



Влияние антител к агглютиногенам 1 и 2, филаментозному гемагглютину и коклюшному токсину на формирование биоплёнок *Bordetella pertussis* на абиотическом субстрате

Зайцев Е.М.[✉], Брицина М.В., Озерецковская М.Н., Мерцалова Н.У.,
Бажанова И.Г.

НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, Москва, Россия

Аннотация

Цель. Изучение влияния антител к агглютиногенам (АГ) -1 и -2, филаментозному гемагглютину (ФГА) и коклюшному токсину (КТ) на формирование биоплёнок штаммами *Bordetella pertussis* на абиотическом субстрате.

Материалы и методы. Использованы вакцинные и свежeweыделенные штаммы *B. pertussis*. В качестве инокулята для получения биоплёнок использовали культуры штаммов, выращенных на плотной питательной среде. Интенсивность образования биоплёнок в присутствии сывороток к АГ-1 и -2, ФГА и моноклональных антител (МКА) к S1-, S2- и S3-субъединицам КТ в круглодонных полистироловых 96-луночных планшетах оценивали окрашиванием 0,1% раствором генцианового фиолетового.

Результаты. Большинство исследованных штаммов были чувствительны к антителам, что проявлялось в полном подавлении образования биоплёнок. Все штаммы были чувствительны к сыворотке к АГ-1, сыворотке к ФГА, МКА к S2-субъединице КТ. К сыворотке к АГ-2 были чувствительны 3 из 4 исследованных штаммов, имеющих этот АГ в своем составе: № 475 (серовар 1.2.3), № 317 (серовар 1.2.3) и № 178 (серовар 1.2.0). Относительная устойчивость к сыворотке была выявлена только у штамма № 305 серовара 1.2.0, однако при минимальном её разведении интенсивность образования биоплёнки была в 1,8 раза ниже, чем в контроле. Штаммы № 703 (серовар 1.0.3) и № 287 (серовар 1.0.3), не имеющие АГ-2, были устойчивы к сыворотке. К МКА к S1- и S3-субъединицам КТ были чувствительны, соответственно, 4 и 5 из 6 использованных штаммов. Штамм № 305 был устойчив к МКА к S1- и S3-субъединицам, а штамм № 287 — к МКА к S1-субъединице. При этом при минимальном разведении МКА интенсивность образования биоплёнок была, соответственно, в 2 и 1,8 раза ниже, чем в контроле.

Заключение. Приведённые данные свидетельствуют о подавлении роста биоплёнок штаммов *B. pertussis* антителами как к поверхностным структурам микробной клетки (АГ-1 и -2, ФГА), так и к S1-, S2- и S3-субъединицам КТ.

Ключевые слова: штаммы *B. pertussis*, биоплёнки, сыворотка к агглютиногену, сыворотка к филаментозному гемагглютину, моноклональные антитела, коклюшный токсин

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Для цитирования: Зайцев Е.М., Брицина М.В., Озерецковская М.Н., Мерцалова Н.У., Бажанова И.Г. Влияние антител к агглютиногенам 1 и 2, филаментозному гемагглютину и коклюшному токсину на формирование биоплёнок *Bordetella pertussis* на абиотическом субстрате. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2021;98(3):283–289.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-110>

Original article

<https://doi.org/10.36233/0372-9311-110>

Effect of antibodies to agglutinogens 1 and 2, filamentous hemagglutinin and pertussis toxin on formation of *Bordetella pertussis* biofilms on abiotic substrate

Eugene M. Zaytsev[✉], Marina V. Britsina, Maria N. Ozeretskovskaya, Natalia U. Mertsalova, Irina G. Bazhanova

I.I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia

Abstract

Aim. Study of the effect of antibodies to agglutinogens 1 and 2, filamentous hemagglutinin (FHA) and pertussis toxin (PT) on the formation of biofilms by *Bordetella pertussis* strains on the abiotic substrate.

Materials and methods. Vaccine-derived and freshly isolated strains of *B. pertussis* were used. Cultures of strains grown on a dense nutrient medium were used as an inoculum for obtaining biofilms. The intensity of biofilm formation in round-bottomed polystyrene 96-well plates in the presence of antisera to agglutinogens 1 and 2, antiserum to FHA, and monoclonal antibodies (MCA) to the S1, S2, and S3 subunits of PT was evaluated by staining with 0.1% gentian-violet solution.

