *B. pertussis* № 143, чувствительного к антимикробным препаратам группы макролидов); 7 – положительный контроль амплификации (ДНК типового штамма *B. pertussis* ATCC 9797, резистентного к антимикробным препаратам группы макролидов)
 Note: M – GeneRuler 100 bp DNA Ladder; 1 – 4 – *B. pertussis* strains isolated from patients; 5 – negative amplification control; 6 – positive amplification control (DNA of macrolide-sensitive strain of *B. pertussis* № 143); 7 – positive amplification control (DNA of macrolide-resistant strain of *B. pertussis* ATCC 9797)

кислоты рестриктазой BbsI не произошло и, следовательно, отсутствует данная мутация (рис. 2).

В качестве альтернативного метода для выявления мутации A2047G в гене 23S *rRNA* нами проведена МАС-ПЦР с двумя парами праймеров: FP-RP и MP-RP; FP-RP и WP-RP. Праймер MP комплементарен 2047G последовательности 23S *rRNA*, что характерно для нуклеотидной последовательности резистентного к эритромицину штамма *B. pertussis*, в то время как праймер WP комплементарен A2047 последовательности 23S *rRNA*, что присуще нуклеотидной последовательности чувствительного к эритромицину штамма *B. pertussis*. При постановке МАС-ПЦР с парами праймеров FP-RP и MP-RP (рис. 3) у чувствительных штаммов *B. pertussis* выявляется только один фрагмент длиной 286 п.н., при этом у резистентных штаммов с мутацией в позиции A2047G дополнительно идентифицируется фрагмент размером 121 п.н. При проведении МАС-ПЦР с парами праймеров FP-RP и WP-RP (рис. 3) у чувствительных штаммов идентифицируются два фрагмента длиной 286 п.н. и 121 п.н., а у резистентных штаммов – один фрагмент размером

286 п.н. Выполненное исследование показало, что у всех изученных штаммов *B. pertussis* отсутствует мутация в данной позиции.

Выводы

Проведенное исследование показало, что в настоящее время штаммы *B. pertussis*, выделенные в России, сохраняют свою чувствительность *in vitro* к эритромицину и азитромицину. Все изученные клинические изоляты проявляли гомозиготный фенотип с отсутствием мутации в позиции A2047G последовательности 23S *rRNA*. Однако можно говорить о том, что намечается тенденция к снижению чувствительности *in vitro* циркулирующих штаммов *B. pertussis* к азитромицину.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что необходимо определить критерии оценки антибиотикочувствительности штаммов *B. pertussis* с помощью диско-диффузионного метода и использовать его только в качестве скринингового метода при мониторинге за возбудителем коклюша с обязательной последующей оценкой МПК антибиотиков.

