

Д.Т. Кубрава¹, А.Ю. Медкова², Л.Н. Синяшина², З.В. Шевцова¹, А.З. Матуа¹, И.Г. Конджария¹,
В.С. Баркая¹, Ж.В. Елистратова¹, Г.И. Каратаев², З.Я. Миквабия¹, А.Л. Гинцбург²

¹ НИИ экспериментальной патологии и терапии Академии наук Абхазии, Сухум

² НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи, Москва, Российская Федерация

Экспериментальный коклюш у обезьян

Несмотря на значительные успехи в изучении факторов вирулентности бактерий *Bordetella pertussis*, патогенез коклюша, длительность персистенции возбудителя, механизмы и типы иммунного ответа до сих пор изучены недостаточно, что объясняется отсутствием адекватной экспериментальной животной модели коклюша. Целью настоящей работы явилась оценка клинико-лабораторных показателей коклюша у разных видов обезьян Старого Света при интраназальном заражении вирулентными бактериями *B. pertussis* и изучение сроков персистенции возбудителя. Для интраназального заражения использовано 14 особей четырех видов обезьян Старого Света. Обследование обезьян включало визуальный осмотр носоглотки, измерение температуры тела, общий и биохимический анализы крови, микробиологическую и молекулярно-генетическую идентификацию бактерий *B. pertussis*, определение параметров врожденного и адаптивного иммунитета. Установлено, что независимо от вида, развитие инфекционного процесса у всех обезьян сопровождалось размножением бактерий *B. pertussis* в верхних дыхательных путях, катаральным воспалением слизистой оболочки носоглотки, лейкоцитозом, характерной для коклюша гипогликемией и активацией факторов врожденного и адаптивного иммунитета. При повторном инфицировании обезьян бактериальную колонизацию носоглотки регистрировали только в первую неделю после заражения при отсутствии воспаления слизистой оболочки верхних дыхательных путей и лабораторных показателей, выявленных при первичной коклюшной инфекции. Наблюдали выраженный бустерный эффект гуморального иммунного ответа. В качестве модели для изучения иммунного ответа при экспериментальном коклюше и персистенции бактерий *B. pertussis* предлагается использовать более доступных для экспериментов обезьян вида макак резус.

Ключевые слова: коклюш, обезьяны, *Bordetella pertussis*, клинико-лабораторные показатели.

28

Введение

Коклюш — антропонозное респираторное инфекционное заболевание, вызываемое бактериями *Bordetella pertussis*, передающееся воздушно-капельным путем. Индекс контагиозности составляет 70–100%. Наиболее тяжело, часто со смертельным исходом, болеют новорожденные и дети раннего возраста. Современное клиническое течение коклюша разделяют на типичные и атипичные формы. Типичные формы коклюша с характерным парок-

сизмальным кашлем встречаются все реже. В атипичных формах коклюш часто протекает у подростков, взрослых, вакцинированных детей и в подавляющем большинстве случаев не диагностируется. Результаты современных эпидемиологических исследований указывают на значительный рост заболеваемости коклюшем взрослых и подростков; отмечено бактерионосительство. Иммунитет при коклюше не является пожизненным и сохраняется после перенесенного заболевания не более 10–15 лет [1, 2]. Специфическую профилактику проводят цельнокле-

D.T. Kubrava¹, A.Yu. Medkova², L.N. Sinyashina², Z.A. Shevtsova¹, A.Z. Matua¹, I.G. Kondzariya¹,
V.S. Barkaya¹, Z.V. Elistratova¹, Z.Ya. Mikvabia¹, A.L. Ginsburg²

¹ Research Institute of Experimental Pathology and Therapy, Abkhazian Academy of Sciences, Sukhum

² Gamaleya Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russian Federation