Results. Most of the studied strains were sensitive to antibodies, which was manifested in complete suppression of biofilm formation. All strains were sensitive to antiserum to agglutininogen 1, antiserum to FHA, and MCA to the S2 subunit of KT. Three out of 4 studied strains with this agglutininogen in their composition were sensitive to antiserum to agglutininogen 2: No. 475 (serotype 1.2.3), No. 317 (serotype 1.2.3) and No. 178 (serotype 1.2.0). Relative resistance to antiserum was detected only in serotype 1.2.0 strain No. 305, but with minimal dilution, the intensity of biofilm formation was 1.8 times lower than in the control group. Strains No. 703 (serotype 1.0.3) and No. 287 (serotype 1.0.3) that did not have agglutininogen 2 were resistant to antiserum. Four and 5 out of the 6 strains used were sensitive to the S1 and S3 subunits of PT, respectively. Strain No. 305 was resistant to MCA to the S1 and S3 subunits, and strain No. 287 to MCA to the S1 subunit. At the same time, the intensity of biofilm formation was 2 and 1.8 times lower than in the control at the minimum MCA dilution.

Conclusion. These data indicate that the growth of biofilms of *B. pertussis* strains is suppressed by antibodies both to the surface structures of the microbial cell (agglutinogens 1 and 2, FHA) and to the S1, S2 and S3 subunits of PT.

Keywords: *B. pertussis* strains, biofilms, antisera to agglutininogen 1 and 2, antiserum to filamentous hemagglutinin, monoclonal antibodies, pertussis toxin

Funding source. This study was not supported by any external sources of funding.

Conflict of interest. The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

For citation: Zaytsev E.M., Britsina M.V., Ozeretskovskaya M.N., Mertsalova N.U., Bazhanova I.G. Effect of antibodies to agglutinogens 1 and 2, filamentous hemagglutinin and pertussis toxin on formation of *Bordetella pertussis* biofilms on abiotic substrate. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology = Zhurnal mikrobiologii, èpidemiologii i immunobiologii*. 2021;98(3):283–289.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-110>

Введение

Эпидемический процесс коклюшной инфекции продолжается во всем мире, в том числе в странах с высоким уровнем вакцинации. Заболеваемость коклюшем в последние годы составляет 10–40 случаев на 100 тыс. жителей в год и наиболее высока у детей младшего возраста. Рост заболеваемости регистрируется также среди подростков и взрослых, являющихся источником передачи инфекции неиммунизированным младенцам, которые подвергаются риску тяжелых форм заболевания и смерти [1–3].

Рост заболеваемости коклюшем связывают с рядом факторов, среди которых выделяют недоста-

точную эффективность существующих бесклеточных коклюшных вакцин, а также мутации в генах возбудителя, кодирующих основные факторы вирулентности *Bordetella pertussis*, что привело к появлению циркулирующих штаммов, отличающихся повышенной вирулентностью [4, 5]. Одной из вероятных причин продолжающегося эпидемического процесса коклюшной инфекции также могут быть биоплёнки *B. pertussis*.

Согласно современным представлениям, биоплёнки представляют собой сообщества бактериальных клеток, прикрепленных к поверхности и друг к другу и заключенных в полимерный матрикс. Компоненты матрикса защищают бактерии

в биоплёнке от повреждающих факторов внешней среды [6]. Этапы формирования биоплёнок включают начальное прикрепление к поверхности отдельных клеток, их рост с образованием монослоя с последующим образованием микроколоний и полимерного матрикса. Первичное прикрепление планктонных бактерий к абиотическим поверхностям является обратимым процессом, в реализации которого принимают участие физико-химические взаимодействия, в частности, электростатические и гидрофобные. Переход к необратимой связи происходит с участием адгезинов, расположенных на поверхности микробных клеток и специфичных для каждого вида бактерий [7].

Микробы рода *Bordetella*, как и другие бактерии, обладают способностью к формированию биоплёнок на абиотических и биотических поверхностях. *B. pertussis* продуцирует ряд вирулентных факторов, определяющих патогенез коклюшной инфекции. Условно их можно разделить на адгезины (фимбрии, пертактин, фактор колонизации трахеи, филаментозный гемагглютинин (ФГА)) и токсины (коклюшный токсин (КТ), дермонекротический токсин, трахеальный цитотоксин, аденилатциклаза, липополисахарид).

Имеются данные о значении адгезинов *B. pertussis* и КТ для прикрепления к клеткам респираторного тракта. Однако значение этих факторов для формирования биоплёнок на биотических и абиотических поверхностях, а также чувствительность биоплёнок *B. pertussis* к иммунным факторам пока изучена недостаточно, по данной проблеме имеются лишь единичные публикации [8].