Литература

1. Pechere J.C. Macrolide resistance mechanisms in Gram-positive cocci // *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2001. Vol. 18. Suppl. 1. P. 25–28.
2. Bartkus J.M., Juni B.A., Ehresmann K., et al. Identification of a mutation associated with erythromycin resistance in *Bordetella pertussis*: implications for surveillance of antimicrobial resistance // *Journal of Clinical Microbiology*. 2003. Vol. 41, № 3. P. 1167–1172.
3. Menninger J.R. Functional consequences of binding macrolides to ribosomes // *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 1985. Vol. 16. Suppl. A. P. 23–34.
4. Бакулина Н. А., Ефимова О. Г., Высотский В. В. и др. Ультраструктура свежeweделенных штаммов *B. pertussis*. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 1984. Т. 61, № 11. С. 24–26.
5. Wang Z., Han R., Liu Y., et al. Direct detection of erythromycin-resistant *Bordetella pertussis* in clinical specimens by PCR. *Journal of Clinical Microbiology*. 2015. Vol. 53, № 11. P. 3418–3422.
6. Waters V., Halperin S.A. *Bordetella pertussis*. In: Bennett J.E., Dolin R., Blaser M.J., editors. *Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practice of infectious diseases*. 8th edition. Philadelphia: Elsevier Science; 2014. P. 2619–2628.
7. Lewis K., Saubolle M.A., Tenover F.C., et al. Pertussis caused by an erythromycin-resistant strain of *Bordetella pertussis*. *The Pediatric Infectious Disease Journal*. 1995. Vol. 14, № 5. P. 388–391.
8. Korgenski K., Daly J.A. Surveillance and detection of erythromycin resistance in *Bordetella pertussis* isolates recovered from a pediatric population in the Intermountain West Region of the United States. *Journal of Clinical Microbiology*. 1997. Vol. 35, № 11. P. 2989–2991.
9. Mirzaei B., Bameri Z., Babaei R., et al. Isolation of high level macrolide resistant *Bordetella pertussis* without transition mutation at domain V in Iran. *Jundishapur Journal of Microbiology*. 2015. Vol. 8, № 7. P. e18190.
10. Guillot S., Descours G., Gillet Y., et al. Macrolide resistant *Bordetella pertussis* infection in newborn girl, France. *Emerging Infectious Diseases*. 2012. Vol. 18, № 6. P. 966–968.
11. Kamachi K., Duong H.T., Dang A.D., et al. Macrolide-resistant *Bordetella pertussis*, Vietnam, 2016–2017. *Emerging Infectious Diseases*. 2020. Vol. 26, № 10. P. 2511–2513.
12. Wilson K.E., Cassidy P.K., Popovic T., et al. *Bordetella pertussis* isolates with a heterogeneous phenotype for erythromycin resistance. *Journal of Clinical Microbiology*. 2002. Vol. 40, № 8. P. 2942–2944.
13. Xu Z., Wang Z., Luan Y., et al. Genomic epidemiology of erythromycin-resistant *Bordetella pertussis* in China. *Emerging Microbes & Infections*. 2019. Vol. 8, № 1. P. 461–470.
14. Li L., Deng J., Ma X., et al. High prevalence of macrolide-resistant *Bordetella pertussis* and *ptxP1* genotype, mainland China, 2014–2016. *Emerging Infectious Diseases*. 2019. Vol. 25, № 12. P. 2205–2214.
15. Wang Z., Cui Z., Li Y., et al. High prevalence of erythromycin-resistant *Bordetella pertussis* in Xi'an, China. *Clinical Microbiology and Infection*. 2014. Vol. 20, № 11. P. O825–O830.
16. Yang Y., Yao K., Ma X., et al. Variation in *Bordetella pertussis* susceptibility to erythromycin and virulence-related genotype changes in China (1970–2014). *PLoS One*. 2015. Vol. 10, № 9. P. e0138941.