Experimental Whooping Cough of Nonhuman Primate

Despite considerable success in study of *Bordetella pertussis* virulence factors, pathogenesis of whooping cough, duration of *B. pertussis* bacteria persistence, types and mechanisms of immune response are still keep underinvestigated. It can be explained by the absence of adequate experimental animal model for pertussis study. Our study estimates clinical and laboratory parameters of whooping cough in non-human primates of the Old World in the process of intranasal infection by virulent *B. pertussis* bacteria. Also the duration of *B. pertussis* bacteria persistence in animals was investigated. 14 animal units of 4 species of non-human primates of the Old World were used for intranasal infection. The examination of infect animals included: visual exploration of nasopharynx, thermometry, clinical and biochemical blood analyses, identification of *B. pertussis*, using microbiologic and molecular genetic analyses, estimation of innate and adoptive immune factors. The development of infectious process was accompanied by generation of *B. pertussis* bacteria, catarrhal inflammation of nasopharyngeal mucosa, leucocytosis, hypoglycemia specific for pertussis, and activation of innate and adaptive immunity for all primates regardless of specie were seen. While repeated experimental infection in primates single bacterial colonies were registered during only first week after challenge. It occurs like the absence of inflammation of nasopharyngeal mucosa and the lack of laboratory marks of whooping cough, recorded after first challenge. The evident booster effect of humoral immunity was observed. As a model for investigation of *B. pertussis* bacteria persistence and immune response against whooping cough we suggest the usage of rhesus macaque as more available to experiments.

Key words: whooping cough, non-human primates, *Bordetella pertussis*, clinical and laboratory marks.

точной и бесклеточной АКДС-вакциной, начиная с трехмесячного возраста; ревакцинацию — в возрасте 18 мес. Поствакцинальный иммунитет от коклюша после первичной вакцинации снижается через 5–7 лет, что и вызывает необходимость введения в календарь прививок второй и последующих ревакцинаций, а также разработку удобных для применения более эффективных вакцин [1, 2].

В последние десятилетия достигнуты значительные успехи в изучении вирулентности и протективности бактерий *B. pertussis*. В то же время патогенез заболевания, длительность персистенции возбудителя, механизм и типы иммунного ответа, фазовый состав популяции бактерий и роль авирулентных форм в циркуляции антропонозной инфекции изучены недостаточно, что в первую очередь объясняется отсутствием экспериментальной модели коклюша. Животные коклюшем не болеют, что значительно осложняет разработку адекватной модели инфекции [3]. С начала прошлого века регулярно предпринимались попытки решения этой задачи с использованием разных лабораторных животных — мышей, крыс, поросят, обезьян [3–5]. Мышиная модель, принятая Комитетом экспертов ВОЗ и национальными институтами по стандартизации и контролю медицинских биологических препаратов большинства стран, применяется для оценки безопасности и защитной активности противокклюшных вакцин. Однако использование лабораторных мышей и других животных не дает адекватных результатов для человека при изучении роли отдельных факторов вирулентности возбудителя в патогенезе коклюша и важных иммунологических показателей инфекции. Обезьяны являются наиболее близкой и перспективной моделью для изучения заболевания человека [6]. В 1990 г. была описана вспышка спонтанного коклюша у высших человекообразных обезьян (19 шимпанзе и 2 горилл), живущих в открытом зоологическом парке в Швеции. Заболевание протекало в типичной форме коклюша, сопровождалось приступообразным кашлем, катаральными явлениями в носоглотке и образованием вязкой слизи. В результате заболевания погибла шимпанзе в возрасте 9 мес. Одновременно с обезьянами коклюшем заболели и рабочие по уходу за животными. В первые 7 сут от начала кашля в периферической крови обезьян был определен лейкоцитоз, в более поздние сроки методом иммуноферментного анализа выявили антитела к бактериям *B. pertussis* [4]. Воспроизведение ряда признаков коклюша у низших приматов наблюдали у тайваньских макак при экспериментальном заражении вирулентными коклюшными бактериями [5]: отмечено развитие непароксизмального кашля, лейкоцитоз, катаральные явления с образованием слизи, а также передача бактерий *B. pertussis* другим особям [5]. Однако сведения об использовании этого вида обезьян в качестве модели отсутствуют, вероятно, в связи с их недоступностью. Более 70 лет назад были проведены исследования по изучению возможности моделирования коклюша на макаках резусах [7, 8]. Однако методические приемы тех лет и полученные результаты не позволяют сделать выводы о пригодности этого вида обезьян для экспериментальной работы, поскольку носят противоречивый характер, не содержат деталей постановки опытов (в частности, не указан возраст обезьян).

Цель исследования: установить клинико-лабораторные показатели коклюша у различных видов обезьян Старого Света при интраназальном заражении вирулентными бактериями *B. pertussis* и изучить сроки персистенции возбудителя.