Цель работы — изучение влияния антител к агглютиногенам (АГ) -1 и -2, ФГА и КТ на формирование биоплёнок *B. pertussis* на абиотическом субстрате.

Материалы и методы

В опытах использовали «вакцинные» штаммы *B. pertussis*, выделенные от больных коклюшем в 1950–1960-е гг., использующиеся в России для изготовления корпускулярных коклюшных вакцин: штамм № 475 (серовар 1.2.3), штамм № 305 (серовар 1.2.0), штамм № 703 (серовар 1.0.3), а также выделенные в России от больных коклюшем в 2001–2010 гг.: штамм № 178 (серовар 1.2.0), штамм № 287 (серовар 1.0.3) и штамм № 317 (серовар 1.2.3). В опытах использовали сыворотки диагностические коклюшные к АГ-1 и -2 (Филиал «Медгамал» НИИЭМ им. Н.Ф. Гамалеи), мышиную сыворотку к ФГА (кат. номер JN1H-11), мышиную моноклональные антитела (МКА) к субъединицам S1 (кат. номер 99/506), S2 (кат. номер 99/538) и S3 (кат. номер 99/542) КТ (National Institute for Biological Standards and Control, Великобритания). Контроль морфологических, серологических и культураль-

ных свойств штаммов проводили в соответствии с методическими указаниями¹.

В качестве инокулята для получения биоплёнок использовали ночные культуры штаммов, выращенных на плотной питательной среде («Бордетелагар» — питательная среда для культивирования и выделения коклюшного микроба сухая, ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболенск). Суспензию бактерий культивировали в 96-луночных пластиковых планшетах («Nunc») в жидкой синтетической питательной среде в соответствии с ранее описанным методом [9]. Культуры штаммов в жидкой синтетической питательной среде в концентрации 10 МОЕ в объёме 100 мкл вносили в лунки планшетов. После этого в лунки добавляли по 100 мкл антител. Сыворотки к АГ-1 использовали в разведениях 1 : 5000, 1 : 10 000, 1 : 20 000, 1 : 4000, к АГ-2 — 1 : 2500, 1 : 5000, 1 : 10 000, 1 : 20 000. Сыворотку к ФГА и МКА к субъединицам КТ использовали в разведениях 1 : 20, 1 : 200, 1 : 400 и 1 : 800. Отрицательным контролем служили сыворотки неиммунных мышей и кроликов в разведениях 1 : 20 и 1 : 2500 соответственно.

Планшеты накрывали крышкой и помещали в термостат при 37°C в горизонтальном положении на ровную поверхность на 24 ч. Интенсивность образования биоплёнок (ИОБ) в планшетах оценивали по окрашиванию 0,1% раствором генцианового фиолетового по показателям оптической плотности (ОП) окрашенного растворителя по отношению к негативному контролю (ОП_к = 0,047) как плотные (ОП ≥ 0,188), умеренные (0,094 ≤ ОП < 0,188), слабые (0,078 ≤ ОП < 0,094), отсутствие биоплёнок (ОП < 0,078).

Результаты оценивали по значениям титра сывороток, которые определяли как наибольшие их разведения, подавляющие рост биоплёночных культур по сравнению с контролем (слабые биоплёнки или их отсутствие). Формирование плотных и умеренных биоплёнок в присутствии антител рассматривали как устойчивость к антителам. Для достоверного обчёта результатов использовали 5 лунок на один опытный образец и рассчитывали среднюю величину ОП опытного образца и удвоенную ошибку. Сравнения проводили по критерию *t* Стьюдента [10].

Результаты

Результаты исследования чувствительности вакцинных и свежевыделенных штаммов *B. pertussis* к антителам к антигенам возбудителя коклюша приведены в **таблице**.

Контрольные культуры (не содержавшие антител) исследованных штаммов отличались по ИОБ.

¹ МУК 4.2.2317-08. Отбор, проверка и хранение производственных штаммов коклюшных, паракоклюшных и бронхисептикозных бактерий. М.; 2009.