17. Feng Y., Chiu C.H., Heininger U., et al. Emerging macrolide resistance in *Bordetella pertussis* in mainland China: findings and warning from the global pertussis initiative. *The Lancet regional health. Western Pacific*. 2021. Vol. 8. P. 100098.
18. Dinu S., Guillot S., Dragomirescu C.C., et al. Whooping cough in South-East Romania: a 1-year study. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. 2014. Vol. 78, № 3. P. 302–306.
19. Fry N.K., Duncan J., Vaghji L., et al. Antimicrobial susceptibility testing of historical and recent clinical isolates of *Bordetella pertussis* in the United Kingdom using the Etest method. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*. 2010. Vol. 29, № 9. P. 1183–1185.
20. Galanakis E., Englund J.A., Abe P., et al. Antimicrobial susceptibility of *Bordetella pertussis* isolates in the state of Washington. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2007. Vol. 29, № 5. P. 609–611.
21. Horiba K., Nishimura N., Gotoh K., et al. Clinical manifestations of children with microbiologically confirmed pertussis infection and antimicrobial susceptibility of isolated strains in a regional hospital in Japan, 2008–2012. *Japanese Journal of Infectious Diseases*. 2014. Vol. 67, № 5. P. 345–348.
22. Jakubu V., Zavadilova J., Fabianova K., et al. Trends in the minimum inhibitory concentrations of erythromycin, clarithromycin, azithromycin, ciprofloxacin, and trimethoprim / sulfamethoxazole for strains of *Bordetella pertussis* isolated in the Czech Republic in 1967–2015. *Central European Journal of Public Health*. 2017. Vol. 25, № 4. P. 282–286.
23. Marchand-Austin A., Memari N., Patel S.N., et al. Surveillance of antimicrobial resistance in contemporary clinical isolates of *Bordetella pertussis* in Ontario, Canada. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2014. Vol. 44, № 1. P. 82–84.
24. Sintchenko V., Brown M., Gilbert G.L. Is *Bordetella pertussis* susceptibility to erythromycin changing? MIC trends among Australian isolates 1971–2006. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2007. Vol. 60, № 5. P. 1178–1179.
25. Souder E., Vodzak J., Evangelista A.T., et al. Antimicrobial susceptibility and molecular detection of pertactin-producing and pertactin-deficient *Bordetella pertussis*. *The Pediatric Infectious Disease Journal*. 2017. Vol. 36, № 1. P. 119–121.
26. Yao S.M., Liaw G.J., Chen Y.Y., et al. Antimicrobial susceptibility testing of *Bordetella pertussis* in Taiwan prompted by a case of pertussis in a paediatric patient. *Journal of Medical Microbiology*. 2008. Vol. 57, Pt. 12. P. 1577–1580.
27. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, 31st edition. USA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2021.
28. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Routine and extended internal quality control for MIC determination and disk diffusion as recommended by EUCAST, Version 11.0. Basel: EUCAST; 2021.
29. Hill B.C., Baker C.N., Tenover F.C. A simplified method for testing *Bordetella pertussis* for resistance to erythromycin and other antimicrobial agents. *Journal of Clinical Microbiology*. 2000. Vol. 38, № 3. P. 1151–1155.
30. Gordon K.A., Fusco J., Biedenbach D.J., et al. Antimicrobial susceptibility testing of clinical isolates of *Bordetella pertussis* from northern California: report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2001. Vol. 45, № 12. P. 3599–3600.