Материалы и методы

Участники исследования

Исследования проводили на базе Сухумского питомника обезьян НИИ экспериментальной патологии и терапии Академии наук Республики Абхазия. Было использовано 14 обезьян 4 видов: 6 макак резусов в возрасте 5 лет и 8 обезьян в возрасте 3 лет — 2 макака резуса, 2 макака яванских, 2 макака японских и 2 павиана гаматрилла. Все обезьяны по клиническим и лабораторным данным находились в состоянии соматического здоровья. Перед заражением и взятием назофарингеальных мазков животных усыпляли внутримышечным введением 0,03–0,04 мл золетила в концентрации 10 мг/мл (с премедикацией ксилазингидрохлоридом в дозе 20 мг/мл). В каждую ноздрю вводили 2×10^9 живых вирулентных бактерий *B. pertussis* 231 в 0,5 мл фосфатного буфера pH 7,0–7,2.

Методы исследования

Обследование для выявления характерных клинико-лабораторных показателей коклюша у обезьян включало: визуальный осмотр носоглотки, измерение температуры тела, принятые при лабораторном подтверждении клинического диагноза клинический и биохимический анализ крови, микробиологическую и молекулярно-генетическую (полимеразная цепная реакция) идентификацию бактерий *B. pertussis*, определение ряда параметров врожденного и адаптивного иммунитета.

Материал для определения колонизации верхних дыхательных путей обезьян бактериями *B. pertussis* и персистенции возбудителя коклюша получали с задней стенки глотки с помощью назофарингеальных тампонов типа Dacron. Бактериологический посев проводили на селективную среду КУА (казеиново-угольный агар) с добавлением 25 мкг/мл ампициллина с последующей идентификацией выросших колоний: микроскопией после окраски по Граму и в реакции агглютинации со специфическими противокклюшными сыворотками к агглютиногенам *B. pertussis* 1.2.3 («Медгамал», ФГБУ НИИЭМ им. Н.Ф. Гамалеи МЗ РФ). Молекулярно-генетическое выявление бактерий *B. pertussis* проводили методом полимеразной цепной реакции с помощью разработанной авторами тест-системы [9].

Гематологические показатели определяли общепринятыми методами [10]. Концентрацию глюкозы в крови обезьян исследовали на анализаторе «BiochemSA» с помощью реагентов фирмы «HUMAN» (Германия). Исследование нейтрофильных гранулоцитов, их поглощательную (% ФАН) и переваривающую способность (% ФПК в спонтанном и стимулированном НСТ-тесте) осуществляли по методическим рекомендациям И.В. Нестеровой и соавт. [11]. Для иммунофенотипирования популяций и субпопуляций лимфоцитов использовали моноклональные антитела к их кластерам дифференцировки по Новикову [12] с наборами «БААКИ» (Беларусь). Содержание общих сывороточных иммуноглобулинов классов М, G и А определяли методом радиальной иммунодиффузии в геле с использованием моноспецифических сывороток («ИмБио», Россия) [13]. Специфические антитела к бактериям возбудителя коклюша изучали в реакции агглютинации с набором «Диагностикума коклюшного жидкого» («ЭКОлаб», Россия). IgG к коклюшному токсину (КТ) и филаментозному гемагглютинину (ФГА) определяли посредством иммуноферментного анализа с помощью набора «Ridascreen» (Германия).

Статистическую обработку данных проводили с помощью программы Microsoft Excel 2007 и стандартных методов статистической обработки [14].

Результаты и обсуждение

В первом эксперименте участвовали 6 макак резусов в возрасте 5 лет. Обезьян обследовали на протяжении 10 мес. После заражения в течение срока наблюдения ни у одной обезьяны не было отмечено внешних признаков нарушения общего состояния здоровья (поведение, аппетит, двигательная активность были в норме), температура тела — в пределах обычных колебаний (37,5–39 °С). Кашля, характерного для коклюша, и рвоты, отмечено не было. В то же время, начиная с 3-х сут и в течение 7–10 дней у обезьян наблюдали катаральные явления верхних дыхательных путей и образование вязкой слизи. С 3-го дня от момента заражения обезьян и в течение последующих 20–22 дней при посеве материала назофарингеальных мазков, взятого с задней стенки глотки, на селективную среду КУА, наблюдали рост типичных колоний возбудителя коклюша, число которых уменьшалось от $3-5 \times 10^2$ на 3–7-й день до единичных колоний на 28-й день наблюдения. При помощи полимеразной цепной реакции ДНК бактерий *B. pertussis* обнаруживали на протяжении 90 дней.