Чувствительность вакцинных и свежeweделенных штаммов *B. pertussis* к антителам к антигенам коклюшного микроба
Sensitivity of vaccine and freshly isolated *B. pertussis* strains to antibodies to antigens of pertussis microbe

Параметр Parameter		Штаммы (серовар) / Strains (serotype)					
		вакцинные / vaccine			свежeweделенные / freshly isolated		
		№ 475 (1.2.3)	№ 305 (1.2.0)	№ 703 (1.0.3)	№ 317 (1.2.3)	№ 178 (1.2.0)	№ 287 (1.0.3)
Контроль Control	ОП optical density	0,138 ± 0,020	0,242 ± 0,031	0,232 ± 0,042	0,195 ± 0,012	0,193 ± 0,021	0,192 ± 0,013
	ИОБ intensity of biofilm formation	Умеренная Medium	Плотная Dense	Плотная Dense	Плотная Dense	Плотная Dense	Плотная Dense
Сыворотка к АГ-1 Antiserum to agglutinin 1	ОП optical density	0,072 ± 0,006	0,089 ± 0,010	0,066 ± 0,005	0,089 ± 0,003	0,087 ± 0,009	0,093 ± 0,004
	ИОБ intensity of biofilm formation	Нет No	Слабая Weak	Нет No	Слабая Weak	Слабая Weak	Слабая Weak
	титр антител serum dilution	1 : 20 000*	1 : 10 000*	1 : 10 000*	1 : 5000*	1 : 10 000*	1 : 5000*
Сыворотка к АГ-2 Antiserum to agglutinin 2	ОП optical density	0,076 ± 0,005	134 ± 0,013	0,212 ± 0,032	0,092 ± 0,004	0,098 ± 0,011	0,174 ± 0,013
	ИОБ intensity of biofilm formation	Нет No	Умеренная Medium	Плотная Dense	Слабая Weak	Слабая Weak	Умеренная Medium
	титр антител serum dilution	1 : 10 000*	1 : 2500**	**	1 : 2500*	1 : 2500*	**
Сыворотка к ФГА Antiserum to FHA	ОП optical density	0,056 ± 0,003	0,053 ± 0,002	0,054 ± 0,009	0,0052 ± 0,002	0,054 ± 0,007	0,062 ± 0,003
	ИОБ intensity of biofilm formation	Нет No	Нет No	Нет No	Нет No	Нет No	Нет No
	титр антител serum dilution	1 : 200*	1 : 20*	1 : 20*	1 : 20*	1 : 20*	1 : 20*
МКА к S1-субъединице КТ MCA to the S1 subunit of PT	ОП optical density	0,082 ± 0,006	0,121 ± 0,006	0,060 ± 0,002	0,075 ± 0,001	0,077 ± 0,019	0,105 ± 0,007
	ИОБ intensity of biofilm formation	Слабая Weak	Умеренная Medium	Нет No	Нет No	Нет No	Умеренная Medium
	титр антител MCA dilution	1 : 200*	1 : 20**	1 : 20*	1 : 20*	1 : 20*	1 : 20**
МКА к S2-субъединице КТ MCA to the S2 subunit of PT	ОП optical density	0,073 ± 0,002	0,080 ± 0,004	0,055 ± 0,001	0,056 ± 0,002	0,059 ± 0,003	0,071 ± 0,002
	ИОБ intensity of biofilm formation	Нет No	Слабая Weak	Нет No	Нет No	Нет No	Нет No
	титр антител MCA dilution	1 : 200*	1 : 20*	1 : 20*	1 : 20*	1 : 20*	1 : 20*
МКА к S3-субъединице КТ MCA to the S3 subunit of PT	ОП optical density	0,079 ± 0,005	0,119 ± 0,013	0,058 ± 0,002	0,056 ± 0,002	0,055 ± 0,002	0,065 ± 0,003
	ИОБ intensity of biofilm formation	Нет No	Умеренная Medium	Нет No	Нет No	Нет No	Нет No
	титр антител MCA dilution	1 : 200*	1 : 20**	1 : 20*	1 : 20*	1 : 20*	1 : 20*

Примечание. *Подавление роста биоплёнок (различия между опытными образцами и контролем статистически достоверны ($p < 0,05$); **отсутствие подавления роста биоплёнок.

Note. *Suppression of biofilm growth (differences between experimental samples and control are statistically significant ($p < 0.05$); **no suppression of biofilm growth.

Штамм № 475 формировал умеренные биоплёнки, а штаммы № 305, 703, 317, 178 и 287 — плотные.

Все исследованные штаммы проявляли чувствительность к антисыворотке к АГ-1. Титры антисыворотки к АГ-1, подавлявшие рост биоплёнок со штаммом № 475, составляли 1 : 20 000, со штаммами № 305, 703 и 178 — 1 : 10 000, а со штаммами № 287 и 317 — 1 : 5000.