References

1. Pechere J.C. Macrolide resistance mechanisms in Gram-positive cocci. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2001;18(Suppl 1):25–8. doi: 10.1016/s0924-8579(01)00407-1.
2. Bartkus JM, Juni BA, Ehresmann K, et al. Identification of a mutation associated with erythromycin resistance in *Bordetella pertussis*: implications for surveillance of antimicrobial resistance. *Journal of Clinical Microbiology*. 2003;41(3):1167–72. doi: 10.1128/JCM.41.3.1167-1172.2003.
3. Menninger JR. Functional consequences of binding macrolides to ribosomes. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 1985;16(Suppl A):23–34. doi: 10.1093/jac/16.suppl_a.23.
4. Bakulina NA, Efimova OG, Vysotskiy VV, et al. Ultrastructure of clinical isolates of *B. pertussis*. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 1984;61(11):24–6 (In Russ.).
5. Wang Z, Han R, Liu Y, et al. Direct Detection of erythromycin-resistant *Bordetella pertussis* in clinical specimens by PCR. *Journal of Clinical Microbiology*. 2015;53(11):3418–22. doi: 10.1128/JCM.01499-15.
6. Waters V, Halperin SA. *Bordetella pertussis*. In: Bennett JE, Dolin R, Blaser MJ, editors. *Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practice of infectious diseases*. 8th edition. Philadelphia: Elsevier Science; 2014. P. 2619–28.
7. Lewis K, Saubolle MA, Tenover FC, et al. Pertussis caused by an erythromycin-resistant strain of *Bordetella pertussis*. *The Pediatric Infectious Disease Journal*. 1995;14(5):388–91. doi: 10.1097/00006454-199505000-00010.
8. Korgenski K, Daly JA. Surveillance and detection of erythromycin resistance in *Bordetella pertussis* isolates recovered from a pediatric population in the Intermountain West Region of the United States. *Journal of Clinical Microbiology*. 1997;35(11):2989–91. doi: 10.1128/jcm.35.11.2989-2991.1997.
9. Mirzaei B, Bameri Z, Babaei R, et al. Isolation of high level macrolide resistant *Bordetella pertussis* without transition mutation at domain V in Iran. *Jundishapur Journal of Microbiology*. 2015;8(7):e18190. doi: 10.5812/jjm.8(5)2015.18190.
10. Guillot S, Descours G, Gillet Y, et al. Macrolide resistant *Bordetella pertussis* infection in newborn girl, France. *Emerging Infectious Diseases*. 2012;18(6):966–8. doi: 10.3201/eid1806.120091.
11. Kamachi K, Duong HT, Dang AD, et al. Macrolide-resistant *Bordetella pertussis*, Vietnam, 2016–2017. *Emerging Infectious Diseases*. 2020;26(10):2511–13. doi: 10.3201/eid2610.201035.
12. Wilson KE, Cassidy PK, Popovic T, et al. *Bordetella pertussis* isolates with a heterogeneous phenotype for erythromycin resistance. *Journal of Clinical Microbiology*. 2002;40(8):2942–4. doi: 10.1128/JCM.40.8.2942-2944.2002.
13. Xu Z, Wang Z, Luan Y, et al. Genomic epidemiology of erythromycin-resistant *Bordetella pertussis* in China. *Emerging Microbes & Infections*. 2019;8(1):461–70. doi: 10.1080/22221751.2019.1587315.
14. Li L, Deng J, Ma X, et al. High prevalence of macrolide-resistant *Bordetella pertussis* and *ptxP1* genotype, mainland China, 2014–2016. *Emerging Infectious Diseases*. 2019;25(12):2205–14. doi: 10.3201/eid2512.181836.
15. Wang Z, Cui Z, Li Y, et al. High prevalence of erythromycin-resistant *Bordetella pertussis* in Xi'an, China. *Clinical Microbiology and Infection*. 2014;20(11):O825–30. doi: 10.1111/1469-0691.12671.
16. Yang Y, Yao K, Ma X, et al. Variation in *Bordetella pertussis* susceptibility to erythromycin and virulence-related genotype changes in China (1970–2014). *PLoS One*. 2015;10(9):e0138941. doi: 10.1371/journal.pone.0138941.
17. Feng Y, Chiu CH, Heininger U, et al. Emerging macrolide resistance in *Bordetella pertussis* in mainland China: findings and warning from the global pertussis initiative. *The Lancet regional health. Western Pacific*. 2021;8:100098. doi: 10.1016/j.lanwpc.2021.100098.
18. Dinu S, Guillot S, Dragomirescu CC, et al. Whooping cough in South-East Romania: a 1-year study. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. 2014;78(3):302–6. doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2013.09.017.
19. Fry NK, Duncan J, Vaghji L, et al. Antimicrobial susceptibility testing of historical and recent clinical isolates of *Bordetella pertussis* in the United Kingdom using the Etest method. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*. 2010;29(9):1183–5. doi: 10.1007/s10096-010-0976-1.
20. Galanakis E, Englund JA, Abe P, et al. Antimicrobial susceptibility of *Bordetella pertussis* isolates in the state of Washington. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2007;29(5):609–11. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2006.11.024.
21. Horiba K, Nishimura N, Gotoh K, et al. Clinical manifestations of children with microbiologically confirmed pertussis infection and antimicrobial susceptibility of isolated strains in a regional hospital in Japan, 2008–2012. *Japanese Journal of Infectious Diseases*. 2014;67(5):345–8.
22. Jakubu V, Zavadilova J, Fabianova K, et al. Trends in the minimum inhibitory concentrations of erythromycin, clarithromycin, azithromycin, ciprofloxacin, and trimethoprim / sulfamethoxazole for strains of *Bordetella pertussis* isolated in the Czech Republic in 1967–2015. *Central European Journal of Public Health*. 2017;25(4):282–6. doi: 10.21101/cejph.a4948.

