



МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ - СОФИЯ

МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ

КАТЕДРА ПО ПЕДИАТРИЯ

д-р Илия Атанасов Мангърров

**Антитела срещу Бордетела пертусис
при родилки и техните новородени деца**

ДИСЕРТАЦИЯ

за присъждане на образователна и научна степен “Доктор”

Област на висше образование: „Здравеопазване и спорт”

Професионално направление: „Медицина”

Научна специалност: „Педиатрия”

НАУЧЕН РЪКОВОДИТЕЛ:

Доц. д-р Ралица Вилсон Георгиева, дм

София, 2020 г.

Работата по докторантурата ми започна през 2016 г. и искам да благодаря на много хора.

Научен ръководител

Сърдечна благодарност на доц. д-р Ралица Вилсон Георгиева за нейната всеотдайна помощ, конструктивни предложения, отзивчивост и професионализъм.

Катедра по Педиатрия

Благодаря и на всички колеги от Катедра по педиатрия и специално на колегите от Клиниката по неонатология, които бяха винаги до мен и ме подкрепяха, помагаша и съветваха.

Първа специализирана акушеро-гинекологична болница за активно лечение „Света София“

Благодаря на колегите от родилна зала и от неонатологично отделение за предоставената възможност за събиране на данни.

Лаборатория по Клинична имунология – УБ Лозенец, София

Благодаря на д-р Цветелина Великова за оказаната помощ при извършване на серодиагностиката.

Съавтори

Благодаря и на всички съавтори в статиите: доц. Р. Георгиева, проф. К. Вутова, гл. ас. д-р Д. Влахова, д-р В. Велев, д-р Д. Дянкова, д-р С. Симеонова, д-р В. Данкова, д-р М. Павлова, д-р В. Томова, д-р Е. Николова.

СЪДЪРЖАНИЕ

I. ЛИТЕРАТУРЕН ОБЗОР	9
1. Въведение	9
2. История	9
3. Видове коклюшни ваксини	12
4. Възвръщане на коклюша	13
5. Преминаване от <i>wP</i> към <i>aP</i> ваксини	17
6. Имунологични аспекти на коклюша и коклюшните ваксини	20
7. Коклюш в страните от ЕС/ЕИП	24
8. Данни за България	29
9. Хипотези за възвръщането на коклюша в ерата на ацелуларните ваксини	33
9.1. Подобро откритие (диагностика)	33
9.2. Ниско ваксинално покритие	36
9.3. Отказ от ваксини	37
9.4. Слабо персистиране на антителата	39
9.5. Еволюционни промени засягащи <i>B. pertussis</i>	41
9.6. Трансплацентарни антитела	44
10. Стратегии за превенция и подобряване на контрола на заболяемостта	45
11. Заключение	51
II. ЦЕЛ И ЗАДАЧИ	53
1. Цел	53
2. Задачи	54
III. МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ	55
1. Дизайн на проучването	55
2. Провеждане на анкета	56
3. Лабораторни методи	57
3.1. Принцип на метода	57
3.2. Изпълнение на метода	58
3.3. Интерпретация на резултатите	59
4. Статистически методи	59
IV. РЕЗУЛТАТИ	61
1. Резултати от анкетата	61
2. Подбор на участниците	63
3. Възраст на майката	64
4. Пол на новородените	64
5. Начин на раждане	66
6. Гестационна възраст на новородените	66
7. Телесно тегло на новородените	67
8. Anti-PT IgG нива	68
8.1. Anti-PT IgG нива на майките	68
8.2. Anti-PT IgG нива на новородените	72
8.3. Общо двойки майка-новородено	76
8.4. Двойки майка-доносено новородено	82
8.5. Двойки майка-недоносено новородено	87
9. Трансплацентарен трансфер на антителата	92
10. Потенциално защитни титри на антителата	95
10.1. Anti-PT IgG ≥ 5 IU/ml	95
10.2. Anti-PT IgG ≥ 10 IU/ml	96
11. Екстраполиране на антителата при новородените на 6 седмична възраст	99
12. Честота на инфекцията сред жени в детеродна възраст	100
13. Сравнителен анализ с други държави	100
14. Стратегия за борба с коклюша	101

14.1.	Пашкул.....	101
14.2.	Следродова ваксинация „частичен пашкул“	102
14.3.	Имунизация по време на бременността.....	102
V.	ДИСКУСИЯ	104
VI.	ИЗВОДИ	112
VII.	ПРИНОСИ НА ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД.....	113
VIII.	ПУБЛИКАЦИИ ВЪВ ВРЪЗКА С ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД.....	114
IX.	ЛИТЕРАТУРА	115
X.	ПРИЛОЖЕНИЯ	127
1.	Приложение 1 – Информирано съгласие.....	127
2.	Приложение 2 – Анкетна карта	130

Съкращения

г.с.	гестационна седмица
ЕИП	Европейското икономическо пространство
ЕС	Европейски съюз
ПЛС	Позитивен лекарствен списък
САЩ	Съединени американски щати
СЗО	Световна здравна организация
ABD	Apnea, bradycardia and desaturation – Апнея, брадикардия и десатурация
АС	Adenilate cyclase – аденилат циклаза
АСИР	Advisory Committee on Immunization Practices
<i>aP</i>	ацелуларна коклюшна ваксина
BCG	Bacillus Calmette–Guérin vaccine - противотуберкулозна ваксина
BPZE1	attenuated live Bordetella pertussis vaccine – атенюирана жива коклюшна ваксина
CDC	Center for Disease Control
DTwP	дифтерия, тетанус и целоклетъчна коклюшна ваксина
DTaP	дифтерия, тетанус и ацелуларна коклюшна ваксина за деца
ELBW	extremely low birth weight - екстремно ниско тегло при раждането
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay - Ензимно свързан имуносорбентен анализ
FcRn	neonatal Fc receptor – неонатален Fc рецептор
FHA	filamentous hemagglutinin – филаментозен хемаглутинин
FIM 2	fimbriae protein type 2 - фимбриен протеин тип 2
FIM 3	fimbriae protein type 3 - фимбриен протеин тип 3
GMC	geometric mean concentration - геометрична средна концентрация
GPI	Global Pertussis Initiative
HBV	Hepatitis B virus – хепатит Б вирус
HiB	Haemophilus influenzae type B – Хемофилус инфлуенце тип Б
HIV	Human immunodeficiency viruses
IgG	Imunoglobulin G - имуноглобулин Г
IPV	Inactivated poliovirus vaccine – инактивирана полиовирусна ваксина
IU/ml	International Units per millilitre
LPS	Lipopolysaccharides – липополизахариди
PCR	Polymerase Chain Reaction – Полимеразна верижна реакция
PRN	pertactin - пертактин
PT	pertussis toxin - пертусис токсин
Td	tetanus, diphtheria – тетанус, дифтерия
Tdap	тетанус, дифтерия и ацелуларна коклюшна ваксина за възрастни
Th1	T -helpers 1 – Т - хелпъри тип 1
Th17	T- helpers 17 - Т - хелпъри 17
Th2	T- helpers 2 - Т- хелпъри тип 2
TRL2	Toll-like receptor 2
<i>wP</i>	целоклетъчна коклюшна ваксина

Фигури

ФИГУРА 1. Брой на случаите на коклюш докладвани в CDC от 1922 до 2017..	13
ФИГУРА 2. ЗАБОЛЕВАЕМОСТ ОТ КОКЛЮШ В САЩ ПРЕЗ 1990 – 2017.	14
ФИГУРА 3. ПОТВЪРДЕНИ СЛУЧАИ НА КОКЛЮШ ВЪВ ВЕЛИКОБРИТАНИЯ ЗА ПЕРИОДА 2002-2017.	14
ФИГУРА 4. ТЕНДЕНЦИЯ И БРОЙ СЪОБЩЕНИ СЛУЧАИ НА КОКЛЮШ В ЕС/ЕИП ЗА ПЕРИОДА 2011-2015	15
ФИГУРА 5. ЕКСПЕРИМЕНТАЛНО ВЪЗДЕЙСТВИЕ НА AP И WP ВАКСИНИ.	21
ФИГУРА 6. ЕКСПЕРИМЕНТАЛНО ВЪЗДЕЙСТВИЕ НА AP ВАКСИНАТА.	23
ФИГУРА 7. ПОТВЪРДЕНИ СЛУЧАИ В ЕС, ВКЛ. БЪЛГАРИЯ, ЗА 2013 И 2017.	24
ФИГУРА 8. ЗАБОЛЕВАЕМОСТ В ЕС, ВКЛ. БЪЛГАРИЯ, ЗА ПЕРИОДА 2013-2017.	25
ФИГУРА 9. ИМУНИЗАЦИОНЕН СТАТУС НА ПОТВЪРДЕНИТЕ СЛУЧАИ.	26
ФИГУРА 10. СЛУЧАИ НА КОКЛЮШ В САЩ И УК.	27
ФИГУРА 11. ЗАБОЛЕВАЕМОСТ В САЩ И УК.	27
ФИГУРА 12. ЗАБОЛЕВАЕМОСТ В 10 ЦЕНТРАЛНО И ИЗТОЧНО ЕВРОПЕЙСКИ СТРАНИ 2003-2013.	28
ФИГУРА 13. ДАННИ ЗА РЕГИСТРИРАНИТЕ СЛУЧАИ НА КОКЛЮШ ЗА БЪЛГАРИЯ ЗА ПЕРИОДА 1903 -2018	29
ФИГУРА 14. Брой заболели мъже и жени за периода 2010-2018.	30
ФИГУРА 15. ВАКСИНАЦИЯ СПОРЕД ИМУНИЗАЦИОННИЯ КАЛЕНДАР НА РЕПУБЛИКА БЪЛГАРИЯ.	30
ФИГУРА 16. Брой заболели мъже и жени до 19 години за периода 2010-2018.	31
ФИГУРА 17. ОБЩО ЗАБОЛЕЛИ МЪЖЕ И ЖЕНИ ПО ВЪЗРАСТОВИ ГРУПИ ЗА ПЕРИОДА 2010-2018.	31
ФИГУРА 18. ОБЩО ЗАБОЛЕЛИ ПО ВЪЗРАСТОВИ ГРУПИ (ПЕРИОД 2010-2018).	32
ФИГУРА 19. ОБЩО ЗАБОЛЕЛИ МЪЖЕ И ЖЕНИ ДО 9 ГОДИШНА ВЪЗРАСТ ЗА ПЕРИОДА 2010-2018.	32
ФИГУРА 20. ОБЩА ЗАБОЛЕВАЕМОСТ ЗА ДВАТА ПОЛА ПО ВЪЗРАСТ ЗА ПЕРИОДА 2010-2018.	33
ФИГУРА 21. Брой лабораторно потвърдени случаи в УК за 2009-2018.	34
ФИГУРА 22. ЧЕСТОТА НА КОКЛЮШ В УК, ПО ВЪЗРАСТОВА ГРУПА, 1998–2018	35
ФИГУРА 23. ВАКСИНАЛНО ПОКРИТИЕ ЗА БЪЛГАРИЯ СПОРЕД ДАННИ НА СЗО.	37
ФИГУРА 24. ПРОУЧВАНЕ НА ОТНОШЕНИЕТО КЪМ ВАКСИНИТЕ СРЕД 27524 ЖИТЕЛИ НА ЕС	38
ФИГУРА 25. НАЙ-ЧЕСТО СРЕЩАНИТЕ ОТГОВОРИ НА ВЪПРОСА „ЗАЩО НЕ СТЕ СЕ ВАКСИНИРАЛИ?“	39
ФИГУРА 26. ЗАБОЛЕВАЕМОСТ ОТ КОКЛЮШ ПРИ ИЗПОЛЗВАНЕ НА AP ИЛИ WP ВАКСИНИ	43
ФИГУРА 27. КАЛИБРАЦИОННА КРИВА.	59
ФИГУРА 28. ДВОЙКИ УЧАСТНИЦИ В ПРОУЧВАНЕТО.	63
ФИГУРА 29. РАЗПРЕДЕЛЕНИЕ НА МАЙКИТЕ ПО ГОДИНИ.	64
ФИГУРА 30. РАЗПРЕДЕЛЕНИЕ НА НОВОРОДЕНИТЕ ПО ПОЛ И ГРУПИ.	65
ФИГУРА 31. НАЧИН НА РАЖДАНЕ.	66
ФИГУРА 32. ТЕЛЕСНО ТЕГЛО НА ДОНОСЕНИ НОВОРОДЕНИ.	67
ФИГУРА 33. ТЕЛЕСНО ТЕГЛО НА НЕДОНОСЕНИ НОВОРОДЕНИ.	67
ФИГУРА 34. ПРОЦЕНТНО СЪОТНОШЕНИЕ НА ANTI-PT IGG СТОЙНОСТИТЕ НА МАЙКИТЕ.	72
ФИГУРА 35. РАЗПРЕДЕЛЕНИЕ НА ANTI-PT IGG ПО ДВОЙКИ МАЙКА-НОВОРОДЕНО.	76
ФИГУРА 36. РАЗПРЕДЕЛЕНИЕ НА 10 ДВОЙКИ МАЙКА-НОВОРОДЕНО С ANTI-PT IGG ≥ 40 - < 99 IU/ML	77
ФИГУРА 37. РАЗПРЕДЕЛЕНИЕ НА 197 ДВОЙКИ МАЙКА-НОВОРОДЕНО С ANTI-PT IGG < 40 IU/ML	77
ФИГУРА 38. КОРЕЛАЦИЯ НА ANTI-PT IGG СПРЯМО ГЕСТАЦИОННА ВЪЗРАСТ НА 197 ДВОЙКИ.	78
ФИГУРА 39. КОРЕЛАЦИЯ НА ANTI-PT IGG НА НОВОРОДЕНИ СПРЯМО МАЙКИ.	80
ФИГУРА 40. РАНГОВ КОРЕЛАЦИОНЕН КОЕФИЦИЕНТ НА SPEARMAN'S RHO ЗА ANTI-PT IGG НА МАЙЧИНИТЕ СТОЙНОСТИ СПРЯМО СТОЙНОСТИТЕ НА НОВОРОДЕНИТЕ	81
ФИГУРА 41. ПРОЦЕНТНО СЪОТНОШЕНИЕ НА ДВОЙКИ МАЙКА-НОВОРОДЕНО С ANTI-PT IGG < 10 IU/ML	81
ФИГУРА 42. ПРОЦЕНТНО СЪОТНОШЕНИЕ НА ДВОЙКИ МАЙКА-НОВОРОДЕНО С ANTI-PT IGG ≥ 10 IU/ML	82
ФИГУРА 43. РАНГОВ КОРЕЛАЦИОНЕН КОЕФИЦИЕНТ НА SPEARMAN'S RHO ЗА ANTI-PT IGG НА МАЙЧИНИТЕ СТОЙНОСТИ СПРЯМО СТОЙНОСТИТЕ НА ДОНОСЕНИ	83
ФИГУРА 44. 109 ДВОЙКИ МАЙКА-ДОНОСЕНО С ANTI-PT IGG < 10 IU/ML	85
ФИГУРА 45. РАЗПРЕДЕЛЕНИЕ НА 109 ДОНОСЕНИ С ANTI-PT IGG < 10 IU/ML СПРЯМО ГЕСТАЦИОННАТА СЕДМИЦА	85
ФИГУРА 46. РАЗПРЕДЕЛЕНИЕ НА 109 МАЙКИ НА ДОНОСЕНИ С ANTI-PT IGG < 10 IU/ML СПРЯМО ВЪЗРАСТТА ИМ.	86
ФИГУРА 47. ПРОЦЕНТНО СЪОТНОШЕНИЕ НА ДВОЙКИ МАЙКА-ДОНОСЕНО С ANTI-PT IGG < 10 IU/ML	86

ФИГУРА 48. РАНГОВ КОРЕЛАЦИОНЕН КОЕФИЦИЕНТ НА SPEARMAN'S RHO ЗА ANTI-PT IGG НА МАЙЧИНИТЕ СТОЙНОСТИ СПРЯМО СТОЙНОСТИТЕ НА НЕДОНОСЕНИ.	88
ФИГУРА 49. 28 ДВОЙКИ МАЙКА-НЕДОНОСЕНО С ANTI-PT IGG <10 IU/ML.....	89
ФИГУРА 50. РАЗПРЕДЕЛЕНИЕ НА 28 НЕДОНОСЕНИ С ANTI-PT IGG <10 IU/ML СПРЯМО ГЕСТАЦИОННАТА СЕДМИЦА.....	90
ФИГУРА 51. РАЗПРЕДЕЛЕНИЕ НА 28 МАЙКИ НА НЕДОНОСЕНИ С ANTI-PT IGG <10 IU/ML СПРЯМО ВЪЗРАСТТА ИМ.	90
ФИГУРА 52. ПРОЦЕНТНО СЪОТНОШЕНИЕ НА ДВОЙКИ МАЙКА-НЕДОНОСЕНО С ANTI-PT IGG < 10 IU/ML	91
ФИГУРА 53. МНОГОВАРИАНТЕН РЕГРЕСИОНЕН АНАЛИЗ АНАЛИЗ НА СЪОТНОШЕНИЕТО ANTI-PT IGG НОВОРОДЕНО/МАЙКА СПРЯМО ГЕСТАЦИОННАТА СЕДМИЦА	94
ФИГУРА 54. ПЛАЦЕНТАРЕН ТРАНСФЕР НА ВСИЧКИ ДВОЙКИ ПО ГЕСТАЦИОННА СЕДМИЦА.....	95
ФИГУРА 55. ПРОЦЕНТНО СЪОТНОШЕНИЕ НА МАЙКИ И НОВОРОДЕНИ С ANTI-PT IGG ≥ 10 IU/ML.....	96
ФИГУРА 56. ПОЗИТИВИРАНЕ НА ТРАНСПЛАЦЕНТАРНИЯ ТРАНСПОРТ СПОРЕД ГЕСТАЦИОННАТА СЕДМИЦА. .	98
ФИГУРА 57. ЕКСТРАПОЛАЦИЯ НА ANTI-PT IGG GMC НА НОВОРОДЕНИТЕ НА 6 СЕДМИЧНА ВЪЗРАСТ.	100