К сыворотке к АГ-2 были чувствительны 3 штамма: № 475 (серовар 1.2.3), 317 (серовар 1.2.3) и 178 (серовар 1.2.0). Вакцинный штамм № 475 отличался высокой чувствительностью к сыворотке, титр которой составлял 1:10 000. Титры сыворотки со штаммами № 317 и 178 составляли 1 : 2500. Штамм № 305 (серовар 1.2.0) проявлял устойчивость к сыворотке и формировал умеренные или плотные биоплёнки в зависимости от её разведения, однако при разведении 1 : 2500 ИОБ была в 1,8 раза ниже, чем в контроле. Штаммы № 703 (серовар 1.0.3) и 287 (серовар 1.0.3) были устойчивыми к сыворотке и формировали умеренные или плотные биоплёнки.

Все штаммы были чувствительны к антисыворотке к ФГА, титр которой со штаммом № 475 составлял 1 : 200, а с остальными штаммами — 1 : 20.

МКА к S1-субъединице КТ подавляли рост биоплёнок штамма № 475 в разведении 1 : 200, а штаммов № 703, 317 и 178 — в разведении 1 : 20. Штаммы № 305 и 287 были устойчивы к МКА к S1-субъединице и формировали умеренные или плотные биоплёнки, однако при разведении МКА 1 : 20 ИОБ была в 2 раза ниже, чем в контроле культуры.

Все штаммы были чувствительны к МКА к S2-субъединице КТ. Титр МКА со штаммом № 475 составлял 1 : 200, а с остальными штаммами — 1 : 20.

К МКА к S3-субъединице КТ были чувствительны у 5 из 6 исследованных штаммов. Титр МКА со штаммом № 475 составлял 1 : 200, а со штаммами № 703, 317, 178 и 287 — 1 : 20. Штамм № 305 был устойчив к МКА и формировал умеренные или плотные биоплёнки. При разведении МКА 1 : 20 ИОБ была в 2 раза ниже, чем в контроле.

Обсуждение

Механизмы образования биоплёнок *B. pertussis* и влияние на этот процесс иммунных факторов мало изучены и могут быть связаны с эффекторными механизмами клеточного и гуморального иммунитета [8]. Нами исследована чувствительность биоплёнок основных сероваров (1.0.3, 1.2.0 и 1.2.3) вакцинных и свежeweделенных штаммов *B. pertussis* к сывороткам к АГ-1 и -2, ФГА и МКА к S1-, S2- и S3-субъединицам КТ. Результаты опытов показали, что большинство исследованных штаммов были чувствительными к антителам, что проявлялось в полном подавлении образования биоплёнок. Все

штаммы были чувствительными к сыворотке к АГ-1 и ФГА, МКА к S2-субъединице КТ. К сыворотке к АГ-2 были чувствительными 3 из 4 исследованных штаммов, имеющих этот АГ в своем составе: № 475 (серовар 1.2.3), № 317 (серовар 1.2.3) и № 178 (серовар 1.2.0). Относительная устойчивость к сыворотке была выявлена только у штамма № 305 серовара 1.2.0, однако при минимальном её разведении ИОБ была в 1,8 раза ниже, чем в контроле культуры. Штаммы № 703 (серовар 1.0.3) и 287 (серовар 1.0.3), не имеющие АГ-2, были устойчивы к сыворотке. К МКА к S1- и S3-субъединицам КТ были чувствительны, соответственно, 4 и 5 из 6 использованных штаммов. Штамм № 305 был устойчив к МКА к S1- и S3-субъединицам, а штамм № 287 — к МКА к S1-субъединице. При этом при минимальном разведении МКА ИОБ была в 2 и 1,8 раза соответственно ниже, чем в контроле культуры.

По отношению ко всем штаммам выявлена зависимость ИОБ от разведения антител. Увеличение разведения антител сопровождалось усилением роста биоплёнок. Относительная устойчивость штамма № 305 к сыворотке к АГ-2 и к МКА к S1- и S3-субъединицам КТ, а штамма № 287 к S1-субъединице КТ может быть обусловлена различным соотношением между уровнем экспрессии этих факторов и уровнем антител в составе использованных препаратов.

В целом мы не обнаружили существенных различий между исследованными вакцинными и свежeweделенными штаммами по чувствительности к противокклюшным антителам. Исключение составил вакцинный штамм № 475, отличавшийся более высокой, по сравнению с другими штаммами, чувствительностью к антителам. Высокую чувствительность штамма № 475 к антителам можно объяснить относительно низкой, в отличие от остальных штаммов, ИОБ.