23. Marchand-Austin A, Memari N, Patel SN, et al. Surveillance of antimicrobial resistance in contemporary clinical isolates of *Bordetella pertussis* in Ontario, Canada. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2014;44(1):82–4. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2014.04.001.
24. Sintchenko V, Brown M, Gilbert GL. Is *Bordetella pertussis* susceptibility to erythromycin changing? MIC trends among Australian isolates 1971–2006. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2007;60(5):1178–9. doi: 10.1093/jac/dkm343.
25. Souder E, Vodzak J, Evangelista AT, et al. Antimicrobial susceptibility and molecular detection of pertactin-producing and pertactin-deficient *Bordetella pertussis*. *The Pediatric Infectious Disease Journal*. 2017;36(1):119–21. doi: 10.1097/INF.0000000000001366.
26. Yao SM, Liaw GJ, Chen YY, et al. Antimicrobial susceptibility testing of *Bordetella pertussis* in Taiwan prompted by a case of pertussis in a paediatric patient. *Journal of Medical Microbiology*. 2008;57(Pt 12):1577–80. doi: 10.1099/jmm.0.2008/002857-0.
27. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, 31st edition. USA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2021.
28. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Routine and extended internal quality control for MIC determination and disk diffusion as recommended by EUCAST; Version 11.0. Basel: EUCAST; 2021.
29. Hill BC, Baker CN, Tenover FC. A simplified method for testing *Bordetella pertussis* for resistance to erythromycin and other antimicrobial agents. *Journal of Clinical Microbiology*. 2000;38(3):1151–5. doi: 10.1128/JCM.38.3.1151-1155.2000.
30. Gordon KA, Fusco J, Biedenbach DJ, et al. Antimicrobial susceptibility testing of clinical isolates of *Bordetella pertussis* from northern California: report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2001;45(12):3599–600. doi: 10.1128/AAC.45.12.3599-3600.2001.

Об авторах

- **Алена Сергеевна Пименова** – к. м. н., ведущий научный сотрудник лаборатории диагностики дифтерийной и коклюшной инфекций, ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора. +7 (499) 747-64-84, alenaa_85@mail.ru. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-6914-3531>.
- **Натия Торникеевна Гадуа** – к. м. н., ведущий научный сотрудник лаборатории диагностики дифтерийной и коклюшной инфекций, ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора. +7 (499) 747-64-84, 8nati8@mail.ru. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-6247-6176>.
- **Ирина Юрьевна Андриевская** – научный сотрудник лаборатории диагностики дифтерийной и коклюшной инфекций, ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора. +7 (499) 747-64-84, andrievskaya.iri@mail.ru. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-2997-942X>.
- **Ольга Юрьевна Борисова** – д. м. н., профессор, руководитель лаборатории диагностики дифтерийной и коклюшной инфекций ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора. +7 (499) 747-64-84, olgaborisova@mail.ru. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-6316-5046>.
- **Марина Семеновна Петрова** – к. м. н., ведущий научный сотрудник клинического отдела ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора. +7 (495) 459-18-16, gabrich@mail.ru. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-6065-2623>.
- **Анастасия Борисовна Борисова** – к. м. н., младший научный сотрудник клинического отдела ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора. +7 (917) 592-13-13, anastasiaboris93@mail.ru. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-4425-8428>.
- **Станислав Степанович Афанасьев** – д. м. н., главный научный сотрудник ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора. +7 (903) 667-20-68, afanasievss409.4@bk.ru. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-6497-1795>.
- **Ирина Викторовна Подопригора** – к. м. н., доцент, заведующая кафедрой микробиологии им. В. С. Киктенко ФГАОУ ВО РУДН им. Патриса Лумумбы. +7 (916) 638-06-35, podoprighora-iv@rudn.ru. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-4099-2967>.
- **Максим Станиславович Афанасьев** – д. м. н., профессор кафедры клинической аллергологии и иммунологии ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет). +7 (916) 685-52-38, mafa78@inbox.ru. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-5860-4152>.
- **Татьяна Ивановна Москвина** – заведующая микробиологической лабораторией ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Челябинской области», +7 (351) 264-67-80, microb@chel.surnet.ru.
- **Галина Васильевна Воробьева** – заведующая бактериологической лабораторией, ФБУЗ СО «ДГБ г. Каменск-Уральский». +7 (3439) 340-325, kudb-public@mis66.ru.
- **Ирина Марковна Дегтярева** – заведующая микробиологической лабораторией ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Воронежской области». +7 (473) 263-85-24, dim257@mail.ru.
- **Ольга Владимировна Тимиркина** – заведующая микробиологической лабораторией, ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Ульяновской области». +7 (8422) 40-51-14, info@73fguz.ru.
- **Светлана Альбертовна Лукьянцева** – заведующая бактериологической лабораторией ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Пермском крае». +7 (342) 239-35-49, cgero@mail.ru.
- **Татьяна Николаевна Тригорлова** – заведующая диагностическим отделением, ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Хабаровском крае». +7 (4212) 32-77-57, fbuz@27.khv.ru.