Таблицы

ТАБЛИЦА 1. Основни разлики между wP ваксина и aP ваксина.....	20
ТАБЛИЦА 2. ИМУНИЗАЦИОНЕН ОБХВАТ С КОКЛЮШНА ВАКСИНА, ПО ПРИЕМИ И ЗА ПЕРИОДА 1993-2009 ...	37
ТАБЛИЦА 3. СРЕДНА ВЪЗРАСТ НА МАЙКИТЕ	61
ТАБЛИЦА 4. СРЕДНО ТЕГЛО НА НОВОРОДЕНИТЕ	61
ТАБЛИЦА 5. НИВА НА ANTI-PT IGG И НАЛИЧИЕ НА КАШЛИЦА ПРИ МАЙКАТА.	62
ТАБЛИЦА 6. НИВА НА ANTI-PT IGG И НАЛИЧИЕ НА КАШЛИЦА В ДОМАКИНСТВОТО.....	62
ТАБЛИЦА 7. ТИТЪР НА АНТИТЕЛАТА ПРИ МЪЖКИ И ЖЕНСКИ ПОЛ.....	64
ТАБЛИЦА 8. СРЕДНА ГЕСТАЦИОННА ВЪЗРАСТ НА НОВОРОДЕНИТЕ.....	66
ТАБЛИЦА 9. ДЕМОГРАФСКИ ХАРАКТЕРИСТИКИ НА ДОНОСЕНИ И НЕДОНОСЕНИ.	67
ТАБЛИЦА 10. GMC ANTI-PT IGG СТОЙНОСТИ НА МАЙКИТЕ.	68
ТАБЛИЦА 11. РАЗПРЕДЕЛЕНИЕ НА ANTI-PT IGG СТОЙНОСТИТЕ НА МАЙКИТЕ ПО ВЪЗРАСТ	69
ТАБЛИЦА 12. БРОЙ МАЙКИ (НА ДОНОСЕНИ), РАЗПРЕДЕЛЕНИ ПО ANTI-PT IGG СТОЙНОСТИ.....	70
ТАБЛИЦА 13. БРОЙ МАЙКИ (НА НЕДОНОСЕНИ), РАЗПРЕДЕЛЕНИ ПО ANTI-PT IGG СТОЙНОСТИ.	70
ТАБЛИЦА 14. ИНТЕРПРЕТАЦИЯ НА РЕЗУЛТАТИТЕ СПОРЕД ИНСТРУКЦИИТЕ НА ПРОИЗВОДИТЕЛЯ НА КИТА. ..	71
ТАБЛИЦА 15. СРЕДНИ СТОЙНОСТИ НА ANTI-PT IGG НА НОВОРОДЕНИТЕ.....	73
ТАБЛИЦА 16. СРЕДНИ СТОЙНОСТИ НА ANTI-PT IGG НА НОВОРОДЕНИТЕ ПО ГЕСТАЦИОННА СЕДМИЦА.	73
ТАБЛИЦА 17. РАЗПРЕДЕЛЕНИЕ НА БРОЙ НОВОРОДЕНИ ПО ГЕСТАЦИОННА ВЪЗРАСТ, ПОЛ И СТОЙНОСТ НА ANTI-PT IGG.....	74
ТАБЛИЦА 18. ОБЩ БРОЙ НА ДОНОСЕНИ И НЕДОНОСЕНИ НОВОРОДЕНИ СПРЯМО СТОЙНОСТИТЕ НА ANTI-PT IGG.....	75
ТАБЛИЦА 19. GMC ANTI-PT IGG СТОЙНОСТИ НА НОВОРОДЕНИТЕ.	75
ТАБЛИЦА 20. ПРОЦЕНТНО СЪОТНОШЕНИЕ НА ДВОЙКИТЕ МАЙКА-НОВОРОДЕНО СПРЯМО ANTI-PT IGG.....	78
ТАБЛИЦА 21. GMC СТОЙНОСТИ НА МАЙКИТЕ И НОВОРОДЕНИТЕ.	79
ТАБЛИЦА 22. ANTI-PT IGG < 40 IU/ML И > 40 IU/ML ПРИ ДОНОСЕНИ И НЕДОНОСЕНИ НОВОРОДЕНИ	79
ТАБЛИЦА 23. ДВОЙКИ МАЙКА-ДОНОСЕНО СЪС СТОЙНОСТ ANTI-PT IGG ≥ 100 IU/ML.....	83
ТАБЛИЦА 24. ДВОЙКИ МАЙКА-ДОНОСЕНО СЪС СТОЙНОСТ ANTI-PT IGG ≥ 40 - <99 IU/ML.....	84
ТАБЛИЦА 25. ПРОЦЕНТНО СЪОТНОШЕНИЕ НА ДВОЙКИТЕ МАЙКА-ДОНОСЕНО СПРЯМО ANTI-PT IGG.....	84
ТАБЛИЦА 26. ПРОЦЕНТНО СЪОТНОШЕНИЕ НА 40 ДВОЙКИ МАЙКА-НЕДОНОСЕНО СПРЯМО ANTI-PT IGG.....	88
ТАБЛИЦА 27. СТОЙНОСТИ НА ANTI-PT IGG <40 IU/ML ПРИ 37 ДВОЙКИ МАЙКА-ДОНОСЕНО.....	89
ТАБЛИЦА 28. КОРЕЛАЦИЯ МЕЖДУ ANTI-PT IGG ПРИ НОВОРОДЕНИТЕ, ВЪЗРАСТА НА МАЙКАТА И ТЕГЛОТО ПРИ РАЖДАНЕ.....	92
ТАБЛИЦА 29. КОРЕЛАЦИЯ НА ТРАНСПЛАЦЕНТАРЕН ТРАНСФЕР ПО MANN-WHITNEY TEST	93
ТАБЛИЦА 30. КОРЕЛАЦИЯ НА ANTI-PT IGG МАЙКА-НОВОРОДЕНО.....	93
ТАБЛИЦА 31. ПОТЕНЦИАЛНО ЗАЩИТЕНИ ДВОЙКИ С ANTI-PT IGG ≥ 5 IU/ML	95
ТАБЛИЦА 32. ПОТЕНЦИАЛНО ЗАЩИТЕНИ ДВОЙКИ С ANTI-PT IGG ≥ 10 IU/ML	96
ТАБЛИЦА 33. ПРОЦЕНТНО СЪОТНОШЕНИЕ НА 40 ДВОЙКИ МАЙКА-НЕДОНОСЕНО НОВОРОДЕНО СПРЯМО ANTI-PT IGG <10 И ≥ 10 IU/ML.....	97
ТАБЛИЦА 34. РЕГИСТРИРАНИ, ПОТВЪРДЕНИ СЛУЧАИ НА КОКЛЮШ В БЪЛГАРИЯ ЗА ПЕРИОДА 2000-2017. ...	98
ТАБЛИЦА 35. ЦЕНА НА ВАКСИНАТА ADACEL.	101
ТАБЛИЦА 36. СЪСТАВ НА ВАКСИНИТЕ ADACEL И BOOSTRIX.....	101

I. ЛИТЕРАТУРЕН ОБЗОР

1. Въведение

Коклюшът (наричан още: магарешка кашлица, пертусис или 100 дневна кашлица) е остро инфекциозно заболяване, което протича с прояви на катарално възпаление на горните дихателни пътища, последвани от стадий с характерни признаци на конвулсивна кашлица. Заболяването е силно заразно и може да доведе до сериозни усложнения, включително и смърт. *Bordetella pertussis* е ендемичен за всички страни, като причинява периодични епидемии на всеки 3-4 години. По данни на СЗО (Световна Здравна Организация) за 2014 година, общият брой случаи на коклюш по света са около 24.1 млн., като 160700 от тях завършват летално при деца под 5 годишна възраст (WHO, 2018). Въвеждането на масовата имунизация на децата за коклюш през 1940 -1950 г. успешно поставя заболяването под контрол в продължение на няколко десетилетия, но не успява да го изкорени (Гачева и сътр., 2000; Гачева, 2008). През последните 30 години и особено след въвеждането на ацелуларните (*aP*) ваксини за коклюш се наблюдава постоянно увеличаване на случаите на коклюш във всички възрастови групи и най-вече сред новородените и непълно имунизирани кърмачета. Това е единственото включено в имунизационния календар заболяване, при което се увеличават както общият брой на случаите, така и броят на тези, завършващи със смърт. С различен успех се разработват стратегии за справяне с проблема (Gaillard et al, 2015; WHO SAGE, 2014; Forsyth et al, 2015; McIntyre & Clark, 2014; Halperin & Halperin, 2011; Halperin et al., 2011; ACOG, 2017; Healy et al, 2012; Libster & Edwards, 2011; Mooi & Greeff, 2007; Munoz, 2007; Van Rie et al., 2005). Една от тези стратегии е имунизирването на бременни с цел осигуряване на защитни антитела срещу коклюш у новородените непосредствено след раждането. Подобен подход поставя много въпроси.

2. История

Коклюшът е остро инфекциозно заболяване на дихателните пътища, за пръв път описано през 1578 г. във Франция от Guillaume De Baillou (Bollman et al, 2017). През 1679 г., Thomas Sydenham дава на това респираторно заболяване името пертусис, което означава тежка кашлица (Meynell, 2006). Проучвания показват, че най-ранните данни за епидемии от коклюш са отбелязани в Персия (днешен Иран) (Aslanabadi et al, 2015). През седми век, по време на династията Sui, китайският лекар Chao

Yuanfang описва коклюш-подобно заболяване под името "100 дневна кашлица" (Liang et al, 2016). През 1900 г., Jules Bordet, белгийски лекар-учен, намира грам-отрицателен бацил в храчката на 5-месечната си дъщеря, страдаща от магарешка кашлица. По това време Bordet не е в състояние да изолира бацила в наличната културелна среда (Oakley, 1962; Ehrlich, 1910). Шест години по-късно (1906 г.), синът на Bordet заболява от коклюш и тогава J. Bordet и D. Gengou успяват за пръв път да изолират и култивират причинителя и подробно да опишат неговите морфологични и вирулентни характеристики (Kilgore et al, 2016). Този бацил е наречен *Bordetella pertussis* (от латински *per* – интензивен, тежък и *tussis* – кашлица), на откривателя си J. Bordet. През 1920 г. J. Bordet получава Нобелова награда за 1919 г. в областта „Физиология и медицина“ за своята работа свързана с антимикробната имунология, която включва задълбочено проучване и идентифициране на *Bordetella pertussis* като причина за коклюша (Nobel Media AB, 2019).

Още със самото откриване на коклюша започват опитите за борба с него. Липсата на ефективни антибактериални средства поставят ударението върху профилактиката. Първата стъпка в превенцията на коклюш е да се произведе ваксина. През 1934-1935 г. Pearl Kendrick и Grace Eldering провеждат клинично изпитване, за установяване ефективността на ваксината при деца (Shapiro-Shapin, 2010; Kuchar et al, 2016). Резултатът е много окуражаващ - от 712 ваксинирани деца само 4 заболяват с леки форми на коклюш. В контролната група заболяват 90% от директно контактувалите с болни от коклюш. Степента на ефикасност на ваксината се оценява на 89%. Тя е одобрена от Американската академия по педиатрия за рутинна употреба от 1943 г. Пет години по-късно тази ваксина се включва в състава на ваксината **DTwP** (дифтерия, тетанус и целоклетъчна коклюшна ваксина), която се въвежда в масова употреба. Ефективността на глобалното използване на **DTwP** е ясно установена. Честотата на коклюш намалява от 115 000 - 270 000 случая в преваксиналното време до 1200 - 4000 случая годишно в Съединените американски щати (САЩ) през 80-те години на миналия век (Cherry et al, 1988). След като честотата на коклюш спада с почти 99%, страхът от заболяване се трансформира в страх от страничните ефекти на ваксината. Най-честите нежелани реакции са фебрилитет, болка, оток и зачервяване на мястото на убождане, артралгии, фебрилни гърчове и понякога хипотонични-хипореактивни епизоди. Въпреки че тези ефекти са преходни, общественото мнение се настройва против, свързвайки целоклетъчната коклюшна ваксина със случаи на синдром на внезапна смърт при кърмачета, астма или енцефалопатии. Тези

твърдения водят до спиране на употребата на ваксината срещу коклюш в редица страни (Kuchar et al, 2016). В края на 70-те и началото на 80-те години, Швеция и Япония преустановяват ваксинационната програма от съображения за безопасност. Други държави като Великобритания, Ирландия, Италия, Русия и Австралия отбелязват намален процент на имунизация поради липсата на родителско одобрение за ваксинация (Klein, 2014). Неблагоприятните последици от тези стъпки стават очевидни почти веднага. В Швеция през 1983 и 1985 г. се наблюдават две епидемии от коклюш. Честотата на заболяването сред децата се увеличава от 700 случая годишно през 1981 г. на 3200 през 1985 г. При 14% от хоспитализираните с коклюш пациенти са наблюдавани усложнения от страна на централната нервна система (Romanus et al, 1987). През 1978 г. и 1982 г. в Обединеното кралство има два епидемични взрива от коклюш, които също съвпадат с намаляването на имунизационното покритие до 30%. В Япония честотата на коклюш се увеличава от 206 случая през 1971 г. на 13 105 случая през 1979 г (Morgan, 1997). Под натиска на общественото мнение и с развитието на технологиите се създават т. нар. ацелуларни ваксини, съдържащи само няколко антигена на *Bordetella pertussis*, като коклюшния токсин (pertussis toxin - PT), филаментозния хемаглутинин (filamentous hemagglutinin - FHA), пертактина (pertactin - PRN) и фимбрийните протеини тип 2 и 3 (fimbriae proteins type 2 and 3 – FIM 2 & 3), вместо всички налични в клетките на химически инактивирани бактерии.

Първоначално са разработени 13 ацелуларни ваксини. Първата е изобретена от Sato и Sato през 1981 г. (Sato & Sato, 1999) в Япония и е тествана при деца на възраст над 2 години. Тази ваксина съдържа FHA, обработен с формалдехид, и PT-инактивиран с формалин. След две дози ефикасността на тази ваксина е оценена на 69% (Klein, 2014). Ваксината причинява по-малко нежелани реакции и се понася по-добре, но не са събрани данни за дългосрочната защита, осигурявана от нея. Използването на комбинираните ваксини срещу дифтерия, тетанус и ацелуларна коклюшна ваксина (**DTaP**) става рутинно в САЩ от 90-те години на миналия век (ACIP, 1992). У нас целоклетъчна ваксина срещу коклюш се използва до 2010 г. През 2007 г. се въвежда бустерна доза с ацелуларна ваксина (**DTaP** + IPV) на 6 годишна възраст, а от 2010 г. се преминава изцяло на ацелуларна ваксина за коклюш.

3. Видове коклюшни ваксини

Целоклетъчните (*wP*) ваксини за коклюш представляват бактериални суспензии от един или повече щамове *B. pertussis*. В последните си препоръки СЗО (Chen & He, 2017; WHO, 2007) дава комплекс от изисквания за производството, стандартизацията и качествен контрол на *wP* ваксините. Независимо от опитите за стандартизиране на процедурата за производство на ваксини производителите използват различни щамове *B. pertussis*, като методите за производство също варират. Целоклетъчните ваксини предизвикват комплексен имунен отговор към множество бактериални антигени (Chen & He, 2017; WHO, 2014). Различните количества биологично активни компоненти в *wP* ваксините са неясни, поради което тези ваксини са сравнително хетерогенни, което усложнява сравняването им за имуногенност, ефикасност и ефективност в различните проучвания. През 2003, Jefferson et al. съобщават, че сумарната ефикасност на *wP* ваксините при децата е 78%, но ефикасността е варирала сигнификантно между ваксините от различните производители (Jefferson et al, 2003).

Последните препоръки за осигуряване на качество, безопасност и ефикасност на *aP* ваксините са издадени от СЗО през 2013 г. (WHO, 2013). Все още няма консенсус относно антигенния състав на идеалната *aP* ваксина. Лицензираните към момента ваксини съдържат или само детоксифициран РТ или детоксифициран РТ в комбинация с FHA с или без PRN, FIM 2 и FIM 3. В различните *aP* ваксини варират както броя, така и концентрациите на различните антигенни компоненти, както и нивата на адсорбция към различните адюванти. Няма международно съгласувана горна граница за активен РТ в *aP* ваксините. В допълнение различните производители използват различни щамове *B. pertussis*, различни детоксификационни вещества, както и различни методи за пречистване и приготвяне на отделните антигенни препарати (WHO, 2013). По тези причини директното сравняване на защитата осигурявана от различните *aP* ваксини също е трудно. Освен това различните ваксини индуцират в различна степен хуморалния и клетъчно-медиран имунен отговор, като няма данни двата отговора да са свързани по какъвто и да е начин (Carollo et al, 2014; Palazzo et al, 2016).

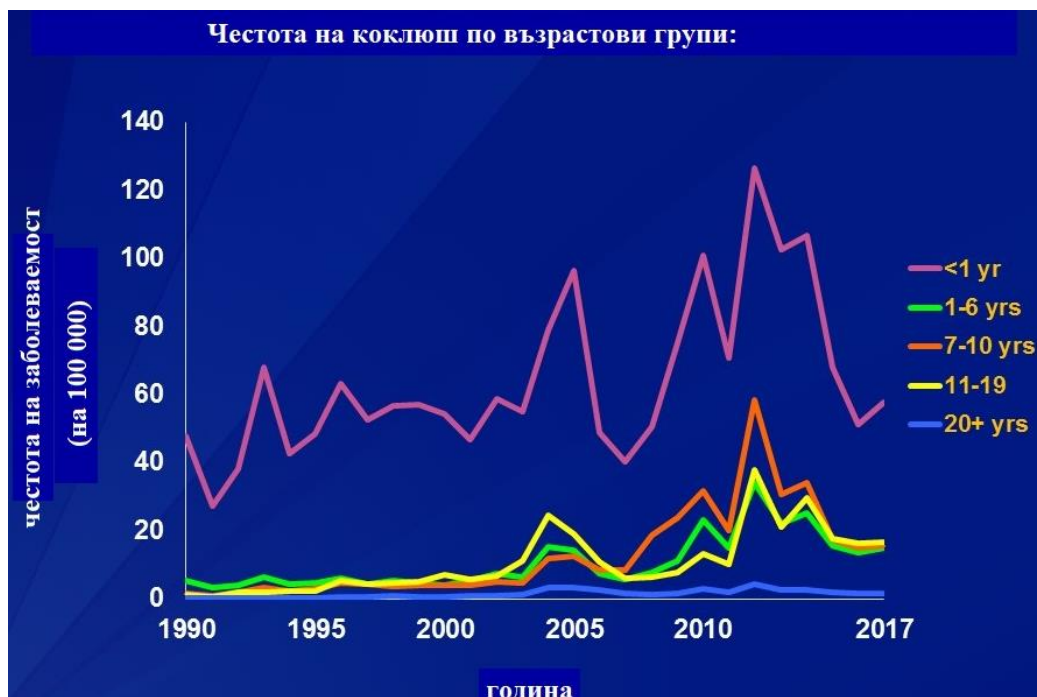
4. Възвръщане на коклюша

Независимо от ваксинацията, заболяемостта от коклюш нараства в почти всяка страна, в която са въведени *aP* ваксини като засяга всички възрастови групи от кърмачета до възрастни. Честотата на коклюша в САЩ се увеличава от 1970-те години насам, като скоростта на нарастване силно се увеличава, когато в средата на 1990-те години ацелуларните коклюшни ваксини заместват използваните по-рано целоклетъчни ваксини (Фигура 1).



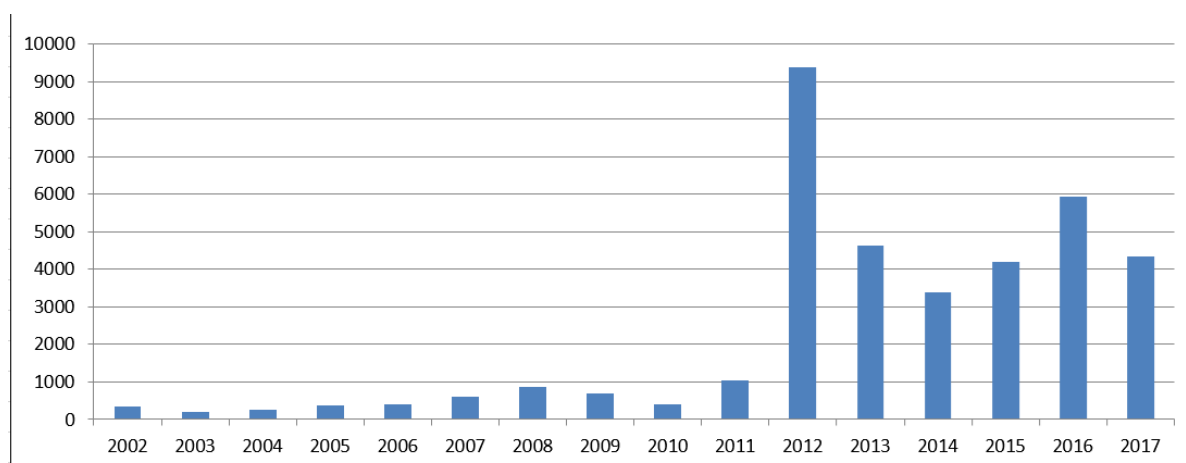
Фигура 1. Брой на случаите на коклюш докладвани в CDC от 1922 до 2017.

След въвеждането на коклюшните ваксини през 1940-те, общия брой случаи годишно, който дотогава често надхвърля 100,000 на година, спада рязко до под 10,000 на година към 1965. През 1980-те броят на случаите постепенно започва да се увеличава, достигайки до над 18000 през 2017 г. Най-много случаи на коклюш от 1959 г. насам в САЩ – над 48277 са отбелязани през 2012 г., като смъртните случаи също се увеличават – от 4 случая през 1996 г. до 20 през 2012 г., почти изключително сред кърмачета. Честотата на случаите при деца под едногодишна възраст в САЩ е нараснала от 34.2/100 000 през 1980 г. на 126.7/100 000 през 2012 г. или увеличението е с 370.47% (Gregory, 2006; Hopkins et al, 2005; Tanaka et al, 2003). През 2012 г. най-висока честота на коклюш е отбелязана при кърмачета под 6-мес. възраст (127,7/100 000) и тийнейджъри на 10-19 години (29.9/100 000) (фиг. 2) (Edwards, 2005; Tiwari et al, 2005).



Фигура 2. Заболеваемост от коклюш в САЩ през 1990 – 2017.

Кърмачетата под 1 годишна възраст, които са изложени на най-голям риск от тежко заболяване и смърт са с най-голяма заболеваемост от коклюш. Същата тенденция е наблюдавана и в много други страни вкл. Великобритания, Канада, Австралия, Ирландия и Испания след преминаването им от *wP* към *aP* ваксини. През 2012 г. Великобритания също преживява епидемия от коклюш. Само в Англия са регистрирани над 9300 случая - над 10 пъти повече в сравнение с предходните години (фиг. 3).



Фигура 3. Потвърдени случаи на коклюш във Великобритания за периода 2002-2017.

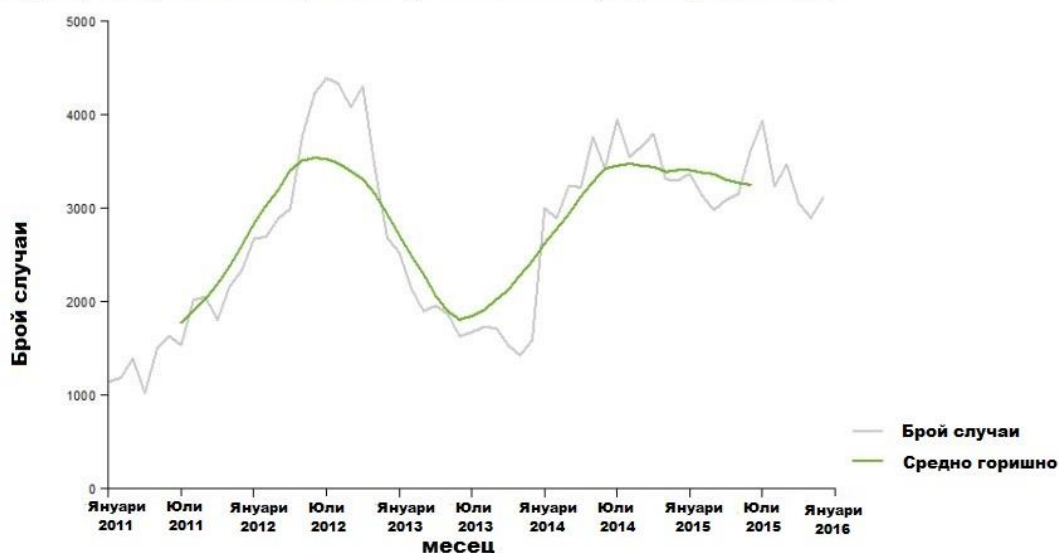
През следващите години броят на случаите е по-малък, но продължава да е по-висок в сравнение с преди 2012. През 2012 г. от коклюш са починали 14 кърмачета под 3

месечна възраст, а други 18 са починали между 2013 - 2016 г (VKP, 2019).