На 7-й день после заражения у всех обезьян было обнаружено увеличение общего числа лейкоцитов с фонового уровня $5,3 \pm 0,7 \times 10^3$ до $15,9 \pm 1,4 \times 10^3$ /мкл (рис. 1) и снижение концентрации глюкозы в периферической крови с $5,1 \pm 0,6$ до $2,3 \pm 0,5$ ммоль/л. Увеличение числа лейкоцитов происходило за счет нейтрофильных гранулоцитов. К 3-му дню наблюдали пик их фагоцитарной активности. Процент активно фагоцитирующих нейтрофилов (% ФАН) повышался до $59,6 \pm 1,6\%$ и к 7–14-му дню возвращался к фоновым значениям ($47 \pm 2\%$). Процент формазанположительных клеток

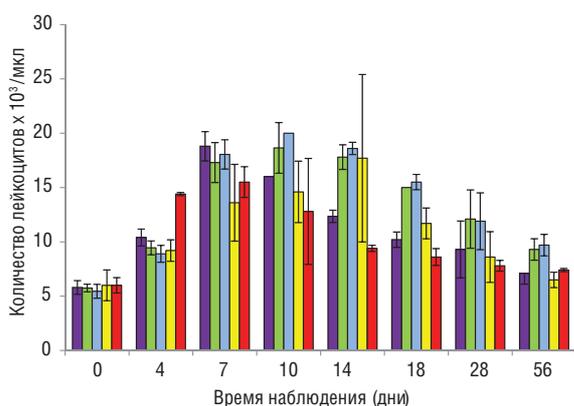


Рис. 1. Динамика изменения количества лейкоцитов в крови обезьян, интраназально инфицированных вирулентными бактериями *B. pertussis* 231.

Примечание. Красным цветом представлены средние значения числа лейкоцитов для 6 особей макак резус в возрасте 5 лет. Фиолетовым, зеленым, синим и желтым цветом представлены результаты для 2 обезьян в возрасте трех лет рода М. резус, М. японский, М. яванских и П. гамадрил, соответственно.

(% ФПК) с кислородзависимым механизмом переваривания бактерий (НСТ-тест) увеличивался в те же сроки в 5 раз (с $1,2 \pm 0,2$ до $6,6 \pm 1,4\%$) и снижался до исходного уровня к 7–14-м сут. Увеличение содержания естественных киллеров (CD16 лимфоцитов) на 15–20% от фоновых значений было выявлено на 7–14-е сут после заражения. К 30-му дню общее число лейкоцитов приходило к норме, однако в лейкоцитарной формуле сохранялся лимфоцитарный сдвиг. При этом на протяжении всего периода наблюдения у инфицированных животных не было установлено достоверной направленности в изменении количественного содержания Т клеток и их субпопуляций. Процент общих CD3⁺ Т лимфоцитов у разных животных варьировал от 40 до 56%, CD4⁺ Т хелперов — от 20 до 33%, CD8⁺ Т-цитотоксических лимфоцитов (ЦТЛ) — от 18 до 30%, что соответствует колебаниям измеряемых параметров у неинфицированных животных [14]. Число CD19⁺ В лимфоцитов к 7–14-м сут увеличивалось на 20–50% и сохранялось на этом уровне до окончания срока наблюдения. Концентрация общих сывороточных иммуноглобулинов постепенно возрастала — с 14-х сут ($9,21 \pm 1,1$ г/л) до 120-х ($17,6 \pm 2,3$ г/л), преимущественно за счет иммуноглобулинов класса G, и оставалась практически неизменной до повторного инфицирования животных. Количество IgM и IgA практически не изменялось на протяжении всего срока наблюдения.

С 14-го дня после заражения в сыворотке крови обезьян в реакции агглютинации определялись противокклюшные антитела в диагностическом титре от 1:500 до 1:1000. К 30-м сут титры возросли до 1:3000 и оставались на этом уровне в течение 60 дней, затем антитела постепенно снижались и к 120–180-м сут составили 1:100–1:200. Методом иммуноферментного анализа на 60-й день у 4 обезьян были идентифицированы IgG к КТ и ФГА в количествах, превосходящих уровень антитоксических антител при лабораторной диагностике коклюша у людей. Интересно отметить, что у двух макак резусов IgG к КТ и ФГА практически отсутствовали (рис. 2).