Результаты опытов позволяют сделать определённые выводы о значении АГ-1 и -2, ФГА и S1-, S2- и S3-субъединиц КТ для биоплёнокообразования *B. pertussis* на абиотическом субстрате. Подавление образования биоплёнок сыворотками к АГ-2 и ФГА согласуется с современными представлениями о их значении в патогенезе коклюша. Основным адгезином *B. pertussis* является ФГА, участвующий в процессах адгезии и колонизации респираторного тракта. В адгезии *B. pertussis* на клетках респираторного тракта принимают участие также фимбриальные белки, состоящие из двух основных субъединиц — Fim2 и Fim3, соответствующих АГ-2 и -3. Подавление образования биоплёнок сыворотками к ФГА и АГ-2 подтверждает их значение как адгезинов и согласуется с данными других авторов [11]. Влияние сывороток к ФГА на рост биоплёнок может быть связано не только с подавлением адгезии планктонных клеток на субстрате, но также с их

прикреплении к формирующейся биоплёнке [12].

АГ-1 является поверхностной структурой микробной клетки, однако, в отличие от АГ-2 и -3, не ассоциирован с фимбриями. Значение этого антигена для патогенеза коклюша не вполне ясно, однако известно его значение как протективного антигена. В частности, было показано, что защитная активность цельноклеточных коклюшных вакцин коррелирует с содержанием в клетке АГ-1, -2, -3 [13]. Полученные нами данные указывают на значение АГ-1 для формирования биоплёнок и могут предполагать его роль в качестве адгезина.

Интерес представляют результаты влияния МКА к субъединицам КТ на образование биоплёнок. КТ является одним из основных факторов патогенности *B. pertussis* и обуславливает значительную часть симптомов заболевания у больных коклюшем. КТ является экзотоксином, секретируемым микробной клеткой, представляет собой белок с молекулярной массой 117 кДа. Молекула токсина состоит из двух функциональных частей (А и В) и 5 структурных единиц (S1, S2, S3, S4 и S5). Фрагмент А токсина соответствует структурной S1-субъединице, которая обладает ферментативной активностью и катализирует АДФ-зависимое рибозилирование белка клеточной мембраны трансдуцина. Последнее приводит к нарушению контроля функционирования аденилатциклазы, накоплению цАМФ и нарушению функции клеток. Фрагмент В молекулы КТ состоит из S2-, S3-, S4- и S5-субъединиц и отвечает за связывание с рецепторами клеток-мишеней [14, 15]. Подавление роста биоплёнок МКА к S2- и S3-субъединицам КТ может указывать на их роль в качестве факторов адгезии. Однако МКА к S1-субъединице также подавляли рост биоплёнок. В связи с этим нельзя исключить роль КТ в формировании биопленок как фактора «поверхностного кондиционирования». По данным ряда авторов, «поверхностное кондиционирование» является одним из факторов образования биоплёнок и заключается в адсорбции на субстрате белков, липидов, полисахаридов и других молекул внеклеточного матрикса, что приводит к модификации его поверхности и влияет на процессы адгезии микроорганизмов [7]. Можно предположить, что связывание МКА к S1-субъединице с молекулой КТ может приводить к конформационным изменениям его молекулы, меняющих его способность к связыванию с субстратом.