Ключовият въпрос е защо, тъй като възвръщането на коклюша се наблюдава в почти всяка страна, в която *aP* ваксините са заместили *wP* ваксините това не може да бъде прието като съвпадение (Lapidot & Gill, 2016).

Много известни фактори, като отслабването на имунитета, повишеното откриване поради по-чувствителните тестове, и повишената осведоменост за заболяването сред лекарите, еволюционните промени в *B. pertussis* и т.н. съвместно допринасят за това. Всичко това обаче, не обяснява задоволително съществуващите епидемиологични данни и проблема с възвръщането на коклюша, което предполага, че съществуват и други фактори (Jackson & Rohani, 2014; Althouse & Scarpino, 2015). Ключово сред тях е, че имунните реакции предизвиквани от *aP* ваксините се различават фундаментално от тези предизвиквани от *wP* ваксините и не водят до създаване на лигавичен имунитет (Solans & Lochter, 2019; Queenan et al, 2019). Ако това е така, изглежда много вероятно начините, по които двата типа ваксини работят да са основополагащи за цялостното разбиране на възвръщането на коклюша (фиг. 4).

Тенденция и брой на съобщените случаи на коклюш, EU/EEA, 2011–2015



Фигура 4. Тенденция и брой съобщени случаи на коклюш в ЕС/ЕИП за периода 2011-2015 (ECDPC, 2016)

В идеалния случай ваксините трябва да притежават две ключови характеристики:

1. пряка защита на ваксинираните индивиди чрез създаване на имунитет, който ги прави резистентни към съответното заболяване
2. непряка защита на не ваксинираните чрез предотвратяване на предаването на патогена.

Първото защитава индивидите в една популация от развитие на симптоматично заболяване, което не означава непременно блокиране на предаването на патогенния причинител. Второто възпрепятства разпространението на патогена сред популацията и е механизма, който води до колективен имунитет (Lapidot & Gill, 2016). Това се постига чрез имунни реакции, които блокират придобиването, репликацията и предаването на патогена към или от гостоприемника, независимо дали това води или не до клинично проявено заболяване. Най-добрия пример са конюгатните белтък-полизахаридни ваксини срещу пневмококи, менингококи и *Haemophilus influenzae* тип Б (HiB). Въвеждането на всяка една от тях води не само до рязко намаляване на броя на клиничните случаи от ваксиналните серотипове/групи сред имунизираните, но също и до значително намаляване на случаите сред не ваксинираното население, което говори за колективен имунитет. Механизмът, стоящ в основата на колективния имунитет е намаляването на назофарингеалното носителство, което само по себе си се медира от лигавичния имунитет (Makela, 2003; O'Brien & Dagan, 2003; Pollard, 2004; Zhang & Finn, 2004; Zhang et al, 2002; Moulton et al, 2000).

Възвръщането на коклюша в много части на света е предмет на голяма загриженост и дебати. Част от тази неяснота се дължи на ограниченията в познанията относно патогенезата на коклюша и за това по какъв начин естественият или предизвиканият от ваксината имунитет възпрепятства придобиването, репликацията и разпространението на патогена сред популациите. Класически, коклюшът се описва като продължително заболяване с пароксизмална кашлица, завършваща с инспираторен реприз и повръщане. В преваксиналната ера коклюшът е бил причина за стотици хиляди случаи на заболяване годишно като най-тежките и фатални случаи са били сред малките деца. Въвеждането на *wP* ваксини в САЩ през 1950-те довежда до 99% намаляване на случаите на клинично проявен коклюш (CDC, 2018). Все още не са изяснени специфичните имунологични механизми, които са в основата на тяхната ефективност, както и не са установени ключовите антигени, които предизвикват тези отговори. За тази неяснота напомня фактът, че ние все още не разполагаме с ясно детерминирани имунологични маркери за защита, както за *wP* ваксините, така и за *aP* ваксините. *wP* ваксините поради самото си естество включват стотици или хиляди не стандартизирани антигени в различни концентрации, като не е ясно кои от тях – самостоятелно или в комбинация са необходимите (Onorato et al, 1992). Все пак, дори и при липса на ясно разбиране на

имунологията на *wP* ваксините, е възможно да се идентифицират вероятните пътища, по които те осигуряват защита на популационно ниво. През 1987 г. британските епидемиолози P. Fine и J. Clarkson описват различните методологични проблеми отнасящи се до дизайна и анализа на ваксиналните проучвания, които могат да допринесат за вариациите в оценката на ефикасността на *wP* ваксините (Fine & Clarkson, 1987). Сред многото въпроси, които те поставят може би най-важни от всички са: от какво предпазват *wP* ваксините - от заболяване и/или от инфекция? Коклюшът има цял спектър от прояви с класическата „магарешка кашлица“ до леките заболявания или безсимптомни форми при ре-инфектирани и ваксинирани индивиди. Никога не е решен въпроса съществува ли коклюша в състояние на „носителство“, тъй като никога не са правени проучвания за изследване на носителството.

Проучванията, които оценяват ефикасността на една коклюшна ваксина само срещу „тежко заболяване“ предсказуемо показват висока ефикасност, което поставя ударението върху преките ефекти на ваксините. При включване на по-леките или безсимптомни форми на заболяването, ваксините показват по-ниска ефикасност. По-леките случаи на коклюш са по-трудни за потвърждаване, тъй като при тях има по-голяма вероятност да са „културелно негативни“, и да индуцират по-слаб имунен отговор. Това може да доведе до изкривяване на резултатите и по-висока оценка на ефикасността. При повечето проучвания за ефикасност, коклюша е потвърждаван културелно и/или серологично и фокусът е в по-голяма степен върху тежките форми и тяхното предотвратяване, отколкото върху по-леките и безсимптомни случаи (Fine & Clarkson, 1987).

5. Преминане от *wP* към *aP* ваксини

През 1986 г. в Швеция се провежда първото плацебо контролирано проучване на *aP* ваксина. Швеция е избрана, тъй като тя е една от малкото страни в Европа, която не прилага *wP* коклюшна ваксина рутинно при кърмачета като прилагането е било преустановено няколко години по-рано поради силно разгласени случаи на странични реакции (Romanus et al, 1987). Проучването е извършено при кърмачета на 5 – 11 месечна възраст. 3801 деца получават две дози *aP* ваксина и са проследявани в продължение на 15 месеца след втората доза. Установено е, че *aP*

ваксината дава сигнификантна защита срещу лабораторно потвърден коклюш (културелно или серологично) като защитата е била по-добра срещу по-тежките форми на заболяване – ясен признак за изразени преки ефекти от ваксината, но ефикасността на ваксината не е била сигнификантна, когато са включени и непотвърдените с лабораторни тестове случаи (Anon, 1988). Не е ясно дали тези случаи са се дължали на причинители различни от *V. pertussis* или ваксината е била с ограничен ефект по отношение предотвратяване на леките форми на заболяването (както и безсимптомното носителство) и от там предаването от човек на човек. Друг интересен факт относно средата, в която са проведени тези проучвания на *aP* ваксината е, че по времето, когато те са правени, популацията на възраст 7 и повече години е била вече ваксинирана с *wP* ваксина и вероятно е имала вече някакво ниво на защита срещу коклюш. С други думи проучването не е било извършено в среда без ваксини, което да позволи точна оценка на ефикасността на ваксината, а по-скоро е имало някакво ниво на защита сред мнозинството от населението, което е можело да бъде резервоар на коклюш.

Основните проучвания, които в крайна сметка водят до лицензирането и приемането на *aP* ваксините са проведените в Италия и Швеция, като и двете страни са избрани тъй като не са имали включена коклюшна ваксина в имунизационните си календари. И в двата случая *aP* е сравнена с *wP* и плацебо в рандомизирано сляпо, контролирано проучване (Pichichero et al, 1997) с окончателно потвърждаване (културелно и серологично) на клиничните случаи на коклюш. И в двата случая *aP* ваксините показват по-добра поносимост, подобрена безопасност и получаване на по-високи концентрации срещу РТ в сравнение с *wP* ваксините. Това се оценява като очевидна „победа“ за *aP* ваксините. В светлината на последвалото увеличение на случаите на коклюш след преминаването към *aP* ваксини заслужава да се разгледа как тези толкова обещаващи в началото ваксини в крайна сметка се оказват толкова разочароващи. Кои са характеристиките на *aP* ваксините, които са фаворизирали тяхната ефикасност пред тази на *wP* ваксините.

- Първо, когато различни *aP* ваксини са сравнявани с *wP* ваксини и плацебо, в мнозинството от проучванията, *wP* ваксината се оказва по-имуногенна. Само в две от проучванията (Pichichero et al, 1997) *aP* ваксината има по-висока ефикасност в сравнение с *wP* ваксина и тези две проучвания са били

водещите, на които се основава подкрепата за *aP* ваксините. Това са били проучванията, в които е използвана слабо имуногенната ваксина производство на Connaught (Mattoo & Cherry, 2005). Това изкривява резултатите от проучванията в полза на *aP* ваксината.

- Второто е, че имуногенността на всяка ваксина се оценява чрез измерване на антителата срещу РТ и FHA, два от антигените, присъстващи във високи концентрации в *aP* ваксините. Естествено е към тези антигени да са получени далеч по-високи серологични отговори, а именно 4-кратно увеличение на титъра на антителата при *aP* в сравнение с *wP* ваксините. За жалост тези заключения са погрешни, тъй като и тогава и сега няма ясни маркери за защита както при *aP*, така и при *wP* ваксините. *wP* ваксините са смес от хиляди белтъчни антигени плюс липополизахаридите (LPS) от бактериалните мембрани и точният механизъм, по който *wP* ваксините изработват имунитет никога не е бил разкриван. Въпреки, че в тях има РТ и FHA, при *wP* ваксините, те не са в същите концентрации както при *aP* ваксините, поради което тяхната относителна важност за цялостния протективен ефект е трудно да бъде отчетена. Това, че една *aP* ваксина дава по-високи титри на anti-РТ или anti-FHA антитела в сравнение с една *wP* ваксина предполага, че тези антитела обуславят имунната защита, което се оказва че не е съвсем вярно.
- На трето място тези проучвания елиминират отчитането на дългосрочния отговор към ваксините, тъй като не е направена оценка на действието на ваксините във времето. Освен това проучванията измерват само директните, а не и индиректните ефекти на всяка ваксина. Важно качество на всяка една ваксина е нейната способност да създава колективен имунитет чрез предотвратяване на предаването на инфекцията към неимунизираните популации (напр. новородени). Извършените проучвания върху *aP* ваксини в миналото не са планирани да оценяват това качество на ваксините (Lapidot & Gill, 2016).

6. Имунологични аспекти на коклюша и коклюшните ваксини

Преди се е считало, че двата пътя за Т-хелперните клетки са или Th1 или Th2. Първият е отговорен за Т-клетъчния контрол на интрацелуларните инфекции като напр. туберкулоза, докато вторият е насочен срещу екстрацелуларните и най-вече срещу паразитните инфекции. Тази дихотомия изглежда непълна тъй като не може да обясни много от Т-клетъчните имунни отговори, които не се вменват достатъчно, в която и да е от двете схеми, и които бяха установени в хода на HIV пандемията. Впоследствие е открит трети път от независима клетъчна линия наречена Th17 клетки (на името на доминантния цитокин – интерлевкин 17). Th17 клетките се намират в белия дроб, в лигавицата на червата, в кожата и играят важна роля в лигавичния имунитет и защитата на гостоприемника срещу екстрацелуларни патогени (Kolls & Khader, 2010; Cua & Tato, 2010).

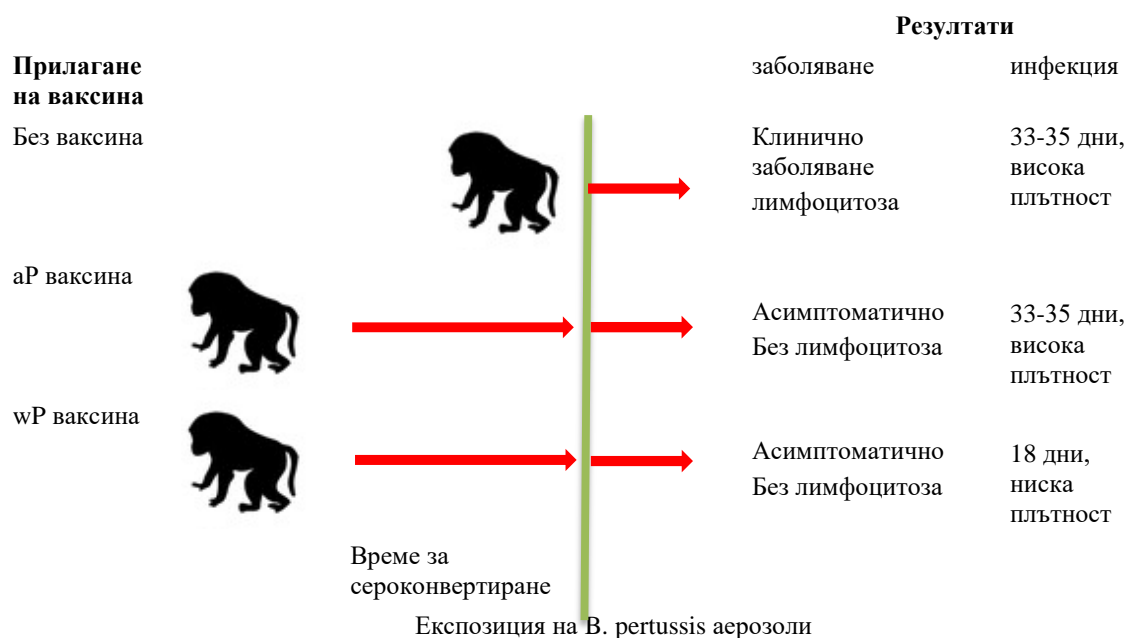
Следвайки тази логика Warfel et al. (2014) и Warfel et al. (2015) установяват, че инфекцията с *B. pertussis* предизвиква чист Th17 клетъчен имунен отговор и намират, че тези клетки играят важна роля в патогенезата на инфекцията с *B. Pertussis* (табл. 1). Подобно на това, *wP* ваксините също предизвикват преобладаващо Th17 отговор (с по-малък принос и от Th1-клетки) (Ross et al, 2013). За разлика от тях, *aP* ваксините предизвикват само Th2 отговор (Warfel et al, 2015; Warfel & Edwards, 2015; Warfel et al, 2014; Kolls & Khader, 2010).

Таблица 1. Основни разлики между *wP* ваксина и *aP* ваксина

Целоклетъчни коклюшни ваксини (<i>wP</i>)	Ацелуларни коклюшни ваксини (<i>aP</i>)
Предотвратяват заболяване и колонизиране в много по-висока степен от <i>aP</i> ваксините	Предотвратяват заболяването, но не блокират колонизацията.
Вероятно правят това чрез блокиране на носителството (въпреки че никога не са правени проучвания за доказване на тази хипотеза).	Експериментално не блокират предаването и позволяват пренасяне на инфекцията от безсимптомни към животни, които не са ваксинирани. Това наблюдение имитира стратегията на пашкула и дава причина, поради която тя не се е осъществила според очакванията
В епидемиологично отношение изглежда дават колективен имунитет (макар и не до степен, достатъчна за пълно спиране на предаването).	В епидемиологично отношение дава минимален или никакъв колективен имунитет
Индуцират силен лигавичен имунитет	Не индуцират лигавичен имунитет
Индуцират силен Th17 имунен отговор	Индуцират Th2 отговор

Диференциално въздействие на *aP* и *wP* ваксини

Възможно най-прякото доказателство, че *aP* ваксините не успяват да предпазят от предаване на заболяването, идва от една серия опити на Warfel (Warfel et al, 2012a; Warfel & Merkel, 2013; Warfel et al, 2014), които използват животински модел с *Papio cynocephalus* (бабуин, жълт павиан). Благодарение на този модел сега сме в състояние да разберем по-добре патогенезата и имунния отговор спрямо заболяването и различните ваксини. Групи от: 1) *naive* бебета-бабуини, 2) ваксинирани с *aP* ваксини или 3) ваксинирани с *wP* ваксини са били излагани впоследствие на аерозоли с *B. pertussis*. В 100% не ваксинираните бабуини развиват тежко клинично заболяване с кашлица и висока лимфоцитоза, която е честа находка при заболяване от коклюш при кърмачета у човека и за която се знае, че се медира специфично от пертусис токсина (фиг. 5).

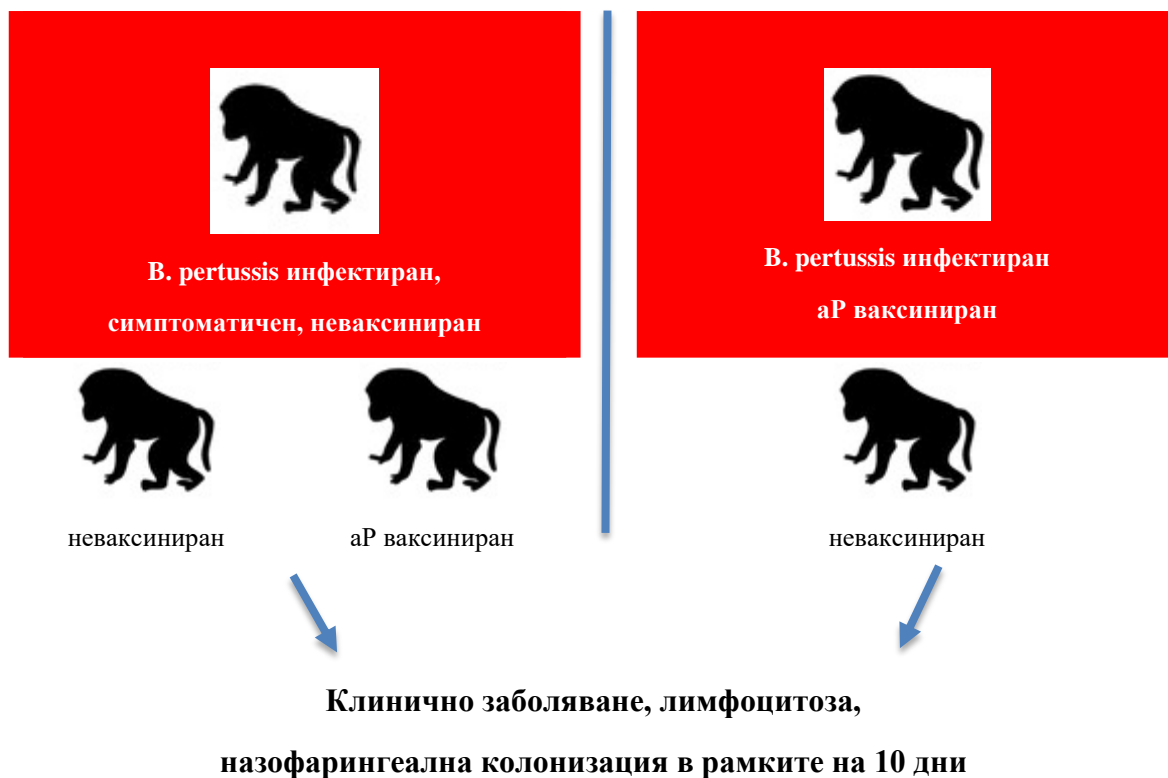


Фигура 5. Експериментално въздействие на *aP* и *wP* ваксини.

Ваксинираните животни са били подложени на пълна ваксинационна серия и е оставено време да сероконвертират преди експозиция. И двете ваксинирани групи животни остават безсимптомни (без кашлица и лимфоцитоза), докато неваксинираните животни развиват клинично заболяване. Това потвърждава, че и *aP* и *wP* ваксините осигуряват отлично пряка защита от заболяване (поне в краткосрочен план), и че заболяването от коклюш при животинския модел е достоверна имитация на заболяването при кърмачета при човека. Когато ефикасността на ваксината се разглежда от гледна точка не на заболяване, а на

заразяване, *aP* и *wP* ваксините силно се различават. Назофарингеалното вземане на проби от трите групи обаче показва, че *aP* и неваксинирани животни са заразени със сходна плътност на коклюшна бактерия и с подобна продължителност. За разлика от тях, ваксинираните с *wP* животни са по-устойчиви на носителство и са носители на бактериите за по-кратък период. Неваксинираните и ваксинираните с *aP* ваксини бабуини остават колонизирани средно 33 – 35 дни преди да се изчистят. За разлика от тях ваксинираните с *wP* бабуини изчистват носителството си само след 18 дни, като са имали по-ниски бактериални нива по лигавиците в сравнение с ваксинираните с *aP* и неваксинираните животни. Това показва, че ваксинациите с *wP* и *aP* предизвикват много различни имунни реакции на лигавицата, като първата защитава от колонизация и заболяване, а втората предотвратява само клинично заболяване.