Через 6 мес после первичного заражения обезьяны были повторно инфицированы вирулентными бактериями *B. pertussis*. После повторного заражения бактериологическим методом возбудитель коклюша обнаруживали только на 1-й нед. В течение более длительного времени, на протяжении 20–30 дней, в носоглоточных мазках выявляли ДНК *B. pertussis* с помощью полимеразной цепной реакции. У повторно зараженных обезьян не наблюдали катаральных явлений в носоглотке, лейкоцитоза и гипогликемии. Пик фагоцитарной активности нейтрофильных гранулоцитов (их поглотительной и переваривающей способности), как и при первичном введении, наблюдали к 3-м сут. Общее число Т клеток и их субпопуляций, а также CD19⁺ В лимфоцитов достоверно не изменялось. После повторного заражения у обезьян развивался выраженный бустерный эффект. Количество антител IgG к КТ и ФГА у всех 6 макак резусов к 7–14-му дню значительно превышало значения, зарегистрированные после первичного заражения (см. рис. 2). Титры противокклюшных антител, определенные в реакции геммагглютинации к 7-м сут, также возросли до 1:6000.

Во втором эксперименте участвовали 8 особей 4 видов низших обезьян Старого Света трехлетнего возраста (макаки резусы, макаки яванские, макаки японские и павианы гамадрилы — по 2 особи каждого вида). Сравнительное изучение чувствительности животных к заражению вирулентными бактериями *B. pertussis* показало, что ни у одной из зараженных обезьян кашель,

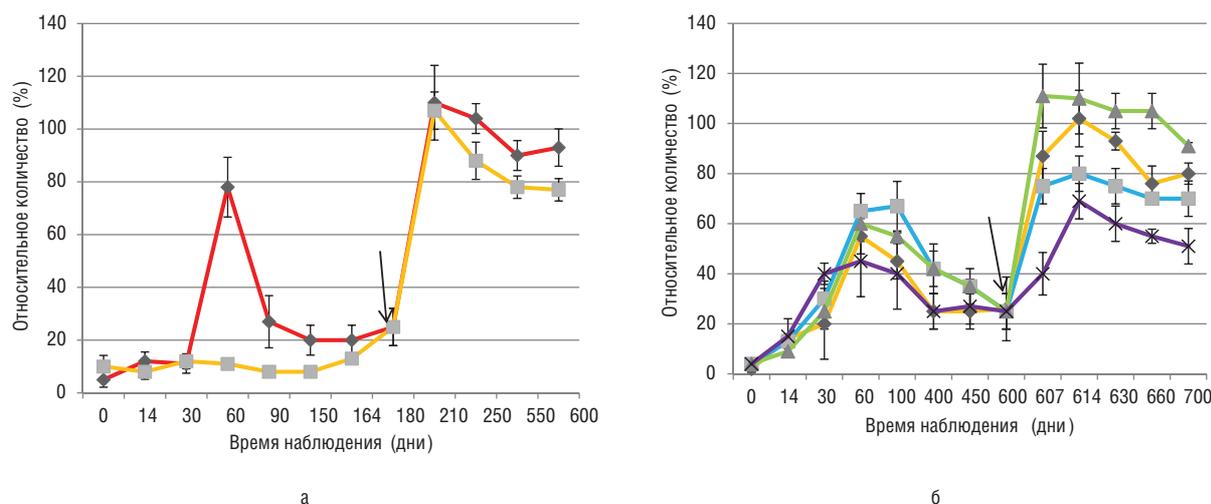


Рис. 2. Динамика изменения относительного количества IgG к КТ + ФГА в развитии инфекционного процесса после однократного и двукратного интраназального введения животным вирулентных бактерий *B. pertussis* 231.

а) на графике представлены значения относительного количества (ОК%) IgG к КТ + ФГА, рассчитанные как среднее значение показателя у 2 (оранжевая линия) и 4 (красная линия) *M. resus* в возрасте 5 лет;

б) на графике представлены значения относительного количества (ОК%) IgG к КТ + ФГА, рассчитанные как среднее значение показателя у 2 обезьян разного рода в возрасте трех лет. Фиолетовым, зеленым, синим и желтым цветом представлены результаты для обезьян рода *M. resus*, *M. японский*, *M. яванских* и *П. гамадрил*, соответственно.

Примечание. Реинфекцию пятилетних макак резус проводили спустя 180 дней после первого заражения. Повторное инфицирование трехлетних обезьян — спустя 600 дней после первого инфицирования. Стрелками на рисунках обозначено время реинфицирования животных. Значение ОК% определялось из соотношения $ОК\%_i = \frac{ОП_i}{ОП_{к+}}$, где $ОП_i$ — оптическая плотность измеряемого образца, $ОП_{к+}$ — оптическая плотность стандартного образца положительной сыворотки человека.