В целом приведённые данные указывают на значение в формировании биоплёнок как поверхностных структур микробных клеток (ФГА, АГ-1 и -2), так и секретируемого ими КТ. Полученные результаты свидетельствуют о сложности процесса образования и иммунного подавления биоплёнок *B. pertussis* и целесообразности дальнейших исследований этой области, в частности изучение значения других патогенных факторов коклюшного микроба.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Barkoff A.M., He Q. Molecular epidemiology of *Bordetella pertussis*. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2019; 1183: 19–33. https://doi.org/10.1007/5584_2019_402
2. Nieves D.J., Heininger U. *Bordetella pertussis*. *Microbiol. Spectr.* 2016; 4(3). <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.EI10-0008-2015>
3. Борисова О.Ю., Гадуа Н.Т., Пименова А.С., Петрова М.С., Попова О.П., Алешкин В.А. и др. Структура популяции штаммов возбудителя коклюша на территории России. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2016; 15(4): 22–8.
4. Субботина К.А., Фельдблюм И.В., Кочергина Е.А., Лехтина Н.А. Эпидемиологическое обоснование к изменению стратегии и тактики специфической профилактики коклюша в современных условиях. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2019; 18(2): 27–33. <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2019-18-2-27-33>
5. Di Mattia G., Nicolai A., Frassanito A., Petrarca L., Nenna R., Midulla F. Pertussis: new preventive strategies for an old disease. *Paediatr. Respir. Rev.* 2019; 29: 68–73. <https://doi.org/10.1016/j.prrv.2018.03.011>
6. Del Pozo J.L. Biofilm-related disease. *Expert Rev. Anti Infect Ther.* 2018; 16(1): 51–65. <https://doi.org/10.1080/14787210.2018.1417036>
7. Dunne W.M.Jr. Bacterial adhesion: seen any good biofilms lately? *Clin. Microbiol. Rev.* 2002; 15(2): 155–66. <https://doi.org/10.1128/CMR.15.2.155-166.2002>
8. Cattelan N., Dubey P., Arnal L., Yantorno O.M., Deora R. *Bordetella* biofilms: a lifestyle leading to persistent infections. *Pathog. Dis.* 2016; 74(1): ftv108. <https://doi.org/10.1093/femspd/ftv108>
9. Зайцев Е.М., Брицина М.В., Озерцовская М.Н., Мерцалова Н.У., Бажанова И.Г. Культивирование биопленок *Bordetella pertussis* на абиотическом субстрате. *Журнал микробиологии эпидемиологии и иммунологии*. 2019; 96(1): 49–53. <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2019-1-49-53>
10. Ашмарин И.П., Воробьев А.А. *Статистические методы в микробиологических исследованиях*. Ленинград; 1962.
11. Scheller E.V., Cotter P.A. *Bordetella* filamentous hemagglutinin and fimbriae: critical adhesins with unrealized vaccine potential. *Pathog. Dis.* 2015; 73(8): ftv079. <https://doi.org/10.1093/femspd/ftv079>
12. Serra D.O., Conover M.S., Arnal L., Sloan G.P., Rodriguez M.E., Yantorno O.M., et al. FHA-mediated cell-substrate and cell-cell adhesions are critical for *Bordetella pertussis* biofilm formation on abiotic surfaces and in the mouse nose and the trachea. *PLoS One*. 2011; 6(12): e28811. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0028811>
13. Чупринина П.П., Алексеева И.А. Возможность повышения иммуногенной активности и стабильности цельноклеточного коклюшного компонента комбинированных вакцин. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2014; (2): 89–95.
14. Scanlon K., Skerry C., Carbonetti N. Role of major toxin virulence factors in pertussis infection and disease pathogenesis. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2019; 1183: 35–51. https://doi.org/10.1007/5584_2019_403
15. Carbonetti N.H. Contribution of pertussis toxin to the pathogenesis of pertussis disease. *Pathog. Dis.* 2015; 73(8): ftv073. <https://doi.org/10.1093/femspd/ftv073>

REFERENCES

1. Barkoff A.M., He Q. Molecular epidemiology of *Bordetella pertussis*. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2019; 1183: 19–33. https://doi.org/10.1007/5584_2019_402
2. Nieves D.J., Heininger U. *Bordetella pertussis*. *Microbiol. Spectr.* 2016; 4(3). <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.EI10-0008-2015>