При следващ експеримент, когато ваксиниран с *aP* бабуин и един неваксиниран бабуин са поставени в една клетка с неваксинирано и инфектирано животно, всичките три животни се колонизират с коклюш в рамките на 10 дни, допълнително доказателство, че *aP* ваксините не предпазват от колонизация (Warfel & Merkel, 2014). И при трите животни е доказано, че са заразени на базата на назофарингеална проба, въпреки че само неваксинираното животно показва признаци на клинично заболяване. Ваксинациите с *aP* блокират клиничното заболяване, те не предотвратяват инфекцията/носителството. Този експеримент показва, че неваксинирано, но заразено животно е способно да зарази ваксинирано с *aP* животно. Обратно на това, когато един ваксиниран с *aP* бабуин е инфектиран/колонизиран с *B. pertussis* и след това поставен в една клетка с неваксиниран бабуин, неваксинираният бабуин бързо се инфектира/колонизира и се разболява (фиг. б). Този експеримент доказва, че независимо от липсата на симптоми, *aP* ваксинираните животни могат да се заразят с коклюш и са в състояние да предават инфекцията на неваксинираните.



Фигура 6. Експериментално въздействие на *aP* ваксината.

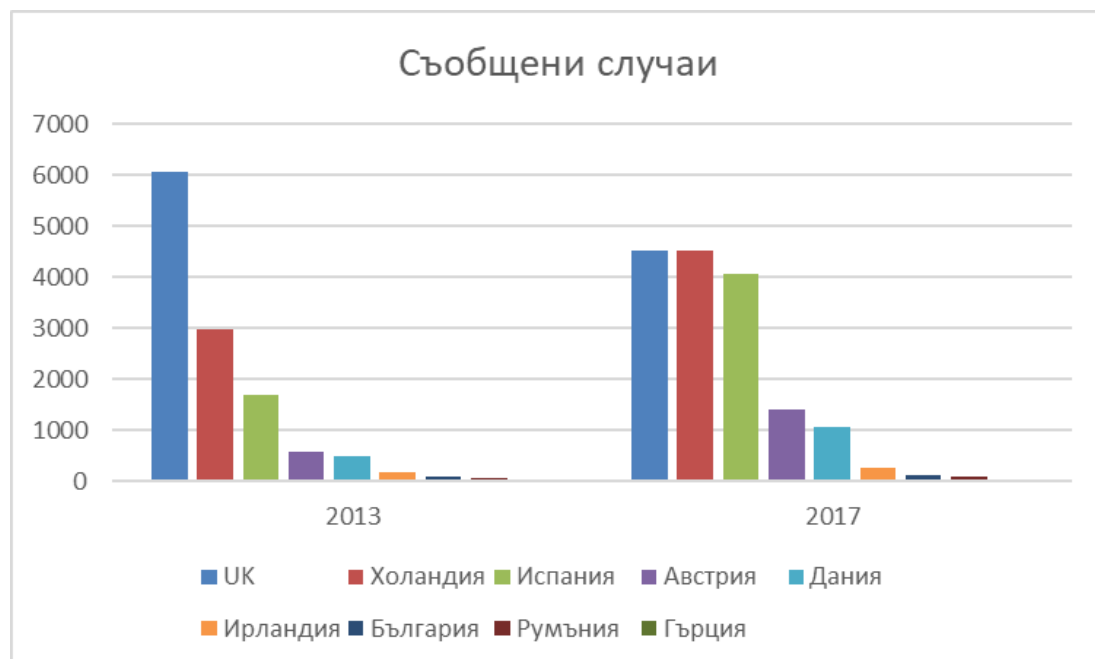
Като цяло тези опити показват, че както *wP*, така и *aP* предотвратяват клинично заболяване, но *aP* ваксините не предотвратяват заразяването. Освен това ваксинираните с *aP* безсимптомни, но инфектирани животни са в състояние до голяма степен да инфектират други животни, участвайки в пътя на предаване на инфекцията. В последващ опит, женски бабуини са ваксинирани с *aP* ваксина по време на бременността. След раждането новородените бабуини са излагани на коклюшни аерозоли, но са били напълно защитени. Всички обаче са били колонизирани със същите нива на колонизация като бебетата на други неваксинирани майки излагани на коклюшни аерозоли (Warfel et al, 2014a).

В резюме тези животински модели показват, че *aP* ваксините предотвратяват заболяването, но не и колонизацията (инфекцията), и че тази клинична защита се медира чрез антитела и е преносима през плацентата и може да предотвратява заболяване при новородени след раждането. Получените след прилагането на *aP* ваксини антитела обаче не блокират колонизацията на назофаринкса, позволявайки ваксинираните с *aP* и пасивно-протектираните животни да бъдат инфектирани и да предават инфекцията. За разлика от тях, ваксинираните с *wP* животни намаляват носителството на *B. pertussis*, както по отношение на микробното число така и на

продължителността, като изчистват инфекцията за половината от времето необходимо на неваксинираните или ваксинираните с *aP* животни. За да сравнят това количествено, Warfel et al. (2015) сравняват кумулативната площ под кривата за разпространение на *B. pertussis* от назофаринкса на ваксинирани и инфектирани животни: *wP* ваксините намаляват общото ниво на предаване на бактерии с повече от 1000 пъти в сравнение с *DTaP*. Емпирични данни подкрепят тези интерпретации (Gill et al, 2017). Разглеждайки вторичните случаи на инфекция при ваксиналните неуспехи изследователите изчисляват, че *wP* ваксината намалява вторичните инфекции с 86%, в сравнение само с 6% при *aP* ваксините (Préziosi & Halloran, 2003).

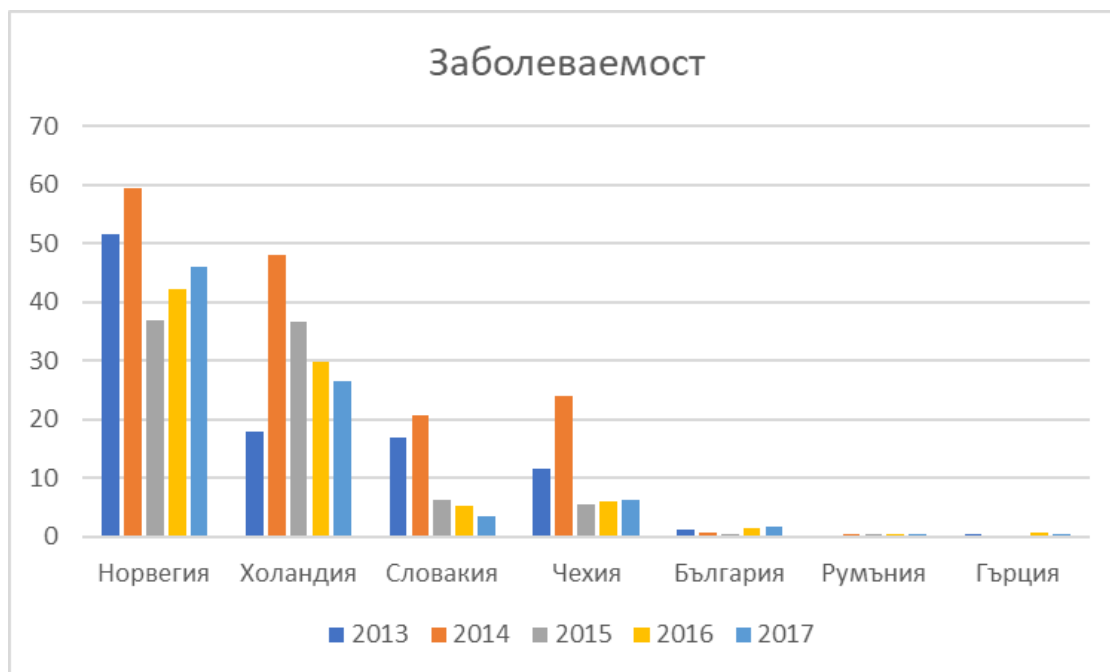
7. Коклюш в страните от ЕС/ЕИП

За 2017 г. 29 държави от ЕС/ЕИП съобщават за 42 242 случая на коклюш, от които 38 777 (92%) са класифицирани като потвърдени, 2 257 (5%) като възможни и 1 208 (3%) като вероятни. Пет държави (Германия, Холандия, Полша, Испания и Обединеното кралство) представляват 76% от всички съобщени случаи (фиг. 7) (ECDC, 2019).



Фигура 7. Потвърдени случаи в ЕС, вкл. България, за 2013 и 2017.

Заболеваемостта в ЕС/ЕИП за 2017 година е била 9,4 на 100 000 население, което е в същия диапазон като за предходните три (2014, 2015, 2016) години. Норвегия отчита най-висока заболеваемост от 2011 г. насам (фиг. 8).

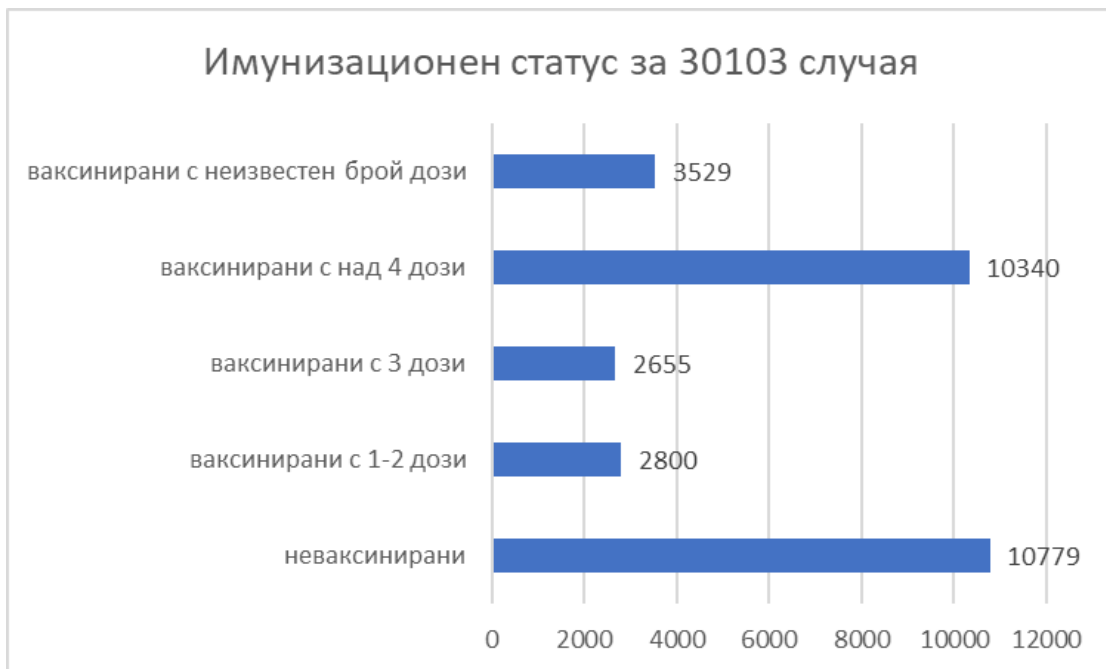


Фигура 8. Заболеваемост в ЕС, вкл. България, за периода 2013-2017.

В страните, отчитащи най-висока заболеваемост, възрастните (≥ 18 години) представляват по-голямата част от случаите (Дания 50%; Германия 66%, Холандия 60%, Норвегия 55%). Делът на лабораторно потвърдени случаи е 100% в Норвегия, Холандия и Дания и 97% в Германия. В страните отчитащи най-ниска заболеваемост (под 1.0 на 100 000 население), нисък дял на случаите сред възрастни са отчетени от Гърция (0%) и Румъния (13%) и висок дял от Унгария (87% от общо 15 случаи).

Информацията за възрастта е била налична за 48 095 случая (99,7%). 47% от случаите са били на възраст 30 години или по-възрастни, 15% са на възраст 15 до 29 години. Общо 62% от случаите са били на възраст над 14 години. Най-високата заболеваемост е имало при кърмачета на възраст под една година (53,9/100 000 население) (ECDPC, 2019). Най-високите проценти при заболели кърмачета са отчетени в Люксембург (146,9/100 000 население) и Австрия (145,1/100 000), следвана от Дания (138,7/100 000) и Ирландия (126,8/100 000). Сред новородените, на които се знае възрастта в месеци (90%), 70% са на възраст ≤ 6 месеца и 50% са на възраст ≤ 3 месеца. Втори пик се наблюдава при 10–14 годишни (25/100 000 население). Женският пол е свръх представен във всички възрастови групи, с изключение на кърмаческата група. Заболеваемостта за 2017 г. е 10,3/100 000 популация за жени и 8,4/100 000 популация при мъже, като съотношението жена-мъж е 1:0,8.

Имунизационният статус е бил известен в 30 103 случая (71%) (фиг. 9). От тях 36% са неваксинирани, 10% са ваксинирани с една или две дози, 9% с три дози и 34% с четири или повече дози, а 12% от случаите са били ваксинирани с неизвестен брой дози. 18% от кърмачетата (410/2 277) били с неизвестен ваксинационен статус или са били ваксинирани с неизвестен брой дози.

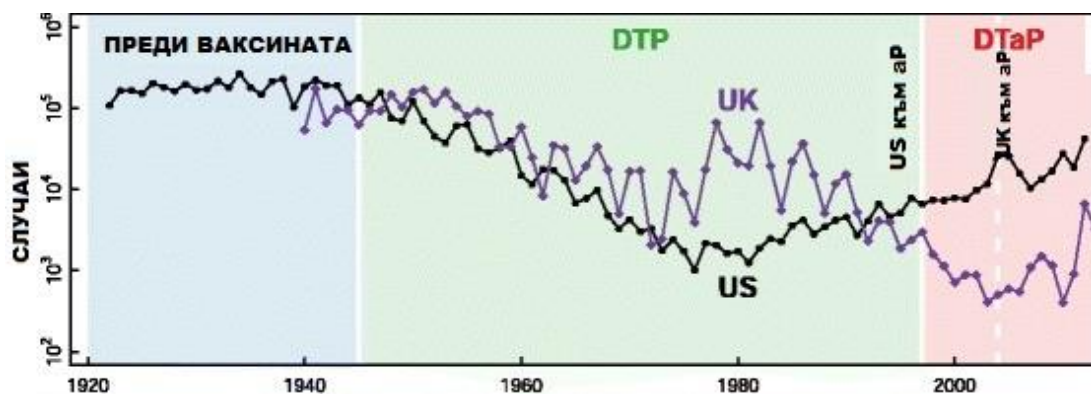


Фигура 9. Имунизационен статус на потвърдените случаи.

Процентът неваксинирани е бил най-висок сред кърмачетата (55%) и сред лицата над 29-годишна възраст (59%). Сред индивидите на възраст между 5 и 19 години, 64% са били ваксинирани с четири или повече дози, като за 10 от отчитащите се страни през 2017 г. този процент е бил над 70% (ECDPC, 2019). За разлика от САЩ, сравненията между страните в ЕС са ограничени от различията в начините за доказване и съобщаване на случаите (Heininger et al, 2016; ECDPC, 2019).

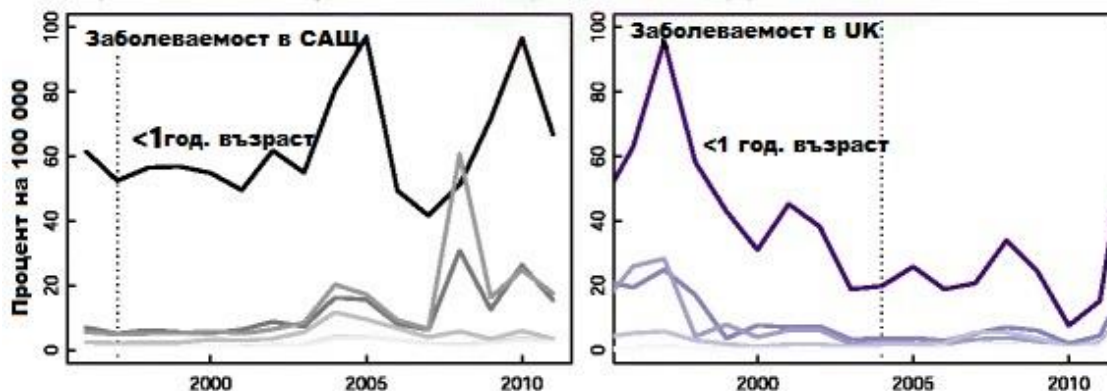
Случаите на коклюш в САЩ от 1922 до 2012 г. и във Великобритания от 1940 до 2013 г. са представени на фиг. 10. Засенчените региони съответстват съответно на ерата преди ваксината, ерата на *DTwP* и *DTaP* (Althouse & Scarpino, 2015).

Въвеждането на *DTwP* се свързва с постоянно намаляване случаите на коклюш и в двете страни, до момента в който ваксиналното покритие във Великобритания намалява през 80те години на миналия век. От друга страна, въвеждането на *DTaP* също се свързва с повишаване на заболеваемостта.



Фигура 10. Случаи на коклюш в САЩ и УК.

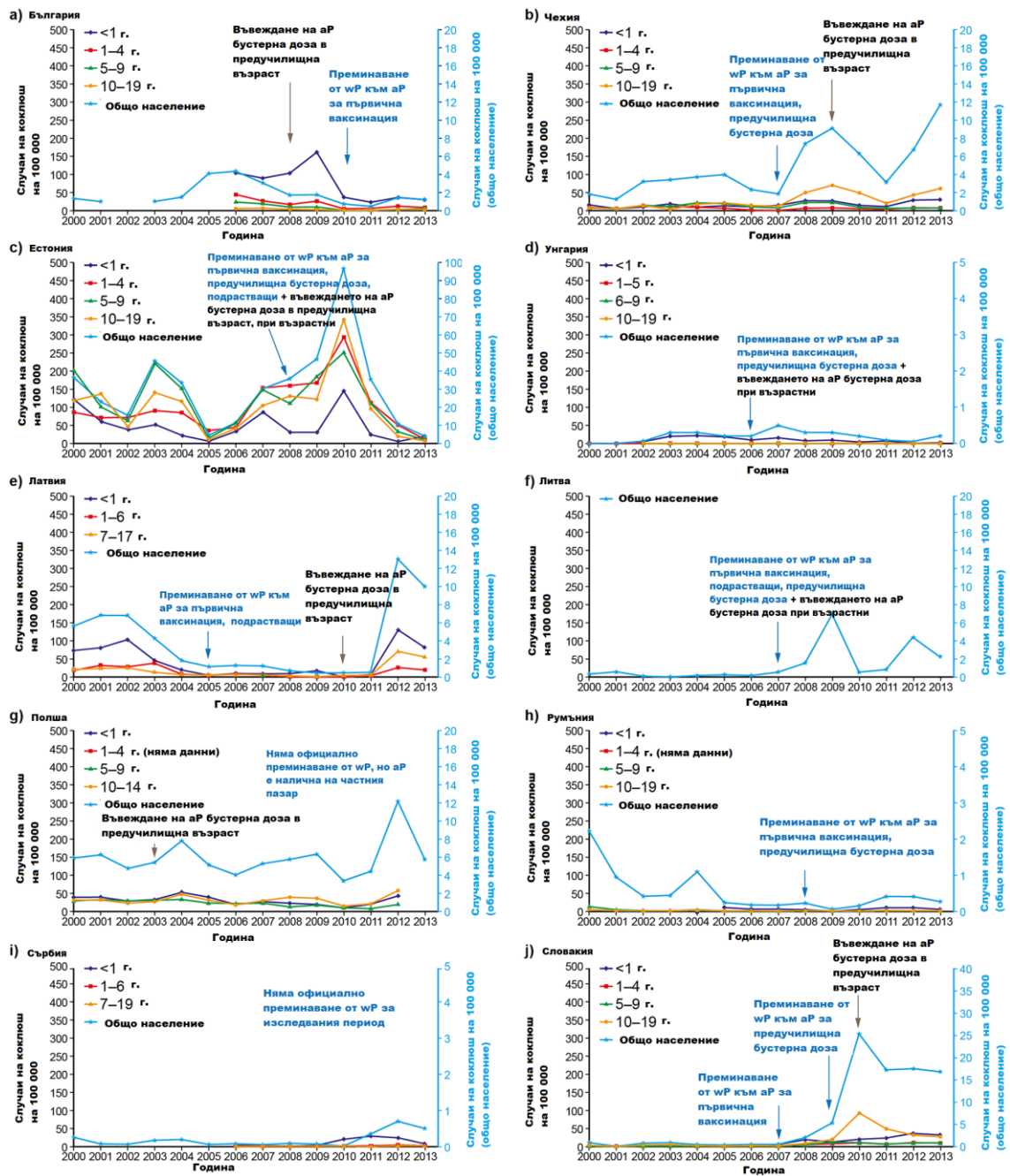
Фигура 11 представя заболеваемост от *B. pertussis* по възрастов групи като потъмните цветове показват по-малките възрастови групи съответно в САЩ и Великобритания. Кърмачетата под 1 годишна възраст са обозначени в най-отгоре (Althouse & Scarpino, 2015).



Фигура 11. Заболеваемост в САЩ и УК.

Heininger et al. (2016) изследва разпространението на коклюш в 10 Централно и Източно Европейски страни за периода 2003-2013. Установена е голяма хетерогенност в докладваните случаи, без ясен цикъл или очевидна синхронност в процентите на отчитане, като се използват общите данни за заболеваемостта в страните, с изключение на 2012 г., където може да се твърди, че пиковите случаи на

заболеваемост са отчетени в пет държави (фиг. 12).



Фигура 12. Заболеваемост в 10 Централно и Източно Европейски страни 2003-2013 (Heininger et al, 2016)

aP: ацелуларна коклюшна ваксина комбинирана с дифтериен и тетаничен токсиди. **wP;** целоклетъчна коклюшна ваксина комбинирана с дифтериен и тетаничен токсиди. Липсват данни по възрастови групи за Литва.