характерный для типичной формы коклюша у людей, выявлен не был. Так же, как и у обследованных ранее пятилетних макак резусов, на 1-й нед после заражения в слизистой оболочке носоглотки трехлеток наблюдали выраженные катаральные явления и образование вязкой слизи. В носоглотке методом полимеразной цепной реакции обнаруживали ДНК *B. pertussis* в течение более чем 30 дней. У всех обезьян с 7-х по 14-е сут после заражения регистрировали выраженный лейкоцитоз (см. рис. 1) и гипогликемию. Динамика изменения параметров врожденного иммунитета и количественное содержание популяций и субпопуляций лимфоцитов, определенные у трехлетних обезьян, сходны с описанными результатами у пятилетних макак резусов. У всех зараженных обезьян в реакции гемагглютинации определены коклюшные антитела в титрах 1:5000–1:6000, а при выполнении иммуноферментного анализа — специфические антитела класса G к КТ и ФГА (см. рис. 2). При повторном заражении вирулентными бактериями *B. pertussis* у трехлетних обезьян так же, как и у пятилетних макак резусов, наблюдали выраженный бустерный эффект гуморального ответа (см. рис. 2б); не выявлено катаральных явлений в носоглотке, лейкоцитоза и гипогликемии.

Основными преимуществами экспериментальной модели бактериальных и вирусных инфекций у обезьян по сравнению с другими животными, в частности с мышинной моделью, являются филогенетическое родство обезьяны и человека и максимальная адекватность параметров их иммунного ответа и изменений показателей клинического и биохимического анализа крови в ответ на перенесенную инфекцию и/или вакцинацию [6]. Учитывая это обстоятельство, изучение патогенеза коклюша и реакции организма в ответ на инфекцию

и вакцинацию, персистенцию возбудителя и передачу бактерий *B. pertussis* новому хозяину, по-видимому, наиболее эффективно проводить в экспериментах с обезьянами, если они окажутся достаточно чувствительными к изучаемой инфекции. Полученные нами данные демонстрируют чувствительность обезьян Старого Света к интраназальному инфицированию вирулентными бактериями возбудителя коклюша и перспективность выбора обезьян в качестве экспериментальной модели для решения поставленных задач.

У обезьян в возрасте 3–5 лет, независимо от вида, при интраназальном заражении вирулентными бактериями *B. pertussis* наблюдали характерные для коклюшной инфекции клинические проявления, несмотря на то, что пароксизмальный кашель зарегистрирован не был. В течение 7 дней после заражения происходила колонизация носоглотки коклюшными бактериями, наблюдали катаральные воспаления слизистой оболочки верхних дыхательных путей и образование вязкой слизи. Развитие инфекционного процесса подтверждалось в лабораторных тестах лейкоцитозом с последующим сдвигом лейкоцитарной формулы в сторону лимфоцитоза, гипогликемией, активацией факторов врожденного иммунитета. Наблюдалась активация В-звена иммунной системы: увеличение процентного содержания CD19⁺ В-клеток, концентрации общих иммуноглобулинов и выработка специфических противокклюшных антител. После первичного заражения вирулентными бактериями 6 пятилетних макак резусов у 2 из них не обнаружили специфических IgG к КТ и ФГА, в то время как общие противокклюшные антитела в реакции гемагглютинации были определены у всех обезьян в одинаково высоком титре. При повторном заражении всех обезьян единичные колонии бактерий

B. pertussis обнаружили только в 1-ю нед после заражения, отсутствовали катаральное воспаление слизистой оболочки носоглотки животных и изменения лабораторных показателей, выявленные после первичного заражения. При повторном заражении у всех обезьян особенно ярко проявилась бустерная активация выработки специфических антител к ФГА и КТ — основным протективным антигенам возбудителя коклюша.

32 Определенные нами показатели экспериментального коклюша у обезьян разных видов в возрасте от 3 до 5 лет соответствовали клиническим и лабораторным показателям коклюша, протекающего у людей в атипичных формах, у вакцинированных детей до 1 года, а также у подростков и взрослых [1]. Поскольку нами не было установлено значимых отличий в реакции разных видов взрослых обезьян на экспериментальную коклюшную инфекцию, представленные результаты позволяют заключить, что изучение иммунного ответа при коклюше, поствакцинального иммунитета, персистенции бактерий *B. pertussis* можно проводить на модели любого из изученных видов обезьян Старого Света. Предпочтение может быть отдано хорошо адаптированным к размножению в питомниках и более доступным для работы макакам резусам. Однако клинические проявления и лабораторные показатели моделирования экспериментального коклюша на обезьянах могут зависеть не только от их вида, но и от возраста. Наши наблюдения и данные литературы предполагают возможность развития типичной формы коклюша с пароксизмальным кашлем в случае использования детенышей любого из исследованных видов обезьян, например павианов гамадрилов и их близких родственников — павианов анубисов, при заражении которых бактериями *B. pertussis* судорожный кашель был зарегистрирован в экспериментах J.M. Worfell и соавт. [15]. Возможность наблюдения клинических проявлений коклюша в типичных формах у детенышей обезьян позволит приступить к выяснению роли отдельных факторов вирулентности *B. pertussis* в патогенезе коклюша и циркуляции возбудителя инфекции. В то же время продемонстрированные иммунные реакции и оцененные клинико-лабораторные показатели экспериментальной инфекции обезьян, соответствующие атипичным формам