3. Borisova O.Yu., Gadua N.T., Pimenova A.S. et al. Structure of population of strains of the *Bordetella pertussis* in the Russia. *Epidemiologiya i vaktsinoprofilaktika*. 2016; 4(89): 22–8. (in Russian)
4. Subbotina K.A., Fel'dblyum I.V., Kochergina E.A., Lekhtina N.A. Epidemiological rationale for changing the strategy and tactics of vaccination of pertussis in current conditions. *Epidemiologiya i vaktsinoprofilaktika*. 2019; 18(2): 27–33. <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2019-18-2-27-33> (in Russian)
5. Di Mattia G., Nicolai A., Frassanito A., Petrarca L., Nenna R., Midulla F. Pertussis: New preventive strategies for an old disease. *Paediatr. Respir. Rev.* 2019; 29: 68–73. <https://doi.org/10.1016/j.prrv.2018.03.011>
6. Del Pozo J.L. Biofilm-related disease. *Expert Rev. Anti Infect Ther.* 2018; 16(1): 51–65. <https://doi.org/10.1080/14787210.2018.1417036>
7. Dunne W.M.Jr. Bacterial adhesion: seen any good biofilms lately? *Clin. Microbiol. Rev.* 2002; 15(2): 155–66. <https://doi.org/10.1128/CMR.15.2.155-166.2002>
8. Cattelan N., Dubey P., Arnal L., Yantorno O.M., Deora R. *Bordetella* biofilms: a lifestyle leading to persistent infections. *Pathog. Dis.* 2016; 74(1): ftv108. <https://doi.org/10.1093/femspd/ftv108>
9. Zaytsev E.M., Britsina M.V., Ozeretskovskaya M.N., Mertsalova N.U., Bazhanova I.G. Cultivation of *Bordetella pertussis* biofilms on abiotic substrate. *Zhurnal mikrobiologii i immunologii i immunobiologii*. 2019; 96(1): 49–53. <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2019-1-49-53> (in Russian)
10. Ashmarin I.P., Vorob'ev A.A. *Statistical Methods in Microbiological Research [Statisticheskie metody v mikrobiologicheskikh issledovaniyakh]*. Leningrad; 1962. (in Russian)
11. Scheller E.V., Cotter P.A. *Bordetella* filamentous hemagglutinin and fimbriae: critical adhesins with unrealized vaccine potential. *Pathog. Dis.* 2015; 73(8): ftv079. <https://doi.org/10.1093/femspd/ftv079>
12. Serra D.O., Conover M.S., Arnal L., Sloan G.P., Rodriguez M.E., Yantorno O.M., et al. FHA-mediated cell-substrate and cell-cell adhesions are critical for *Bordetella pertussis* biofilm formation on abiotic surfaces and in the mouse nose and the trachea. *PLoS One*. 2011; 6(12): e28811. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0028811>
13. Chuprinina R.P., Alekseeva I.A. The possibility of increasing the potency and stability of whole-cell pertussis component of combined vaccines. *Epidemiologiya i vaktsinoprofilaktika*. 2014; (2): 89–95.
14. Scanlon K., Skerry C., Carbonetti N. Role of major toxin virulence factors in pertussis infection and disease pathogenesis. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2019; 1183: 35–51. https://doi.org/10.1007/5584_2019_403
15. Carbonetti N.H. Contribution of pertussis toxin to the pathogenesis of pertussis disease. *Pathog. Dis.* 2015; 73(8): ftv073. <https://doi.org/10.1093/femspd/ftv073>

Информация об авторах

Зайцев Евгений Михайлович[✉] — д.м.н., зав. лаб. иммуномодуляторов НИИВС им. И.И. Мечникова, Москва, Россия, pertussis@yandex.ru, <https://www.orcid.org/0000-0002-4813-9074>

Брицина Марина Васильевна — к.б.н., в.н.с. лаб. иммуномодуляторов НИИВС им. И.И. Мечникова, Москва, Россия, <https://www.orcid.org/0000-0002-3044-0790>

Озерецковская Мария Николаевна — к.м.н., в.н.с. лаб. иммуномодуляторов НИИВС им. И.И. Мечникова, Москва, Россия, <https://www.orcid.org/0000-0001-9809-4217>

Мерцалова Наталья Устиновна — к.б.н., в.н.с. лаб. иммуномодуляторов НИИВС им. И.И. Мечникова, Москва, Россия, <https://www.orcid.org/0000-0002-9072-2538>

Бажанова Ирина Глебовна — к.б.н., в.н.с. лаб. иммуномодуляторов НИИВС им. И.И. Мечникова, Москва, Россия, <https://www.orcid.org/0000-0003-1404-1498>

Участие авторов. Все авторы внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

Статья поступила в редакцию 09.12.2020;
принята к публикации 04.02.2021;
опубликована 28.05.2021

Information about the authors

Eugene M. Zaytsev[✉] — D. Sci. (Med.), Head, Laboratory of immunomodulators, I.I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia, pertussis@yandex.ru, <https://www.orcid.org/0000-0002-4813-9074>

Marina V. Britsina — Cand. Sci. (Biol.), leading researcher, Laboratory of immunomodulators, I.I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia, <https://www.orcid.org/0000-0002-3044-0790>

Maria N. Ozeretskovskaya — Cand. Sci. (Biol.), leading researcher, Laboratory of immunomodulators, I.I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia, <https://www.orcid.org/0000-0001-9809-4217>

Natalia U. Mertsalova — Cand. Sci. (Biol.), leading researcher, Laboratory of immunomodulators, I.I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia, <https://www.orcid.org/0000-0002-9072-2538>

Irina G. Bazhanova — Cand. Sci. (Biol.), senior researcher, Laboratory of immunomodulators, I.I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia, <https://www.orcid.org/0000-0003-1404-1498>

Author contribution. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published.

The article was submitted 09.12.2020;
accepted for publication 04.02.2021;
published 28.05.2021