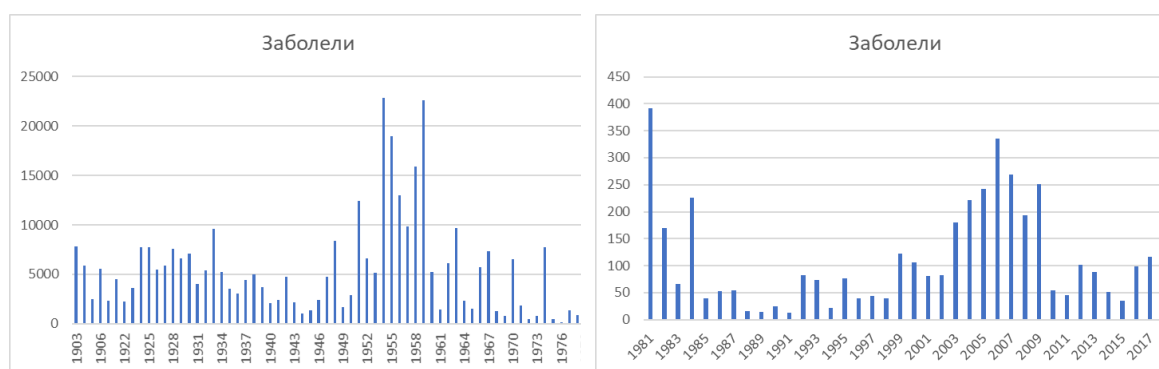
Все още няма консолидиран модел, свързан с преминаването от **wP** към **aP** ваксини върху съобщените проценти на разпространение на коклюш. Хетерогенността в отчетените данни е най-вероятно свързана с редица фактори, като характеристики или възможности на системата за наблюдение, различни дефиниции на случаите,

чувствителност на тестовете за потвърждение на коклюш, информираност за болестта, както и реални разлики във величината на заболяването или комбинация от тези фактори. Тези данни потвърждават необходимостта от стандартизиране на програмите за наблюдение на коклюш в Европа, особено за откриване и потвърждаване на случаи на коклюш, като се използват еднакви протоколи и методологии. Това ще позволи по-надеждни сравнения относно разпространението и заболяемостта между отделните страни.

8. Данни за България

Въпреки че във всички страни се практикува първична ваксинация, коклюшът остава относително честа и недиагностицирана инфекция, с постоянни или нарастващи проценти на съобщаване. Съобщават се все повече случаи сред по-големи деца, юноши и възрастни. Те представляват голям резервоар и важен източник на инфекция за уязвимите по-малки деца.

В Република България, годишната заболяемост от коклюш от 2000 г насам варира от 0,49 до 4,34 на 100 000 население като броят на съобщаваните случаи годишно варира от 35 до 335 (фиг. 13). Началото на масовата имунизация за коклюш започва през 1957 г. в България като след 1959 г. се отчита снижаване на заболяемостта с 115 пъти.



Фигура 13. Данни за регистрираните случаи на коклюш за България за периода 1903-2018 (<https://www.ncipd.org>)

Въвеждането на **aP** предучилищна бустер ваксинация през 2008 г. и преминаването от **wP** към **aP** ваксини за първични и ваксинации за малки деца през 2010 г. се случва

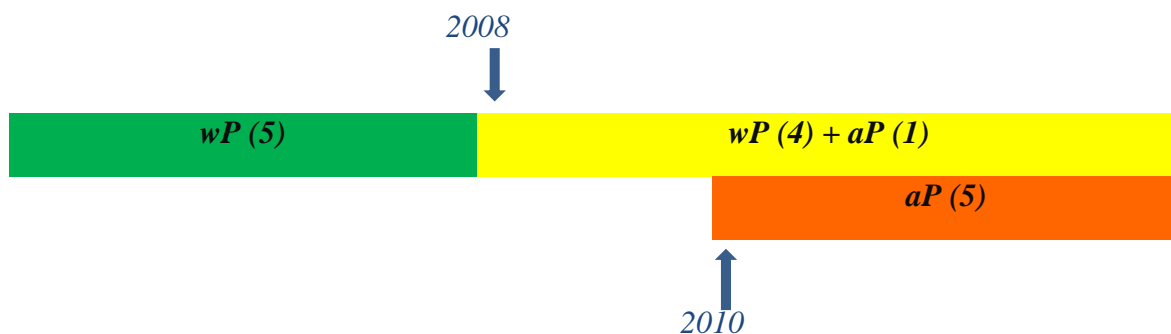
в момент, когато годишната отчетена честота на коклюш като цяло намалява (фиг. 14).



Фигура 14. Брой заболели мъже и жени за периода 2010-2018

Според имунизационния календар на Република България, жените, които към 2019 година са в детеродна (15-46 години) възраст са били имунизирани с *wP*, като бустер са получили на 4 годишна възраст (фиг. 15).

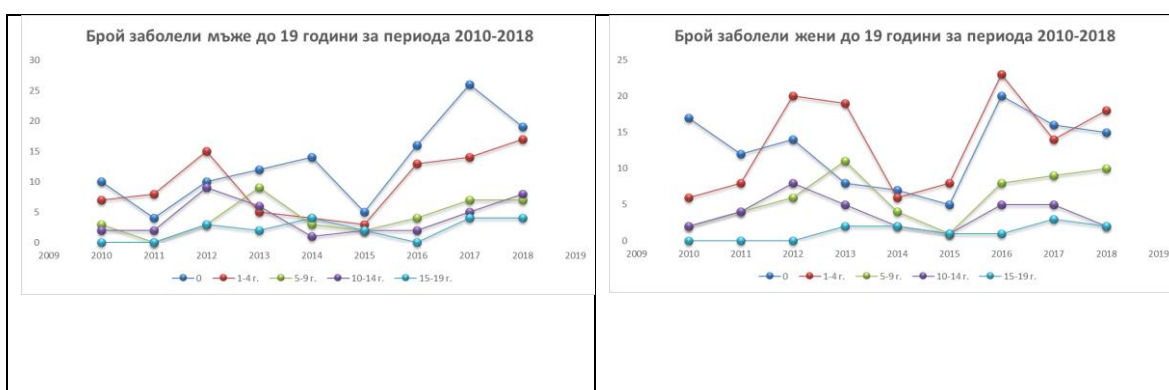
- **1957 – 1959** – 3 имунизации с *wP*
- **1960 – 2008** – 5 имунизации с *wP* (2, 3, 4, 18 месеца и 4 години)
- **От 2008 до 2010** – бустер имунизацията с *wP* на 4 години се заменя с *aP* на 6 години
- **От 2010** всички имунизации се заменят с *aP* (2, 3, 4, 18 месеца и 6 години)



Фигура 15. Ваксинация според имунизационния календар на Република България.

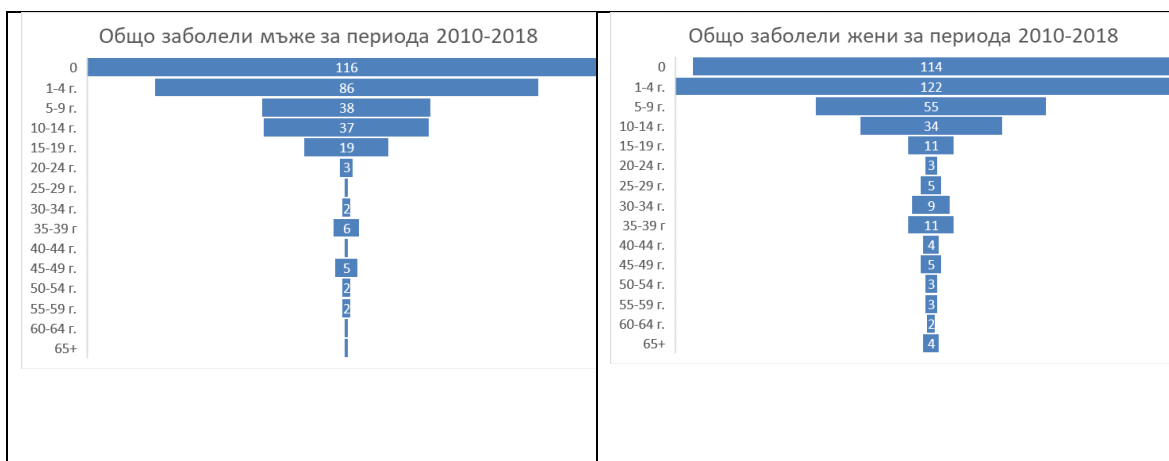
Достоверността на диагностичните тестове е един от важните критерии за тяхната обективност и степен на точност. Националната Референтна Лаборатория по „Молекулярна микробиология” при НЦЗПБ извършва диагностика на коклюш (от 2001г.) чрез молекулярно-генетични методи (PCR и Real-Time PCR). Молекулярно-

генетичните методи са първи избор на диагностичен метод за доказване на тези инфекции. Въвеждането на PCR и развитието на серологичните тестове от 2006 г. до 2009 г., преминаването от пасивен тест за хемаглутинация, имунофлуоресценция и култура към PCR и по-количествените серологични тестове ELISA също съвпадат с намаляваща тенденция на честотата на съобщените случаи. Общата тенденция на заболяемост от коклюш показва намаляване на докладваните случаи във времето във всички възрастови групи. Броят заболели в България по възрастови групи за периода 2010-2018 е представен на фиг. 16.



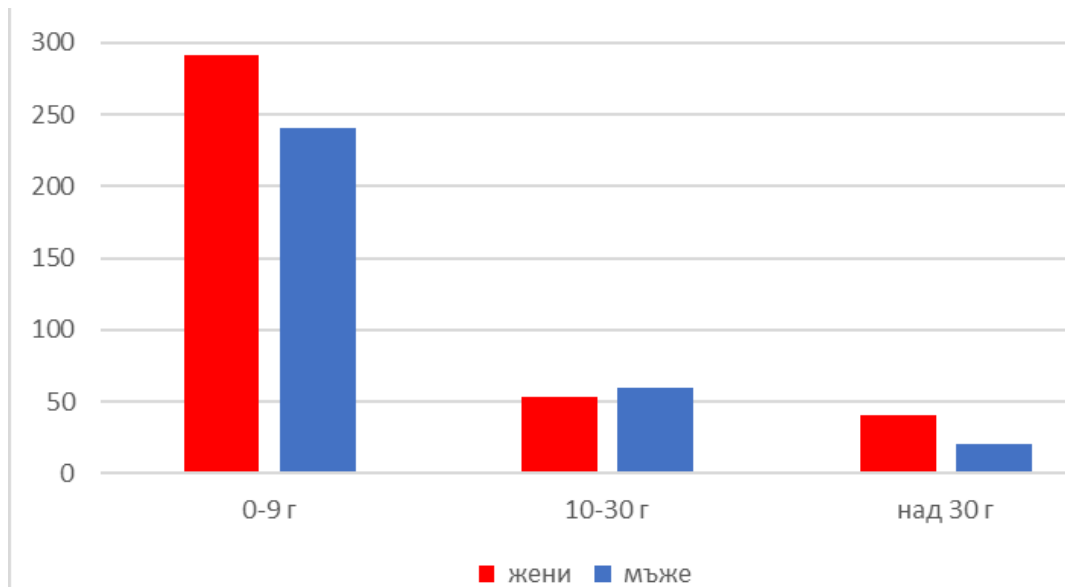
Фигура 16. Брой заболели мъже и жени до 19 години за периода 2010-2018.

Сумарно броят на заболелите за периода 2010-2018 е представен на фиг. 17.



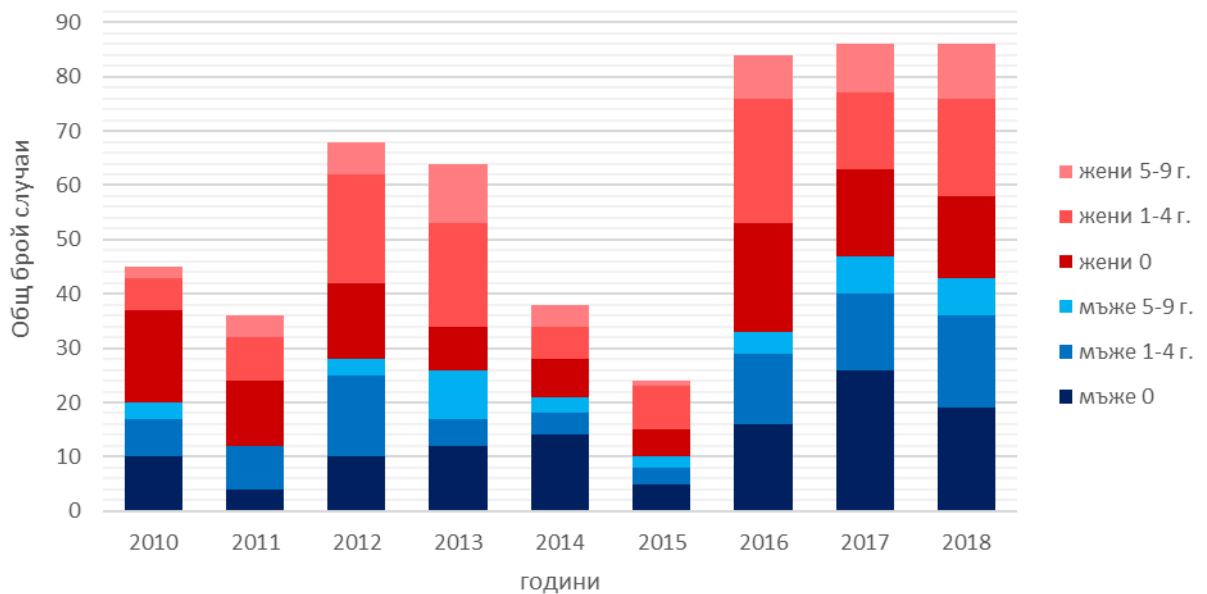
Фигура 17. Общо заболели мъже и жени по възрастови групи за периода 2010-2018

Най-засегната е възрастовата група до 9 годишна възраст, където заболелите са приблизително 75% от общо заболелите (период 2010-2018 година) (фиг. 18).



Фигура 18. Общо заболели по възрастови групи (период 2010-2018).

Подрастващите и възрастните са най-честите носители и резервоари на инфекцията и съответно причина за високата заболяемост сред новородените и малките деца (фиг. 19).



Фигура 19. Общо заболели мъже и жени до 9 годишна възраст за периода 2010-2018.

От фиг. 19 и 20 ясно се очертава повишена заболяемост при децата след 2015 година, т.е. 5 години след въвеждането на изцяло **aP** ваксина.



Фигура 20. Обща заболяемост за двата пола по възраст за периода 2010-2018.

Логичен изглежда въпроса дали това, което се случва в САЩ и другите държави преминали от *wP* към *aP* се наблюдава и в нашата страна?

9. Хипотези за възвръщането на коклюша в ерата на ацелуларните ваксини

Ваксинациите са основен инструмент за първична профилактика на болести и една от икономически най-ефективните налични мерки за защита на общественото здраве. През последните години са дадени множество хипотези за възвръщането на коклюша:

- Подобро откриване на случаите;
- Ниско ваксинално покритие;
- Отказ от ваксини;
- Слабо персистиране на антителата след имунизация;
- Еволюционни промени в *B. pertussis* в резултат на ваксиналния натиск.

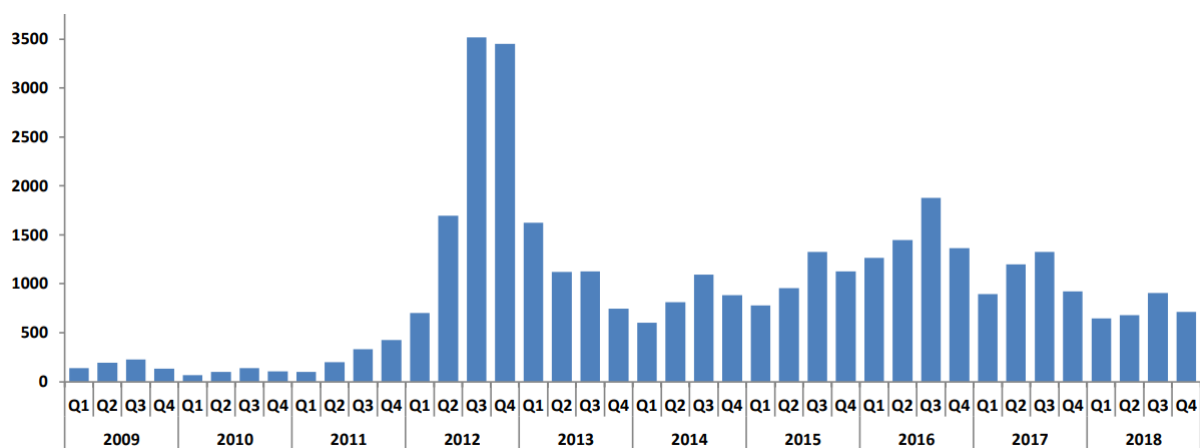
Въпреки, че всички те в една или друга степен обясняват феномена на „завръщането“, като цяло липсва задоволително обяснение на наблюдаваните промени в тяхната цялост.

9.1. Подобро откриване (диагностика)

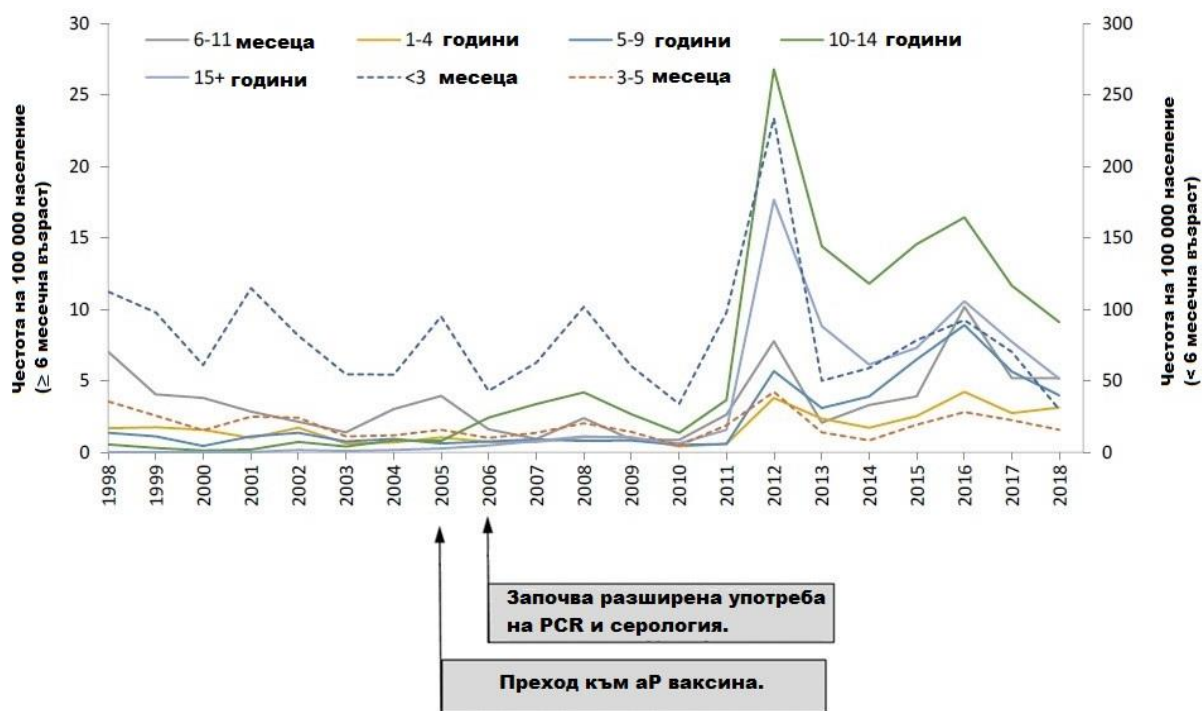
B. pertussis е взискателен и поначало труден за култивиране микроорганизъм. Често антибактериалното лечение го инактивира, което създава условия за пропускане на

действителни случаи (Qin et al, 2007; Tatti & Tondella, 2013). През последните 25 години използването на PCR революционизира доказването на коклюша като дава резултати далеч по-чувствителни и специфични от културелното изследване, и които много по-слабо се влияят от маскиращия ефект на антибиотиците. Високата чувствителност на PCR позволява да се откриват далеч по-голямо число леки и атипични случаи, които обичайно остават скрити, в сравнение с традиционните културелни методи (Jackson & Rohani, 2014; Cherry, 2013; Cherry, 2010).

Серологичните маркери са по-трудни за интерпретиране, тъй като повишаването на титъра на антителата може да се дължи на бустиране след естествена експозиция без заболяване или на експозиция към кръстосано-реагиращи антигени. Независимо от това, подобрената откриваемост не обяснява адекватно увеличаването на случаите сред кърмачета на тежък коклюш и смърт. Очаква се честотата на тези случаи да остане непроменена, тъй като е малко вероятно точно те да останат недиагностицирани и нерегистрирани. Освен това няма връзка между времето, в което тези случаи се повишават и времето на въвеждане на новите диагностични методи. Например в САЩ честотата на коклюш при кърмачета се увеличава бавно след 70-те години на миналия век, което предшества преминаването към усъвършенствана диагностика (Rohani & Drake, 2011). От друга страна, Агенцията за защита на здравето на Обединеното кралство (UK's Health Protection Agency) премина към PCR и серологична диагностика през 2006 г. (фиг. 21 и фиг. 22) (PHE, 2018; PHE, 2018a). **aP** ваксините са въведени 2005 година в Обединеното Кралство.