коклюша, позволяют считать, что взрослые, наиболее доступные для эксперимента животные, могут быть уже в настоящее время использованы для изучения эффективности и безвредности противокклюшных вакцин на стадии их доклинических испытаний.

Заключение

Экспериментальное интраназальное заражение 3-5-летних обезьян Старого Света вирулентными бактериями *B. pertussis* приводит к формированию характерных для коклюша клинико-лабораторных показателей заболевания, за исключением пароксизмального кашля. Зарегистрирована длительная персистенция бактерий *B. pertussis* в организме инфицированных обезьян независимо от их вида и возраста.

Однократное заражение вирулентными бактериями *B. pertussis* приводит к выработке специфических антител IgG к КТ и ФГА у большинства животных. При повторном инфицировании обезьян бактериальную колонизацию носоглотки регистрировали только в первую неделю после заражения, при отсутствии воспаления слизистой оболочки верхних дыхательных путей и лабораторных показателей, выявленных при первичной коклюшной инфекции. У всех обезьян наблюдалась бустерная активация выработки специфических антител против ФГА и КТ — основных протективных антигенов возбудителя коклюша. Определенные нами показатели экспериментального коклюша у обезьян разных видов в возрасте от 3 до 5 лет соответствуют клиническим и лабораторным показателям коклюша, протекающего у людей в атипичных формах, у вакцинированных детей, а также у подростков и взрослых.

В качестве модели для изучения иммунного ответа при экспериментальном коклюше и персистенции бактерий *B. pertussis* предлагается использовать более доступных для экспериментов обезьян вида макака резус.

Определены перспективы развития и использования экспериментальной модели коклюша для изучения роли отдельных факторов вирулентности *B. pertussis* в патогенезе заболевания и персистенции его возбудителя.

REFERENCES

1. Timchenko V.N. *Infektsionnye bolezni u detei* [Infectious Diseases in Children]. St. Petersburg, SpetsLit, 2006. 87–96 pp.
2. Skerry C.M., Cassidy J.P. English K., Feunou-Feunou P., Loch C., Mahon B.P. *Clin. Vac. Immunol.* 2009; 16 (9): 1344–1351.
3. Elachi, Sh., Holmstrom J., Gerdt V. *TRENDS Microbiol.* 2007; 15 (10): 462–468.
4. Gustavsson O.E.A., Roken B.O., Serrander R. *Folia Primatol.* 1990; 55: 45–50.
5. Huang C.C., Chen P.M., Kuo J.K. Chiu W.H., Lin S.T., Lin H.C., Lin Y.C. *New Engl. J. Med.* 1962; 266 (18): 107–111.
6. Lapin B.A., Dzhikidze E.K., Shevtsova Z.V., Stasilevich Z.N. *Modelirovanie infektsionnykh zabolevaniy cheloveka na laboratornykh primatakh* [Modeling of Human Infectious Diseases on Laboratory Nonhuman Primates]. Sochi, 2011. pp. 74–75.
7. Culotta C.S., Harvey D.F., Gordon E.F. *J. Pediatr.* 1935; 6: 743–752.
8. North E.A., Keogh E.V., Christie R., Anderson G. *Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci.* 1940; 18: 125–130.
9. Medkova A.Yu., Alyapkina Yu.S. etc. *Detskie infektsii — Children's infections.* 2010; 4: 19–22.
10. Oslopova V.N., Sabikova A.R., Abdulkhakova R.A. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika. 3-e izd.* [Clinical Laboratory Diagnostics. 3rd edition]. Moscow, MEDpress-inform, 2005. 64 p.
11. Nesterova I.V., Kolesnikova N.V. *Metodicheskie rekomendatsii — Methodical Recommendations.* 1996; 9(6/11): 22.
12. Novikov P.D. *Immunopatologiya, allergologiya, infektologiya - Immunopathology, allergology, infectology.* 2000; 1: 62–66.
13. Frimel' G.M. *Immunologicheskie metody* [Immunological Methods]. Moscow, Meditsina, 1987. pp. 82–88.
14. Glants S. *Mediko-biologicheskaya statistika* [Biomedical Statistics]. Moscow, Praktika, 1999.
15. Warfel J.M., Beren J., Kelly V.K., Lee G., Merkel T.J. *Inf. Immun.* 2012; 80 (4):1530–1536.