Поступила: 20.02.2024. Принята к печати: 17.03.2024.

Контент доступен под лицензией CC BY 4.0.

About the Authors

- **Alena S. Pimenova** – Cand. Sci. (Med.), leading researcher of laboratory of diagnostic of diphtheria and pertussis infections, G.N. Gabrichevsky Research Institute of Epidemiology and Microbiology. +7 (499) 747-64-84, alenaa_85@mail.ru. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-6914-3531>.
- **Natiya T. Gadua** – Cand. Sci. (Med.), leading researcher of laboratory of diagnostic of diphtheria and pertussis infections, G.N. Gabrichevsky Research Institute of Epidemiology and Microbiology. +7 (499) 747-64-84, 8nati8@mail.ru. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-6247-6176>.
- **Irina Yu. Andrievskaya** – researcher of laboratory of diagnostic of diphtheria and pertussis infections, G.N. Gabrichevsky Research Institute of Epidemiology and Microbiology. +7 (499) 747-64-84, andrievskaya.iri@mail.ru. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-2997-942X>.
- **Ol'ga Yu. Borisova** – Dr. Sci. (Med.), professor, head of laboratory of diagnostic of diphtheria and pertussis infections G.N. Gabrichevsky Research Institute of Epidemiology and Microbiology. +7 (499) 747-64-84, olgaborisova@mail.ru. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-6316-5046>.
- **Marina S. Petrova** – Cand. Sci. (Med.), leading researcher of the clinical department G.N. Gabrichevsky Research Institute of Epidemiology and Microbiology. +7 (495) 459-18-16, gabrich@mail.ru. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-6065-2623>.
- **Anastasiya B. Borisova** – Cand. Sci. (Med.), junior researcher of the clinical department G.N. Gabrichevsky Research Institute of Epidemiology and Microbiology. +7 (917) 592-13-13, anastasiaboris93@mail.ru. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-4425-8428>.
- **Stanislav S. Afanasiev** – Dr. Sci. (Med.), chief researcher, G.N. Gabrichevsky Research Institute of Epidemiology and Microbiology. +7 (903) 667-20-68, afanasievss409.4@bk.ru. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-6497-1795>.
- **Irina V. Podoprighora** – Cand. Sci. (Med.), docent, head of the Department of Microbiology named after V.S. Kiktenko Peoples' Friendship University of Russia (RUDN University). +7 (916) 638-06-35, podoprighora-iv@rudn.ru. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-4099-2967>.
- **Maksim S. Afanas'ev** – Dr. Sci. (Med.), professor of the department of clinical allergology and immunology Sechenov University. +7 (916) 685-52-38, mafa78@inbox.ru. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-5860-4152>.
- **Tat'yana I. Moskvina** – head of microbiological laboratory, Center of Hygiene and Epidemiology in Chelyabinsk region. +7 (351) 264-67-80, microb@chel.surnet.ru.
- **Galina V. Vorob'eva** – head of bacteriological laboratory, Children's city hospital Kamensk-Uralsky. +7 (3439) 340-325, kudb-public@mis66.ru.
- **Irina M. Degtyareva** – head of microbiological laboratory, Center of Hygiene and Epidemiology in Voronezh region. +7 (473) 263-85-24, dim257@mail.ru.
- **Ol'ga V. Timirkina** – head of microbiological laboratory, Center of Hygiene and Epidemiology in Ulyanovsk region. +7 (8422) 40-51-14, info@73fguz.ru.
- **Svetlana A. Luk'yanceva** – head of bacteriological laboratory, Center of Hygiene and Epidemiology in Perm region. +7 (342) 239-35-49, cgero@mail.ru.
- **Tat'yana N. Trigorlova** – head of the diagnostic department, Center of Hygiene and Epidemiology in Khabarovsk region. +7 (4212) 32-77-57, fbuz@27.khv.ru.

Received: 20.02.2024. Accepted: 17.03.2024.

Creative Commons Attribution CC BY 4.0.