Фигура 21. Брой лабораторно потвърдени случаи в UK за 2009-2018.



Фигура 22. Честота на коклюш в UK, по възрастова група, 1998–2018 (PHE, 2018)

Фигура 22 представя данни от Обединеното кралство за случаите на коклюш (лабораторно доказани), разделени по възрастови категории за 20-годишен период. Въпреки колебанията в честотата на коклюш през годините, през периода 2011–2013 г. се наблюдава нарастване на заболяемостта. Това рязко увеличение не може лесно да се обясни като артефакт на засилена диагностика, която е поетапна от 2006 г. През 2007-2009 г. общия брой съобщавани случаи се увеличава от 100-300 годишно на 600-800 годишно, което съвпада и може да бъде обяснено с подобрената диагностика. Нещата рязко се променят през 2011-2012 с над 1000 и 9000 случая годишно съответно. Степента и бързината на това увеличение трудно могат да бъдат обяснени с въвеждането на нови диагностични техники. По-скоро може да се предположи многогодишен общонационален взрив на коклюш, достигащ върха си през 2012 г. Подобрената диагностика и особено PCR могат да обяснят известно увеличение в откриването и много вероятно обясняват промяната към откриване на по-леки случаи, но посочените данни показват, че увеличението в честотата на коклюша е реално, а не артефакт, което се посочва и в анализите на СЗО (WHO, 2014). Възможно е епидемията от коклюш да е възникнала след известно закъснение от прехода към *aP* ваксини през 2005 г. (Gill et al, 2017; PHE, 2018; PHE, 2018a).

9.2 Ниско ваксинално покритие

Днес повече от 100 милиона деца по света се ваксинират ежегодно срещу различни болести, като например дифтерия, тетанус, коклюш, туберкулоза, полиомиелит, дребна шарка и хепатит Б. Според СЗО благодарение на ваксинациите всяка година се предотвратяват приблизително 2-3 милиона смъртни случая по света.

Ацелуларните коклюшни ваксини са въведени в САЩ през 1991 г. в ограничено количество като 4-та и 5-та дози на *wP* сериите, като изцяло се преминава към *aP* ваксини през 1996 г. Според статистиката на CDC за всеки щат за 2018г. сред децата на възраст 19-35 месеца, повече от 95% са получили най-малко три дози *DTaP* (CDC, 2018), като въвеждането на *Tdap* бустер за юношите, за по-възрастните, а в последно време и за бременните допълнително е разширило покритието (CDC, 2012). Въпреки това честотата на случаите на коклюш се увеличава.

Подобрената диагностика, краткотрайното персистиране на антителата, отслабващата ефикасност на ваксините дължаща се на еволюционни промени и пр. допринасят за възвръщането на коклюша, но много вероятно е ключовият фактор допринасящ за това да е имунологичен. Подобно на конюгатните протеин-полизахарид съдържащи ваксини, цялостната ефективност на една масово използвана в дадена популация коклюшна ваксина е функция на нейните директни и индиректни ефекти. Изглежда, че липсата на лигавичен имунитет след *aP* ваксинация се оказва ключово ограничение за цялостната ефективност на тези ваксини и според Lapidot & Gill (2016) е най-важния от всички фактори отговорни за възвръщането на коклюша. Ако това е вярно, това заключение би имало твърде широко-обхватни въздействия. Възвръщането на коклюша през последните две десетилетия е едновременно криза в общественото здравеопазване и обществените отношения. Броят на колебаещите се относно ваксините се увеличава и населението става все по-скептично относно професионалните изявления, касаещи ваксиналната политика. С въвеждането и разширената употреба на *aP* ваксините и техния неуспех да поставят под контрол заболяемостта от коклюш, изглежда все по-вероятно да се появи необходимост от радикални решения. Те могат да включват възвръщането на *wP* ваксинациите в някоя част от имунизационния календар на кърмачетата или дори създаване на напълно нова коклюшна ваксина. Независимо как ще се развие този

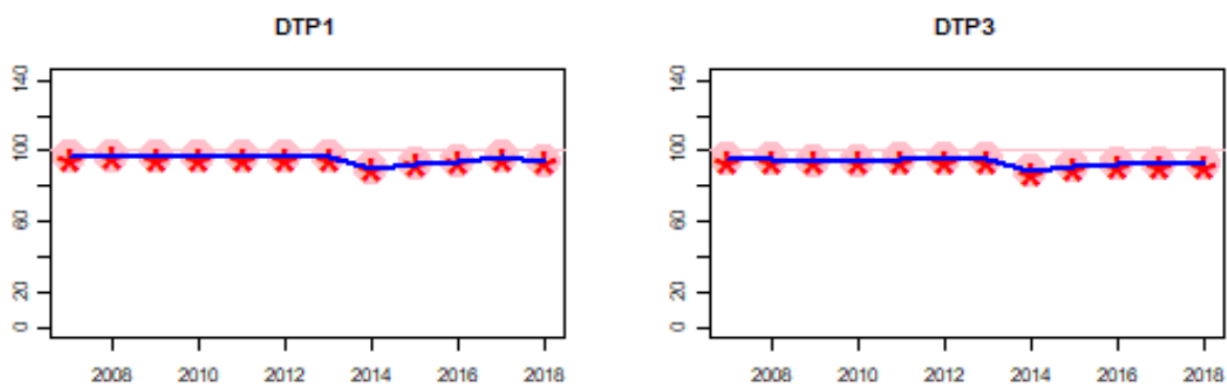
процес разбирането за това как новите или подобрени коклюшни ваксини ще повлияят на лигавичния имунитет е от голямо значение.

В България имунизационния обхват е подобен на наблюдаваните тенденции в останалите страни (табл. 2 и фиг. 23).

Таблица 2. Имунизационен обхват с коклюшна ваксина, по приеми и за периода 1993-2009 (Владиминова, 2010).

Година	Имунизационен обхват (%)		
	1993-2000	2001-2007	2008-2009
DTwP3	97.7–93.3%	93.6–95.0%	95.3-94.1%
DTwP4	97.2-87.9%	89.7-94.0%	93.7-93.2%
DTaP5			80.6-86.0%

По данни на СЗО за 2018 година, ваксиналното покритие е в рамките на над 90% за последните години.



Фигура 23. Ваксинално покритие за България според данни на СЗО.

9.3 Отказ от ваксини

Въпреки добрите резултати, в някои страни се наблюдават безпрецедентни епидемии от болести, предотвратими чрез ваксинация, поради недостатъчното ваксинално покритие. Спадът в общественото доверие по света по отношение на ваксинациите, са причина за безпокойство и голямо предизвикателство за общественото здравеопазване. Както и при морбили, взривовете от коклюш сред неваксинирани или непълно ваксинирани популации са добре документирани (Glanz et al, 2009). Случаите на коклюш сред такива общности непрекъснато се увеличават, което

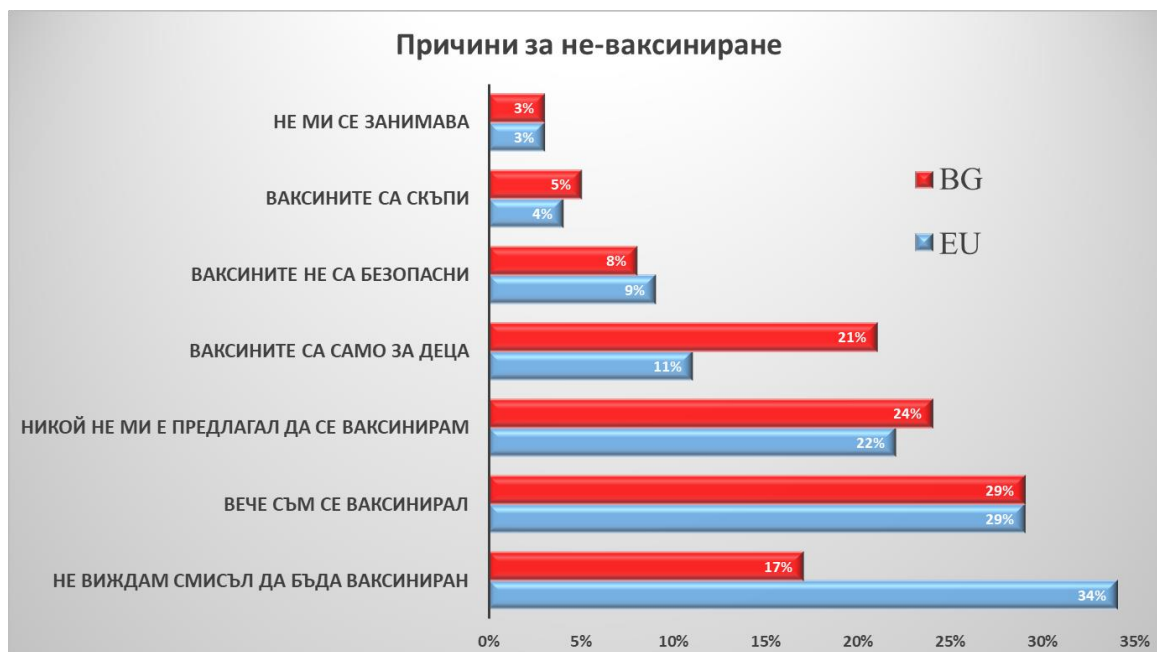
предполага, че неваксинираните или непълно ваксинираните индивиди представляват риск за обществото (Phadke et al, 2016). Въпреки това, при положение, че средното ваксинално покритие за коклюш в САЩ е толкова високо, влиянието на отказващите ваксини общности би трябвало по дефиниция да е слабо и в голяма степен ограничено до тези общности. Трудно е да се види как това би могло да засегне в значителна степен общото увеличение на случаите на коклюш отнасящо се до цялото население на САЩ. Недостатъчното ваксинално покритие е важен фактор при местните взривове, но е недостатъчно за да обясни общото и повсеместно увеличение на коклюша. Най-честите причини за отказ от ваксинация (EU, 2019) са представени на фиг. 24.



Фигура 24. Проучване на отношението към ваксините сред 27524 жители на ЕС (EU, 2019).

От проучването става ясно, че само 70% от българското население са убедени в някаква степен в ефективността на ваксините. Интересен е факта, че само в България, от 28 държави, 33% от анкетираните отговарят уклончиво със „зависи от заболяването и не знам“. 7% от българското население не са убедени в ефективността на ваксините.

Основните причини, които хората изтъкват за липсата на ваксинация са представени на фиг. 25.



Фигура 25. Най-често срещаните отговори на въпроса „Защо не сте се ваксинирали?“

На въпроса „Ваксините отслабват ли имунната система?“, 36% от българите са отговорили с „не знам“, като този отговор средно за ЕС е 14%. Аналогичен резултат е получен на въпроса „Ваксините могат ли да причинят заболяването срещу което са насочени?“. С не знам са отговорили 38% от българите, при среден резултат за ЕС – 13%. Аналогично е и с въпроса „Ваксините често ли причиняват тежки нежелани ефекти?“. Отново 34% от българите отговарят с „не знам“, при средна стойност за ЕС – 11%. Несигурността в отговорите на българското население, говори за липса на информираност, както и за нужда от поддържане на информираността на обществото относно имунизациите.

9.4 Слабо персистиране на антителата

Факторите, чрез които се постига и поддържа имунитета към коклюша са сложни и все още недостатъчно изяснени. След естествена инфекция или имунизация се изработват антитела срещу множество антигени на *B. pertussis*. Първоначално се е считало, че естествената инфекция с *B. pertussis* предизвиква доживотен имунитет, но впоследствие наблюденията са показали, че това не е така и имунитетът изчезва с времето. Изследвания при неваксинирани деца в Холандия и Сенегал са установили, че реинфекцията след прекаран коклюш не е необичайна и продължителността на защитата след първия епизод на коклюш е около 7 – 10 години (Wendelboe et al,

2005). Това явление е много по-силно изразено след имунизация за коклюш и особено при използване на **aP** ваксини. В Швеция, при проследяване на деца ваксинирани за пръв път с **aP** ваксина в кърмаческа възраст се установява липса на защита срещу коклюш към 7 – 8 годишна възраст (Gustafsson et al, 2006). По-скорошни изследвания са показали, че 5 години след завършването на началната серия **DTaP**, децата са до 15 пъти по-предразположени да заболееят от коклюш в сравнение с първите години след прилагането на серията ваксини. Изследванията също са документирали бързо спадане на антителата срещу коклюш в рамките на до 2 -3 години след последната **aP** ваксинация, често до преваксинални нива (Barreto et al, 2007; Witt et al, 2012; Weston et al, 2011; Tartof et al, 2013). Klein et al. (2012) установяват, че вероятността от придобиване на клинично проявен коклюш след 5-та доза **DTaP** се увеличава с 42% за година. Подобно на това, мета анализ на McGirt & Fisman (2015) оценява, че вероятността от клинична проява на коклюш се увеличава с 33% за всяка година след последната **aP** ваксинация, така, че само 10% от напълно ваксинираните деца биха останали защитени след средно 8,5 години. Въпреки, че нивата на антителата сами по себе си не са единствен показател за изчезващ имунитет, рискът от инфекция остава. Юноши, които са били имунизирани в кърмаческа възраст с **aP** са били с много по-висок риск (почти 6 пъти повече) за инфектиране с коклюш в сравнение с други, ваксинирани с **wP** (Klein et al, 2013). Проучване в САЩ изследващо кърмачета по време на годините на преминаване от **wP** към **aP** ваксини установява, че получаването на дори само една доза **wP** ваксина в хода на серия от **aP** ваксини, води до значително подобрена защита в сравнение с децата получавали само **aP** ваксини (Liko et al, 2013). Очевидно е, че ограниченото персистиране на имунитета след **aP** ваксини, а също и в по-малка степен след **wP** ваксина и естествена инфекция, играе важна роля за поддържане на коклюшната инфекция сред популацията. Логично е, ако проблемът е единствено в слабото персистиране на антителата да се очаква увеличението да е пропорционално на увеличаващата се възраст и да е най-голяма при юношите, по-слабо при децата в училищната и ранната детска възраст и най-ниско от всички при ваксинираните кърмачета, което и показват данните на Обединеното кралство (PHE, 2018). Увеличенията са двувърхови като са най-големи при тези на 10 и повече години и при децата под три месечна възраст.

Увеличението сред юношите е лесно обяснимо със слабото имунологично персистиране след ваксинацията, докато увеличението сред кърмачетата, твърде

малки за да бъдат ваксинирани е по-добре обяснимо с общото увеличение на коклюшното предаване, което може да произлиза от по-големите по възраст групи. Имунологичното персистиране на защитата предизвикана от **aP** ваксините се оказва по-слабо от очакваното и много вероятно допринася за възвръщането на коклюша сред по-големите възрастови групи. Също така е много вероятно тези групи да служат като резервоар на инфекцията, което да допринася за разпространението на коклюша сред най-малките кърмачета.

Повишаването на случаите на коклюш обаче е синхронно сред всички възрастови групи, което означава, че предаването на заболяването се случва паралелно и засяга всички тях (Althouse & Scarpino, 2015; Prince et al, 2012). Така, че отслабващият имунитет е вероятно важен фактор за възвръщането на коклюша, но далеч не обяснява всичко. Освен това един поглед върху диаграмите (фиг. 12 и фиг. 21) за заболяемостта от коклюш в повечето страни навежда на мисълта, че проблемът се появява 12 – 15 години след преминаването към **aP** ваксини и трябва да се има предвид, че имунизирването с **aP** не премахва носителството.

9.5 Еволюционни промени засягащи *B. pertussis*

За разлика от **wP** ваксините, които излагат имунната система на човека на широк спектър от антигени на *B. pertussis*, **aP** ваксините включват малък брой силно стандартизирани антигени или дори само един (напр. съдържащите само пертусис токсонид ваксини). Въпреки, че са далеч по-слабо реактогенни, техен потенциален недостатък е, че са по-слабо адаптивни към измененията в генома на *B. pertussis* (Gill et al, 2017).

По аналогичен начин на антибиотичната резистентност, ваксините могат да упражнят натиск върху бактериите за еволюция в други антигенни изоформи на включените във ваксините протеини (Mooi et al, 2009; Belcher & Preston, 2015; King et al, 2010; Sealey et al, 2015; van Gent et al, 2012; Hardwick et al, 2002). В случая с *B. pertussis* тази адаптация се случва чрез поне три известни механизма:

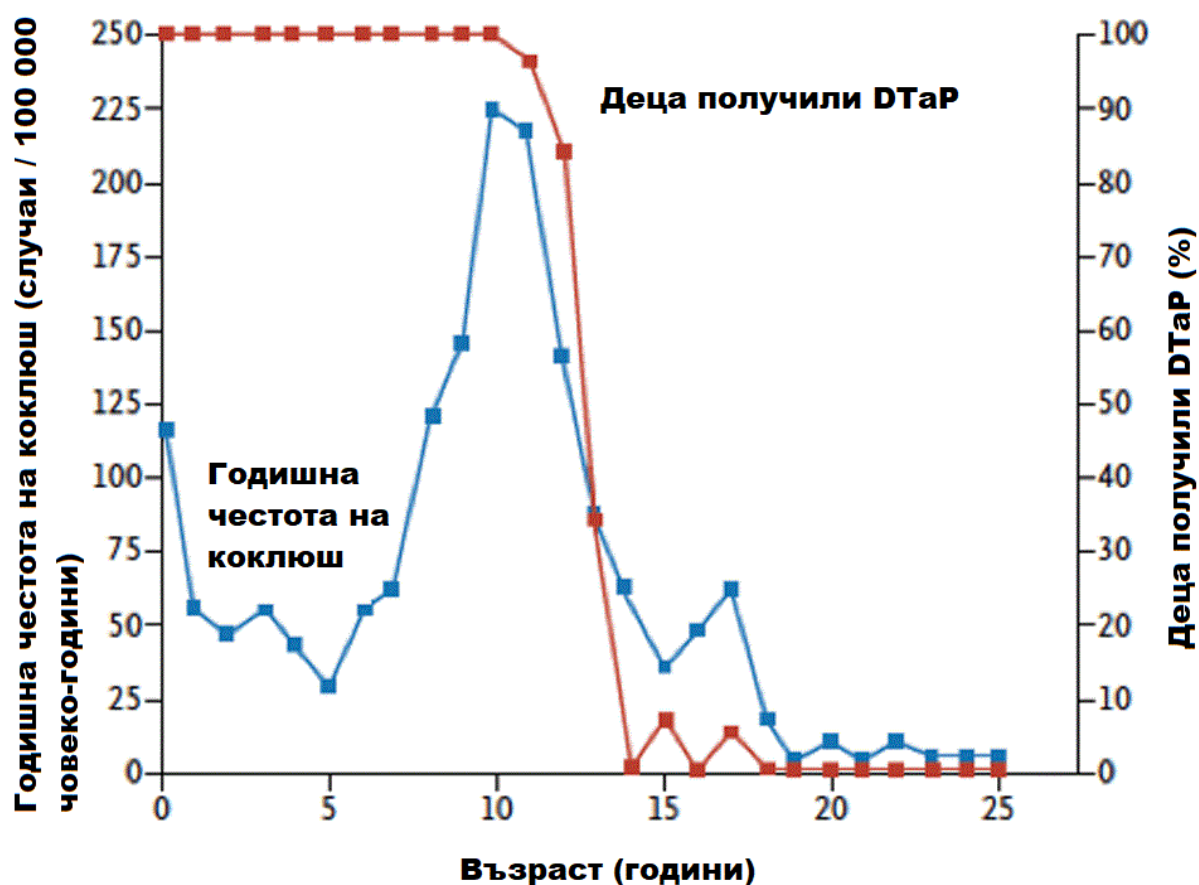
- антигенно изместване от покритите от **aP** ваксината антигени
- изтриване на покритите от **aP** ваксината антигени
- свръхпродукция на антигени.

В сравнително проучване, обхващащо последните 100 години, Bart et al. (2014) анализират генома на 343 болестотворни изолати на *B. pertussis*, събрани от 19 страни по целия свят, обхващащи преваксиналната ера, *wP* ваксиналната ера и *aP* ваксиналната ера (Bart et al, 2010; Bart et al, 2014). Въвеждането на *aP* ваксините и в по-малка степен на *wP* ваксините изглежда съвпада с шифтове далеч от специфичните алелни форми на гените, кодиращи повечето от *aP* ваксиналните антигени. Това включва FIM 2 и FIM 3, PRN и PTx. При всеки от случаите има шифт (преместване) към алелни изоформи, генетично различни от съдържащите се в *aP* ваксината (Advani et al, 2011).

Главните изменения в антигенните генни алели са били от PTxA2 към PTxA1, FIM 2-1 към FIM 2-2 и PTxP1 към PTxP3 като във всеки един от случаите е имало преминаване от специфичните, включени във *aP* ваксините антигенни алели към непокрити от *aP* ваксините алели. Mooi et al. (2009) откриват в края на 1980-те, че се появяват *B. pertussis* щамове с увеличено производство на пертусис токсин. В този случай PT промотера е показвал относително високо ниво на полиморфизъм, което предполага, че свръхпроизводството на PT има адаптивно значение. Новите щамове, носещи PTxP3 алел са били по-вирулентни към хората, давали са по-висока честота на хоспитализациите и смъртните случаи и PTxP3 промотера преекспонира далеч по-силно пертусис токсина в сравнение с PTxP1 промотера (Mooi et al, 2009; Belcher & Preston, 2015; de Gouw et al, 2014; Hegerle et al, 2012; Octavia et al, 2012; Advani et al, 2011). Един още по-дефинитивен път за „бягство“ е бил отбелязан от множество лаборатории - коклюшни изолати, които изцяло спират да експресират един или повече от гените за включените в *aP* антигени. Това включва изолирана или в комбинации PRN, FHA и сравнително отскоро и PT (Hegerle et al, 2012; Barkoff et al, 2012; Quinlan et al, 2014; Martin et al, 2015). Забележително е, че PRN експресиращите щамове *B. pertussis* са почти изцяло изчезнали в САЩ и се появяват PT (-) щамове, което е учудващо като се има предвид, че PT се приема за obligaten фактор на вирулентността (Lapidot & Gill, 2016).