FOR CORRESPONDENCE

Gintsburg Aleksandr Leonidovich, PhD, professor, member of RAMS, Director of N. F. Gamalei Research Institute of Epidemiology and Microbiology.

Address: 123098, Moscow, Gamalei St., 18; **tel.:** (499) 193-30-01, **e-mail:** info@gamaleya.org

Karataev Gennadii Ivanovich, PhD, leading research scientist, team leader of Molecular Biology of Pathogenic Microorganisms of N. F. Gamalei Research Institute of Epidemiology and Microbiology.

Address: 123098, Moscow, Gamalei St., 18; **tel.:** (499) 193-61-90, **e-mail:** karatae vgi@rambler.ru

Sinyashina Lyudmila Nikolaevna, MD, senior research scientist of the group of Molecular Biology of Pathogenic Microorganisms of N. F. Gamalei Research Institute of Epidemiology and Microbiology.

Address: 123098, Moscow, Gamalei St., 18; **tel.:** (499) 193-61-90, **e-mail:** karataevgi@rambler.ru

Medkova Alisa Yur'evna, MD, research scientist of the group of Molecular Biology of Pathogenic Microorganisms of N. F. Gamalei Research Institute of Epidemiology and Microbiology.

Address: 123098, Moscow, Gamalei St., 18; **tel.:** (499) 193-61-90, **e-mail:** baburida@yandex.ru

Mikvabiya Zurab Yasonovich, cor. member of RANS, Director of Research Institute of Experimental Pathology and Therapy of Abkhazian Academy of Sciences.

Address: 384900, Abkhazia, Sukhumi, Trapetsiya Gora St., 27; **tel.:** (840) 226-77-58, **e-mail:** niiepit@rambler.ru

Shevtsova Zinaida Vsevolodovna, PhD, professor, member of RANS, Head of the Laboratory of Immunology and Virology of Research Institute of Experimental Pathology and Therapy of Abkhazian Academy of Sciences.

Address: 384900, Abkhazia, Sukhumi, Trapetsiya Gora St., 27; **tel.:** (840) 226-88-70, **e-mail:** niiepit@rambler.ru

Barkaya Vladimir Spiridonovich, MD, professor, deputy director for science, Head of the Laboratory of Experimental Hematology of Research Institute of Experimental Pathology and Therapy of Abkhazian Academy of Sciences.

Address: 384900, Abkhazia, Sukhumi, Trapetsiya Gora St., 27; **tel.:** (840) 226-77-52, **e-mail:** vladbarnii@rambler.ru

Kondzhariya Irina Georgievna, MD, associate professor, senior research scientist of the Laboratory of Immunology and Virology of Research Institute of Experimental Pathology and Therapy of Abkhazian Academy of Sciences.

Address: 384900, Abkhazia, Sukhumi, Trapetsiya Gora St., 27; **tel.:** (840) 226-77-52, **e-mail:** niiepit@rambler.ru

Matua Alisa Zaurovna, MD, associate professor, senior research scientist of the Laboratory of Immunology and Virology of Research Institute of Experimental Pathology and Therapy of Abkhazian Academy of Sciences.

Address: 384900, Abkhazia, Sukhumi, Trapetsiya Gora St., 27; **tel.:** (840) 226-77-52, **e-mail:** azmatua76@mail.ru

Elistratova Zhanetta Vladimirovna, senior research scientist of the Laboratory of Experimental Hematology of Research Institute of Experimental Pathology and Therapy of Abkhazian Academy of Sciences.

Address: 384900, Abkhazia, Sukhumi, Trapetsiya Gora St., 27; **tel.:** (840) 226-77-52, **e-mail:** blacksea1942@bk.ru

Kubrava Dzheni Tamazovna, postgraduate of Abkhazian Academy of Sciences, Research Institute of Experimental Pathology and Therapy of Abkhazian Academy of Sciences.

Address: 384900, Abkhazia, Sukhumi, Trapetsiya Gora St., 27; **tel.:** (840) 226-77-52, **e-mail:** jenny-vanacha@yandex.ru