Оказва се, че краткотрайното персистиране на антителата и тенденциите за избягване на *aP* ваксините не са достатъчни да обяснят възвръщането на коклюша. Интересен е случая с Швеция, където повече от 20 години се използва моновалентна, *aP* ваксина, съдържаща само пертусис токсин и която е запазила все още ефикасността си, независимо от натрупването на щамове *B. pertussis* съдържащи

невключени във ваксината алели (Advani et al, 2011). От друга страна е установено, че тези промени се натрупват постепенно с времето. Увеличаването на заболяванията от коклюш в страните, които са преминали от *wP* към *aP* ваксини във всички случаи е ставало след стереотипно закъснение от 5-10 години, което съвсем не е това, което може да се очаква, ако проблемът се дължеше на бавно натрупване на мутации (Lapidot & Gill, 2016). Добър пример за това представя естествения експеримент предоставен от преминаването в САЩ от *wP* към *aP* ваксини между 1991-1996 г. Същото се случва у нас през 2008-2010 година. Klein et al. (2012) изследват честотата на потвърдени с PCR случаи на коклюш като функция на възрастта, възможност за което се предоставя от естествения експеримент: всеки под 11 год. възраст би трябвало основно да е получил *aP* ваксини, тези над 15 год. възраст би трябвало да са получавали само *wP* ваксини, а тези между 11-15 год. възраст биха получавали смесена схема от *wP* и *aP* ваксини. Както е показано на фиг. 26, честотата на коклюша се увеличава с напредването на възрастта към 10 години – тенденция, която се обяснява добре с намаляващия имунитет.



Фигура 26. Заболеваемост от коклюш при използване на *aP* или *wP* ваксини (Gill et al, 2017).

След това обаче, честотата рязко спада сред по-възрастните групи, които са получили частично или изцяло **wP** ваксинални схеми като кърмачета, като спада почти до нула сред тези на 15 и повече години. Тези данни предполагат, че **wP** ваксините са били далеч по-ефективни от **aP** ваксините и са индуцирали защита за сигнификантно по дълго време (напр. над 15 години). Такива значими разлики повдигат въпроса: работят ли двата класа ваксини имунологично по един и същи начин? Еволюционните шифтове са вероятно в отговор на **aP** ваксините (и в по-малка степен на **wP** ваксините) и очевидно допринасят за възвръщането на коклюша чрез намаляването на ефикасността на определени **aP** ваксини. Размерът на този принос остава неясен, както и това, че рязкото увеличение в честотата на случаите не се припокрива добре с еволюцията като движещ фактор.

Освен това степента, в която тези мутации допринасят за цялостното възвръщане на коклюша все още не е установена. Еволюцията може да бъде фактор, но далеч не обяснява всичко.

9.6. Трансплацентарни антитела

Майчините антитела осигуряват пасивен имунитет на новороденото. Стерилната среда на маточната кухина предлага частична защита на плода, но майчино-феталните инфекции се появяват и са най-опасни в началото на бременността, преди да се извърши значително пренасяне на защитните майчини антитела към плода. Прехвърлянето на тези антитела става през плацентата чрез неонатален Fc рецептор (FcRn) и зависи от гестационния стадий, зрелостта на плацентата и нивото на антителата в кръвообращението на майката, което предполага регулирана и наситена система за трансфер (Kim et al, 2009; Palmeira et al, 2012). При човека, трансферът на майчините антитела започва още на 13-та гестационна седмица. Антителата, свързани с FcRn, са защитени от разграждане, докато свободните антитела се разграждат много по-бързо. Интересно е, че нивото на имуноглобулин (IgG) в кръвообращението на плода е сравнително ниско (5–10% от майчиното ниво) на 17–22 седмици, достигайки 50% към 32 седмица и обикновено превишава нивото на майката при раждане (Malek et al, 1996). Бебетата, които се раждат преждевременно, имат много по-ниски нива на общия IgG (van den Berg et al, 2011). Понастоящем не е известна природата на регулиране на IgG във феталната циркулация. Плацентарният трансфер на майчините антитела зависи от класа на антителата (IgG е единственият

клас, който значимо преминава в плода), от техния подклас, или изотип. При хората IgG1 се пренасят преференциално, следвани от IgG4 и в по-малка степен от IgG3 и IgG2 (Palmeira et al, 2012; Garty et al, 1994). Защитната роля на майчините антитела се разпростира върху новороденото, чиято имунна система не е напълно развита. В допълнение към антителата, присъстващи при раждането, антитела се доставят след раждането и чрез майчиното мляко. Сред различните животински видове се наблюдава разлика в степента на пренасяне на антитела от майката през плацентата. При примати и гризачи има значително пренасяне на майчини антитела през плацентата, докато при други животински видове - овце, коне, говеда и свине, новородените получават големи количества майчини антитела за първи път по време на лактация (Hurley & Theil, 2011).

10. Стратегии за превенция и подобряване на контрола на заболяемостта

Стратегиите за предотвратяване на ранна детска коклюшна инфекция включват универсална ваксинация за възрастни и юноши, ваксинация с „пашкул“ на онези, които са в близък контакт с кърмачета, ваксинация на майката и неонатална ваксинация.

- Преди възвръщането на коклюша, СЗО препоръчва първична серия от три дози, като първата доза се прилага на 6-седмична възраст; следващите дози трябва да се дават през интервал от 4-8 седмици, на възраст от 10-14 седмици и 14-18 седмици. Последната доза от тази първична серия трябва да бъде завършена до 6-месечна възраст. В допълнение, бустер доза се препоръчва за деца на възраст 1-6 години, за предпочитане през втората година от живота. Бустерът трябва да се прилага ≥ 6 месеца след последната основна доза. С тази схема с четири дози (първична серия плюс бустер) се очаква поне 6 години защита срещу коклюш (Gaillard et al, 2015; Wendelboe et al., 2005; WHO, 2010).
- С възвръщането на коклюш, Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP), на центровете за контрол и превенция на заболяванията в САЩ (CDC), Global Pertussis Initiative (GPI) и други международни и национални организации, препоръчват бустерни дози за подрастващите и възрастните с цел подобряване на контрола на заболяванията (Broder et al. 2006; CDC, 2011a; CDC, 2011b).

Няколко държави препоръчват и/или прилагат бустер дози с **aP (Tdap)** за подрастващи (Аржентина, Австралия, САЩ, Франция и др.) и/или заменят дозата на 10 годишна възраст Td с една или повече дози **Tdap** за възрастни (включително сред други като САЩ, Австралия, Австрия, Италия). Освен това някои страни препоръчват избирателна имунизация на бременни жени, работници, които се грижат за деца и родители на новородени (например Аржентина, Австрия и Германия) (ECDPC, 2019). Ползите от ваксинацията с **Tdap** бустер, когато се прилага върху определена възрастова група подрастващи или възрастни, са довели до адекватност само за групата на населението, която получава ваксината през първите години след ваксинацията (Acosta et al, 2015; Haller et al, 2015; Vandermeulen et al, 2015). Имунизацията на тези групи обаче не влияе върху честотата на заболяването при по-уязвимата популация, представена от новородените и бебетата под 6 месеца (Stein-Zamir et al, 2010; Fabricius et al, 2013). Недостатъци на тази стратегия са: предразсъдъци относно имунизацията на бременните жени и възможност твърде високите титри на получените трансплацентарно антитела при новородените да повлияят негативно на последващите имунизации.

Данните от три малки проучвания, изследващи прилагането на ваксини, съдържащи **aP** ваксина през първата седмица от живота, са противоречиви (Belloni et al, 2003; Halasa et al, 2008; Knuf et al, 2008). В две от тях се стига до заключение, че с едновалентни **aP** коклюшни ваксини при раждане, може да се постигнат по-ранните отговори на антителата (Belloni et al, 2003; Knuf et al, 2008), но проучването, което използва комбинирана ваксина **DTaP** при раждането (Halasa et al., 2008), показва по-ниски по-късни реакции на антитела. Wood et al. (2010) отчитат имунологичните и клиничните резултати, сравнявайки 2 дози моновалентна **aP** коклюшна ваксина (Glaxo Smith Kline, Белгия) при раждане и на 4-седмична възраст с моновалентна **aP** коклюшна ваксина само при раждане и стандартна практика. Резултатите показват, че **aP** ваксинация при раждането и 1 месец по-късно предизвикват сигнификантно високи IgG антитела срещу пертусисните антигени.

В последните години, въз основа на наличните доказателства, GPI препоръчва имунизацията на майката по време на бременност като основна стратегия за защита на новородени и бебета (Forsyth et al, 2015; McIntyre & Clark, 2014; Halperin & Halperin, 2011; Halperin et al, 2011; Healy et al, 2012; Libster & Edwards, 2011; Mooi & Greeff, 2007; Munoz, 2007; Van Rie et al., 2005; ACOG, 2017).

Ако имунизацията на майката не е възможна или ако семействата желаят допълнителни защитни мерки за своите новородени, тогава се препоръчва всички лица, които имат близък контакт с бебета на възраст ≤ 6 месеца, да бъдат имунизирани в съответствие с указанията на местните здравни власти. GPI посочва, че трябва да се отдава висок приоритет на постигането на „пълна пашкул“, дефиниран като пълна имунизация на семейството, тъй като защитата срещу коклюш е функция на броя на ваксинираните контактни с бебето. Ако „пълна пашкул“ не е възможен, тогава следващият приоритет е ваксинацията на двамата родители, следвана само от майката. За семейства, които използват пашкули, имунизацията трябва да се случи по време на бременност или веднага след раждането, за да се предотврати предаването на коклюш при кърмачета под 6 месечна възраст (Forsyth et al, 2015). Имунизацията с **aP** на околните предпазва самите тях от заболяване от коклюш, но не им пречи да са носители и да разпространяват инфекциозния причинител (Warfel et al, 2014).

Важно е да се отбележи обаче, че данните за клиничната ефективност на различните наскоро препоръчани стратегии за ваксинация срещу коклюш все още остават ограничени. Неоспорим факт е, че намаляването на циркулацията на *B. pertussis* и предпазването на кърмачетата от тежко заболяване е трудно постижимо чрез един подход и трябва да се прилагат множество имунизационни стратегии.

Поради горепосочената ситуация, голям интерес се поставя в разработването на нови алтернативни варианти за имунизация срещу коклюш. Липсата на абсолютен корелат на защита затруднява тази задача. Данните от експериментални модели и проучвания при хора показват, че въпреки че антителата могат да посредничат в защитата, Th1 и Th17 клетъчните отговори са отговорни за дългосрочната защита (Mills et al, 2014). Тъй като настоящите **aP** ваксини предизвикват главно Th2 отговор, бяха предложени няколко предложения за комбиниране на тези ваксини с адюванти, които могат да предизвикат Th1 отговор, поне за основните (priming doses) дози (Allen & Mills, 2014). В този смисъл е показано, че използването на TLR9 лиганд CpG постига тази цел при експериментален модел с мишки и може да представлява интересна алтернатива (Asokanathan et al, 2013). Добавянето на модифицирани LPS молекули с приемлив профил на безопасност към ацелуларен антипертусисен състав също е предложено, следвайки същата тази обосновка

(Brummelman et al., 2015). Dunne et al. (2015) идентифицират протеин на *B. pertussis* на външната мембрана, който има способността да задейства TLR2 отговора, който също може да бъде добавен към многокомпонентна *aP* ваксина и има двойна роля при оформянето на Th отговора, тъй като има антигенен капацитет сам по себе си.

В последните години, *wP* ваксините се преоценяват в сравнение с *aP* ваксините по отношение на тяхната ефективност, като продължават опитите за намаляване на присъщата му токсичност чрез промяна на производствения процес (Witt et al, 2013; Dias et al, 2013). Някои изследователи (Alvarez et al, 2011; Sebo et al, 2014; Seubert et al, 2014; Robbins et al, 2014; Polewicz et al, 2013) са идентифицирали кандидати за ваксина с потенциален интерес да бъдат комбинирани с имуногенните, които вече се използват с цел разширяване защитния капацитет на *aP* ваксините. Протеините, участващи в секвестрацията на желязо, могат да представляват алтернативни антигени, които да се използват следвайки тази стратегия (Alvarez et al, 2011). Известният фактор на вирулентност AC-hemolysin е предложен да бъде разгледан за включване във ваксината (Sebo et al, 2014). Тъй като остатъчната токсична активност може да предизвика нежелани реакции, се генерира рекомбинантен токсин с промени в критичните места, които влияят на биологичната му активност, без да променят защитния му капацитет (Sebo et al, 2014). Подобно на PT токсина, присъщата биологична активност на adenilate cyclase (AC) предизвиква неблагоприятни ефекти, които се предотвратяват чрез химическа детоксикация на протеина чрез третиране с cross-linking агенти като формалдехид или глутаралдехид. Тази обработка обаче засяга и защитните епитопи, което води до неоптимален защитен капацитет. Има опити за генериране на рекомбинантни варианти на PT, които имат ниска биологична токсичност, без това да повлияе на неговата конформация и съответно да произведе високо качество на блокиращи антитела (Seubert et al, 2014). Предложено е да се използва този ново-формулиран антиген с различни адювантни схеми, за да се постигне адекватен профил на клетъчен отговор (Robbins et al, 2014). Освен това са предложени други комбинации от нови кандидат-имуногени и адюванти (Polewicz et al, 2013), което проправя пътя за бъдещи сравнителни изследвания или селекция на подходяща комбинация антиген/адювант.

Напълно различен подход е последван от Lochter et al. (2001) които генерират атенюиран *B. pertussis* щам, въвеждайки няколко мутации в три ключови фактора на вирулентност, показващи способността на този щам да действа като атенюирана

жива ваксина, когато бъде доставена интраназално (Mielcarek et al, 2006). Доказано е, че тази ваксина създава дълготраен защитен имунитет, свързан с преходна колонизация в експериментален модел с мишки (Feunou et al, 2010), както и генериране на имунитет В и Th1/Th17 (Feunou et al, 2010a). Допълнителни мутации във фактори на вирулентност, като аденилат циклаза, която влияе върху способността на ваксиналния щам *B. pertussis* ZE1 (BPZE1) да се репликира *in vivo*, се оказват вредни за защитния капацитет на този кандидат за ваксина (Lim et al, 2014). Тъй като съществуващият антипертусисен имунитет може да повлияе на способността на ваксиналния щам да се колонизира и впоследствие да генерира защитни реакции, BPZE1 е постулиран да се използва малко след раждането, с произтичащите от това рискове. Доказано е, че използването на BPZE1 като първична ваксинация и последващи дози от *aP* ваксина предизвиква Th1 отговор (Feunou et al, 2014), насърчаващ използването на този тип комбинации. Въз основа на резултатите, получени в експериментални модели, BPZE1 е бил подложен на клинично изпитване на фаза I на доброволци, следвайки схема за ескалация на дозата и показващи приемлив профил на безопасност (Thorstensson et al, 2014). Генерирането на В-клетъчен отговор, приписван на колонизация с BPZE1, се наблюдава при участниците в това рандомизирано проучване (Jahnmatz et al, 2014). Продължава провеждането на проучвания за развитието на ваксината срещу коклюш следвайки тази стратегия.

Особености на имунизации при недоносени

Недоносените бебета са по-уязвими към някои инфекциозни заболявания, като коклюш, в сравнение с доносените. Преждевременно родените деца имат сходни имунологични отговори след имунизация срещу коклюш, както и еднаква ефективност на ваксинирането по отношение предотвратяване на хоспитализация поради коклюш или инвазивно пневмококово заболяване.

Ваксинацията, започвайки от приблизително 8 седмична (**календарна**) възраст, може да осигури на недоносените деца важна, ранна защита и да намали риска от тежко заболяване, особено по отношение на коклюш (Aronsson et al, 2018).

Според Наредба №15 (от 12 май 2005 г., доп. ДВ. бр.38 от 12 Май 2017г.) за имунизациите в Република България, недоносените деца се ваксинират с БЦЖ и НВУ след достигане на тегло от 2000 г. В случаите, когато майката е с позитивен

HBsAg, имунизацията срещу хепатит тип Б се провежда в първите 12 часа след раждането независимо от теглото и гестационната възраст на недоносеното дете. Всички останали имунизации при недоносени деца се провеждат след навършена **коригирана** двумесечна възраст, т.е. два месеца след определения термин за раждане (например при термин за раждане 20.IX.2019 г. и раждане на 20.VII.2019 г. детето може да се имунизира след 20.XI.2019 г.).

Промени в Наредба за изменение и допълнение на Наредба № 15 от 2005 г. за имунизациите в Република България

Предложени са промени в Имунизационния календар на Република България, които касаят намаляване приемите на основна имунизация на пневмококова конюгирана ваксина от три на два при деца до 6-месечна възраст; отпадане на проба Манту и реимунизация срещу туберкулоза при деца на 11-годишна възраст и **въвеждане на реимунизация срещу коклюш при деца на 12-годишна възраст**. Промените са свързани с необходимостта от осъвременяване на националната имунизационна политика в съответствие с препоръки на Световната здравна организация и европейските имунизационни схеми и с направени от Експертния консултативен съвет по надзор на имунопрофилактиката предложения до министъра на здравеопазването. Промените ще влязат в сила от 01.01.2020 година.

Имунизациите на недоносени деца в повечето страни от ЕС, САЩ, Канада, Австралия, Израел и други се извършват по календарна, а не по коригирана възраст. Имулната система е почти напълно развита след 14 гестационна седмица и това позволява на новородените да преживеят прехода от утробата (която до голяма степен е стерилна) към света, където веднага влизат в контакт с милиони бактерии и вируси. Незрялостта на недоносените като цяло (органи и системи) ги прави особено уязвими към инфекциозни заболявания. Това обяснява защо ваксинирането трябва да е по календарна, а не по коригирана възраст. Ваксиналните дози са едни и същи при доношените и недоносените деца (Saari, 2003).

Описани са състояния на ABD (apnea, bradycardia and desaturation) като постваксинална реакция след прилагане на **wP**. Появата им е в пряка зависимост от гестационната възраст – колкото по-висока е гестационната възраст, толкова по-ниска е честота на поява на апнея в 48–72 часа след ваксинация. Повишен риск от развитие на апнея/ABD след ваксинация имат:

- родени преди 30 г.с.;
- недоносени със съпътстващо сериозно респираторно заболяване;
- недоносени, прекарвали сепсис.

Тези деца подлежат на кардио-респираторен мониторинг за 48 часа след ваксинацията. В нито едно проучване не е намерена причинно-следствена връзка между ваксинация и летален изход (Aronsson et al, 2018).

Безопасността на DTwP, DTaP, Hib и IPV ваксини, дадени на недоносени и новородени с ниско тегло, е сравнима с тази при доносените деца. Не се наблюдава повишаване на нежеланите реакции от ваксината. При децата родени с екстремно ниско тегло (ELBW), някои от проучванията съобщават за настъпила апнея в рамките на 72 часа след получаване на **DTwP** ваксина в 12% от случаите, а други не съобщават. Не се съобщава за настъпване на апнея при ELBW след прилагане на **DTaP** ваксина (Saari, 2003).

11. Заключение

Коклюшът е силно заразно заболяване и може да доведе до сериозни усложнения, включително и смърт, особено при новородени и кърмачета. През последните 30 години и особено след въвеждането на **aP** коклюшни ваксини, се наблюдава постоянно увеличаване на случаите на коклюш във всички възрастови групи и най-вече сред децата до 9 годишна възраст в цял свят. Все още учените нямат задоволително обяснение на този факт. Подобрената диагностика, краткотрайното персистиране на антителата, отслабващата ефикасност на ваксините дължаща се на еволюционни промени и пр. допринасят за възвръщането на коклюша, но много вероятно е ключовият фактор допринасящ за това да е имунологичен. **wP** ваксините поради самото си естество включват стотици или хиляди нестандартизирани антигени в различни концентрации, докато **aP** ваксините съдържат 1-5 високо пречистени антигени на *B. pertussis*. Ключов момент е, че имунните реакции предизвиквани от **aP** ваксините се различават фундаментално от тези предизвиквани от **wP** ваксините и не водят до създаване на лигавичен имунитет. Една основна разлика между двата типа ваксини е, че **wP** ваксини предизвикват преобладаващо Th17 отговор (с по-малък принос и от Th1-клетки), докато **aP** ваксините предизвикват само Th2 отговор.

Все още няма консолидиран модел, свързан с преминаването от **wP** към **aP** ваксини върху съобщените проценти на разпространение на коклюш. В световен мащаб има необходимост от стандартизиране на програмите и методологията за откриване, потвърждаване и наблюдение на случаи на коклюш.

В България докладваните случаи на коклюш са сравнително малко. Според имунизационния календар на Република България, жените, които към 2019 година са в детеродна (15-46 години) възраст са били имунизирани с **wP**, като бустер са получили на 4 годишна възраст. Подрастващите и възрастните са най-честите носители и резервоари на инфекцията и съответно причина за високата заболяемост сред новородените и малките деца.

След естествена инфекция или имунизация се изработват антитела срещу множество антигени на *B. pertussis*, които персistirат до 7-10 години, след което имунитета намалява. Антителата след **aP** ваксинация бързо намаляват 2-3 години след ваксинацията. Само 10% от напълно ваксинираните деца с **aP** ваксинация са защитени след 7-10 години след последния бустер, което е показател за изчезващ имунитет. Увеличението сред юношите е лесно обяснимо със слабото имунологично персистиране след ваксинацията, докато увеличението сред кърмачетата, твърде малки за да бъдат ваксинирани е по-добре обяснимо с общото увеличение на коклюшното предаване, което може да произлиза от по-големите по възраст групи. Имунологичното персистиране на защитата предизвикана от **aP** ваксините се оказва по-слабо от очакваното и много вероятно допринася за възвръщането на коклюша сред по-големите възрастови групи. Също така е много вероятно тези групи да служат като резервоар на инфекцията, което да допринася за разпространението на коклюша сред най-малките кърмачета. Новородените получават от майката антитела тип IgG, които персistirат у новороденото до 6 месечна възраст, осигурявайки пасивен имунитет. По този начин нивото на антителата, които майката предава на новороденото играе ключова роля за предпазването му от инфекции през първите няколко месеца от живота.

В последните години се обръща особено внимание на имунизация на бременните жени като подход със справяне с нарастващите случаи на коклюш сред новородените. Ако имунизацията на майката не е възможна или ако семействата желаят допълнителни защитни мерки за своите новородени, тогава се препоръчва всички лица, които имат близък контакт с новородените да се имунизират с **aP**.

II. ЦЕЛ И ЗАДАЧИ

1. Цел

Целта на настоящата дисертация е да се установи честотата на прекарана коклюшна инфекция при жени в детеродна възраст и до колко новородените са защитени от коклюшна инфекция при раждането им и непосредствено след него чрез обсервационно, проспективно, популационно проучване при родилки и техните новородени в Първа специализирана акушеро-гинекологична болница за активно лечение „Света София“ и в Клиника по неонатология на Специализирана болница за активно лечение по детски болести – “проф. д-р Иван Митев” за периода юни 2017 г. до март 2019 г.

2. Задачи

1. Събиране на демографски, биологични, социални и икономически данни сред жени в детеродна възраст.
2. Да се измери нивото на IgG антитела срещу *B. pertussis* токсин (anti-PT IgG) при случайно подбрани български родилки и техните новородени и да се определи корелацията между майчините и детските антитела.
3. Да се определи има ли зависимост между титъра на антителата на новородените, възрастта на майката, техния пол, тегло при раждане и гестационната седмица на раждане.
4. Да се определи ефективността на майчино-детския трансплацентарен транспорт на антитела спрямо гестационната седмица на раждане.
5. Да се определи степента на защита на новородените в следствие преминалите трансплацентарно anti-PT антитела чрез екстраполиране на антителата при новородените на 6 седмична възраст.
6. Да се определи каква е честотата на прекарана коклюшна инфекция сред жени в детеродна възраст в Република България спрямо получените резултати.
7. Да се предложи най-подходящата за българските условия стратегия за борба с коклюша във възрастта до началото на имунизациите.

III. МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

1. Дизайн на проучването

Беше проведено обсервационно, проспективно, популационно изследване в родилна зала на Първа специализирана акушеро-гинекологична болница за активно лечение „Света София“ и в клиника по неонатология на Специализирана болница за активно лечение по детски болести – “проф. д-р Иван Митев” от юни 2017 г. до март 2019 г.

Критерии за включване в проучването:

- 1) съгласие от страна на майката
- 2) възраст между 14 и 46 години

Критерии за изключване от проучването:

- 1) деца с големи вродени дефекти
- 2) деца с хромозомни аномалии
- 3) бебета или майки със сериозни неврологични заболявания
- 4) бебета или майки със сърдечни заболявания
- 5) бебета или майки с бъбречни заболявания
- 6) двуплодна бременност

Всички родители, взели участие в проучването, бяха подробно информирани за целите, методите, начина на вземане на пробите, както и обществения принос от бъдещите резултати. Подписаха доброволно информирано съгласие (Приложение 1) и попълниха анкетна карта (Приложение 2), съдържаща демографски, биологични, социални и икономически характеристики на участниците. Такива са: възраст на майката, професия, образование, етническа принадлежност, тегло при раждането на новородените, ръст, гестационна възраст, начин на раждане, брой хора в домакинството и история на детската или антенатална ваксинация.

На всяко новородено беше извършен обстоен физикален преглед и бяха снети антропометрични показатели от лекар – неонатолог.

В изследването бяха включени 242 случайно подбрани български майки и техните 242 новородени. Поради неуспех при взимането или неправилно съхранение на кръвта, взета от майките, при 11 от двойките е изследвано само новороденото. Общият брой на майките е 231 майки, от които 191 майки на доносни новородени и 40 майки на недоносни новородени. Общият брой на новородените е 242

новородени, от които 196 са доносни и 46 са недоносни. Броят двойки майка-новородено е 231, от които 191 новородени са доносни и 40 са недоносни. Изследваните двойки бяха разделени в две кохорти: доносни новородени (родени с гестационна възраст ≥ 37) и недоносни (родени с гестационна възраст ≤ 36).



2. Провеждане на анкета

Проведена бе пряка индивидуална анкета на родилките. Използван е специално създадена и валидирана анкета от 13 въпроса (Приложение 2).

Валидиране на анкетата

1. Беше проведено експертно валидиране на анкетата с цел да се оцени дали въпросите ефективно обхващат изследваната тема.
2. Проведено беше пилотно проучването върху подгрупа от 12 участници от планираната популация. Статистическият анализ показва, че анкетата е разбираема и няма нерелевантни въпроси.
3. След събиране на пилотни данни, те бяха въведени в електронна таблица. Данните бяха проверени от двама души.
4. Идентифицираха се основните компоненти с помощта на анализ на основните компоненти (АОК). Компонентните или факторните натоварвания, определят какви фактори се измерват с въпросите.

5. Проверена беше и вътрешната последователност на въпросите. Стандартен тест за вътрешна консистенция е Alpha (CA) на Cronbach. Стойностите на Cronbach Alpha варират от 0 - 1,0.
6. Проучването беше преразгледано въз основа на информацията, получена от PCA и CA.
7. Валидирането не показва големи промени и анкетата беше приложена на целевата популация.

3. Лабораторни методи

Непосредствено преди раждането бяха взети 2 ml венозна кръв на майката във вакутейнер с Clot- активатор и гел, а непосредствено след раждането - 2 ml кръв от пъпната връв на новороденото. Всички кръвни проби бяха етикетирани и транспортирани до клинична лаборатория към университетска болница „Лозенец“. Там пробите бяха своевременно центрофугирани и беше отделен серум. Биологичният материал беше съхранен при -80°C до изследването на серумните антитела на пертусис токсин на майките и техните новородени. Серумният пертусис токсин (PT) IgG на майките и новородените е оценен чрез Bordetella pertussis toxin (PT) IgG ELISA имуноензимен тест (NovaTec Immundiagnostica GmbH, Германия). По данни на производителя аналитичната чувствителност на теста за детекция на anti-PT антитела е под 5 IU/ml.

3.1. Принцип на метода

На дъното на гнездата на микротитърната плака е фиксиран токсинът на *B. pertussis*. При наличие на антитела срещу токсина в серумните проби, те ще се свържат специфично с токсина. След измиване за отстраняване на несвързаните субстанции, се добавя второ маркирано антитяло срещу човешки IgG, конюгирано с ензима horseradish peroxidase. Конюгираното антитяло се свързва специфично само с комплексите от токсин – анти-токсин (антиген – антитяло). Този имунен комплекс се визуализира чрез добавяне на тетраметилбензидин субстрат, който формира цветна реакция (синя). Ензимната реакция се стопира с киселина, а цветът на реакцията преминава от син в жълт. Интензитетът на цвета е пропорционален на първоначалното количество антитела срещу PT в серумната проба.

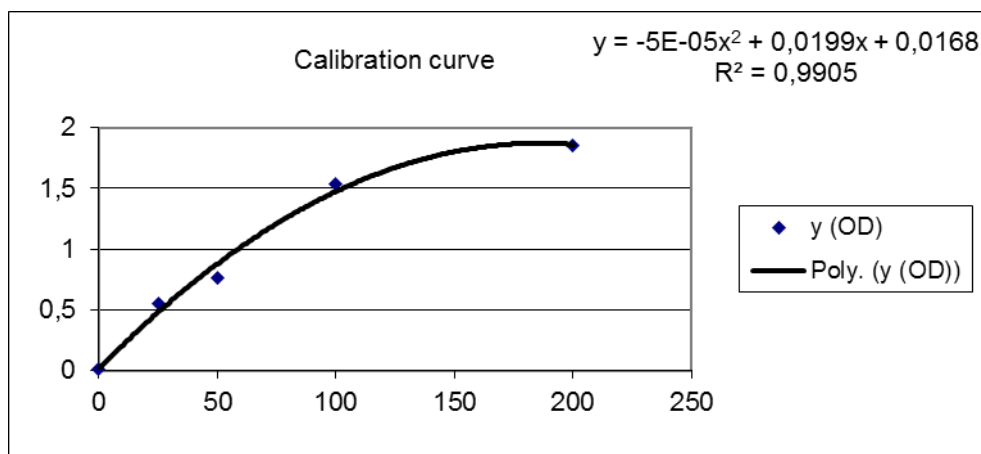
Материали, предоставени в търговския набор

96-гнездова микротитърна плака, 5 броя готови за употреба стандарти с концентрация 0, 25, 50, 100 и 200 IU/ml, готов за употреба IgG разредител за проби, готово за употреба anti-IgG конюгирано антитяло, 20-пъти концентриран Wash buffer, ТМВ-субстрат и стоп разтвор (сярна киселина), високо положителна контрола (47,07-124,09 IU/ml), слабо положителна контрола (0-20 IU/ml).

3.2. Изпълнение на метода

1. Пациентските проби се разреждат с разредител за проби 1:101 (10 µl от пробата в 1000 µl от разредител за проби).
2. Приготвяне на отмиващ буфер (10 ml от концентрата се разтварят в 190 ml дестилирана вода).
3. 96-ямковата плака се накапва в повторения по следния начин: първото гнездо се оставя празно (Blank), стандартите се накапват във възходящ ред на концентрацията, контролите и разредените пациентски проби. Покрива се с фолио и се инкубира 1 час на 37°C в инкубатор.
4. Измиване на плаката 3 пъти с по 300 µl отмиващ буфер (PBST) във всяко гнездо и подсушаване.
5. Към всяко гнездо се добавят по 100 µl от конюгираното антитяло. Покрива се с фолио и се инкубира 30 min на стайна температура. Избягва се излагане на пряка слънчева светлина.
6. Измиване на плаката 3 пъти с по 300 µl отмиващ буфер (PBST) във всяко гнездо и подсушаване.
7. Добавяне по 100 µl от готовия за употреба субстратен разтвор и инкубиране за 15 min на тъмно на стайна температура.
8. Стопиране на ензимната реакция с по 100 µl стопиращ разтвор (PBST с 3% фракция V разтвор от говежди серумен албумин).
9. Отчитане на спектрофотометър при дължина на вълната 450 nm.
10. Стандартните проби се приготвят като се използва IgG от човешки серум (Sigma-Aldrich).
11. Стандартната крива се построява при използване на поредица от разреждания в стопиращ буфер и финалните концентрации покриват диапазона от 0 до 200.

Резултатите бяха отчетени на ELISA четец при дължина на вълната 450 nm. Получените стойности на абсорбция бяха редуцирани спрямо нулевия стандарт (blank). Получените стойности на оптична плътност на всяко гнездо бяха преизчислени като концентрация (IU/ml) съгласно построената калибрационна крива от 5 стандарта (фиг. 25).



Фигура 27. Калибрационна крива.

Бяха проверени валидиращите критерии за теста, както и стойността на контролите, приложени в кита. Най-ниският праг на детекция е определен като относителна концентрация, която може да бъде различена от нулевия калибратор е < 5 IU/ml.

3.3. Интерпретация на резултатите

Обсъжда се следната интерпретация на резултатите, съгласно публикациите на Riffelmann et al, 2008; RKI-Ratgeber für Ärzte, 2010):

- ≥ 100 IU/ml – индикация за скорошна инфекция
- $\geq 40 - < 100$ IU/ml – съмнение за скорошна инфекция; препоръчва се тестиране на нова проба след 7-10 дни
- < 40 IU/ml – няма индикации за скорошна инфекция

4. Статистически методи

Дескриптивна статистика

- Вариационен анализ (количествени променливи) – средна стойност, стандартно отклонение, медиана.
- Честотен анализ (номинални и рангови променливи) – абсолютни и относителни честоти.
- Графично представяне на резултатите – линейни, стълбовидни и секторни диаграми.

Методи за проверка на хипотези

- Параметрични методи
 - paired t test t-тест – проверка за равенство на средните на две независими групи при нормално разпределение; за да се сравни нивото на титри на антитела между майката и нейното дете
- Непараметрични методи
 - Тест на Kolmogorov-Smirnov – проверка за нормалност на честотните разпределения при количествени променливи;
 - Тест на Mann-Witney при сравняване на две независими групи, когато разпределението не е нормално;
 - Chi-square test - при изследване на връзката между две категорийни променливи, като честотата на серопозитивизъм между майките и техните новородени.
 - Spearman корелационен тест – за изчисляване на връзката между продължителни променливи, като възраст на майката, гестационна седмица и anti-PT IgG титъра.

Използваното критично ниво на значимост е $\alpha=0,05$. Съответната нулева хипотеза се отхвърля, когато P стойността (P-value) е по-малка от α ($p < 0.05$).

За обработка на данните от проучването е използван специализираният статистически пакет SPSS версия 19.

Резултатите са докладвани като средни стойности за продължителните променливи и като n% за категорийните променливи. Когато е необходимо, за по-голяма пригледност, титрите на антителата са представени като геометрични концентрации (GMC). Средната геометрична (GMC) стойност се използва като един по-обективен подход, когато резултатите следват нормално логаритмично разпределение. В настоящото изследване, такова разпределение е доказано статистически с теста на Колмогоров-Смирнов, затова е представяна и GMC на резултатите. В литературните данни, използвани за сравнение резултатите също са представени като средна геометрична стойност.

IV. РЕЗУЛТАТИ

1. Резултати от анкетата

Анкетата беше проведена с 242 жени в родилна зала на Първа специализирана акушеро-гинекологична болница за активно лечение „Света София“ и в Клиника по неонатология на Специализирана болница за активно лечение по детски болести – “Проф. д-р Иван Митев” от юни 2017 г. до март 2019 г.

От 242 проведени анкети, на всички въпроси са отговорили 74%. Средната възраст на анкетираните е $28,67 \pm 6,24$ (таблица 3).

Таблица 3. Средна възраст на майките

<i>n</i>	<i>Mean</i> \pm <i>SD</i>	<i>Min</i>	<i>Max</i>
242	28,67 \pm 6,424	14	46

- С местоживеене София са 138 от жените. Останалите анкетирани са от провинцията.
- От 216 анкетирани, 110 са с висше образование, 87 са със средно образование и 19 са с основно образование.
- 205 от жените са българи и 37 – роми.
- Първескини са 126 жени, втора бременност са 76 жени, трета – 24, четвърта – 10, пета – 5 и осма бременност е 1 жена.
- От 242 новородени, от мъжки пол са 124 и от женски пол са 118.
- Средното тегло на новородените е представено на таблица 4

Таблица 4. Средно тегло на новородените

Група	<i>n</i>	<i>Mean</i> \pm <i>SD</i>	<i>Min</i>	<i>Max</i>
Недоносени	46	1910,33 \pm 646,19 g	895,00 g	3850 g
Доносени	196	3306,12 \pm 377,82 g	2550,00 g	4600 g
Общо	242	3040,81 \pm 703,31 g	895,00 g	4600 g

- Среден ръст на новородените е $48,34 \pm 3,51$ см (30 см до 54 см)
 - доносени $49,48 \pm 1,9$ см
 - недоносени $43,48 \pm 4,55$ см
- Според данните от проведената анкета, 43% от майките живеят в двучленно семейство, 34.3% в тричленно, 14.9% в четиричленно и 7.4% в многочленно семейство.

- 36 жени съобщават за продължителна кашлица през последните 2 години (табл. 5).

Таблица 5. Нива на anti-PT IgG и наличие на кашлица при майката.

	кашлица-майка	N	GMC	SD	t	df	p
Anti-PT IgG - майка	Не	195	5,30	3,85	0,612	229	0,541
	Да	36	4,54	4,85			
Anti-PT IgG - бебе	Не	206	6,69	4,34	-0,066	240	0,947
	Да	36	6,82	5,14			

Не се наблюдава статистически значима разлика между наличието на продължителна кашлица (отговор от анкетата) и anti-PT IgG стойностите на майката.

- 20 жени съобщават за продължителна кашлица на член от домакинството (табл. 6).

Таблица 6. Нива на anti-PT IgG и наличие на кашлица в домакинството.

	кашлица-домакинство	N	GMC	SD	t	df	p
Anti-PT IgG - майка	Не	211	5,35	3,71	1,170	229	0,242
	Да	20	3,66	7,57			
Anti-PT IgG - бебе	Не	222	6,83	4,22	0,590	240	0,559
	Да	20	5,57	7,58			

Не се наблюдава статистически значима разлика между наличието на продължителна кашлица в домакинството (отговор от анкетата) и anti-PT IgG стойностите на майката.

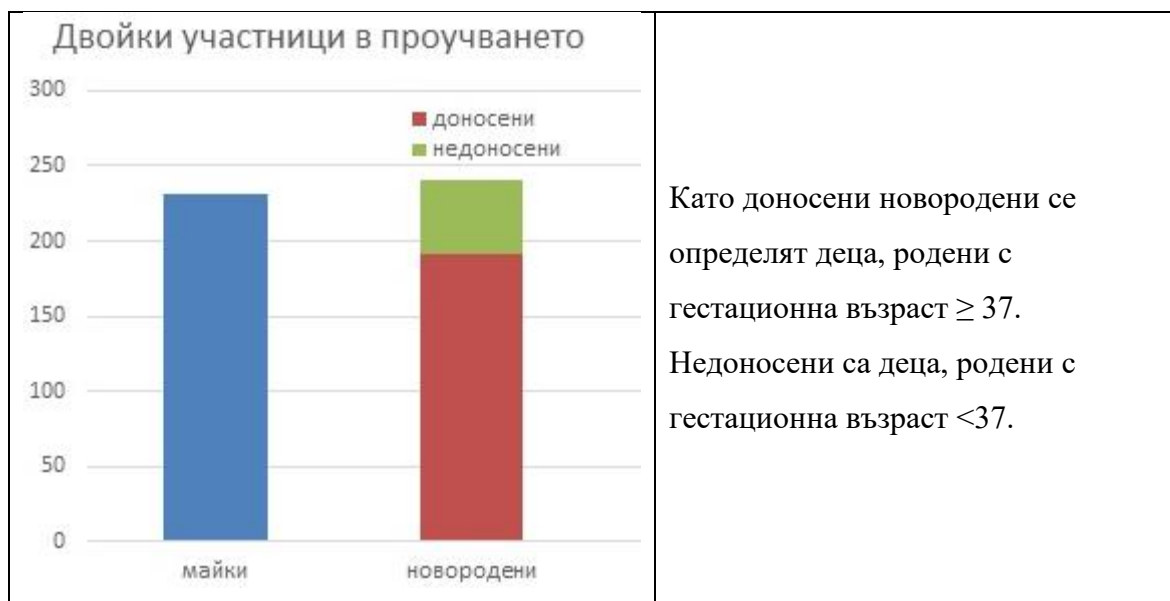
- Само 8 жени са отговорили, че и те и някой член от домакинството са имали продължителна кашлица в последните 2 години.
- Всички 242 жени са отговорили, че са имунизирани редовно според имунизационния календар на Република България. 236 от тях са получили целоклетъчна коклюшна ваксина, тъй като през 2008 година се въвежда бустерна доза с ацелуларна ваксина (**DTaP** + IPV) на 6 годишна възраст, а от 2010 г се преминава изцяло на ацелуларна ваксина за коклюш.
- В настоящето проучване има 8 жени, които попадат в кохортата да получат 2008 година бустерна ацелуларна ваксина.
- Нито една от майките не съобщава за приложение на **Tdap** по време на бременността или през последните 5 години.

2. Подбор на участниците

При 242 майки, поради неуспех при взимането или неправилно съхранение на кръвта, взета от майките, при 11 от пробите липсват резултати за майката. Същите са включени в обсъждането на отделните групи (майки, доносни и недоносни) и са изключени от обсъждането на двойките новородено-майка.

В проучването бяха включени 231 случайно подбрани български майки и 242 новородени (фиг. 28).

- Общо двойки майка-новородено са 231, от които двойки майка-доносно новородено – 191 и двойки майка-недоносно новородено - 40 (7 от тях са с тегло над 2500 г, но са родени ≤ 36 г.с.)
- **231 майки**, от които 191 майки на доносни новородени и 40 майки на недоносни новородени
- **242 новородени**, от които 196 са доносни и 46 са недоносни
- **11 майки**, от които 5 на доносни и 6 на недоносни деца не са включени в проучването поради неуспех при взимането или неправилно съхранение на кръвта взета от майките.



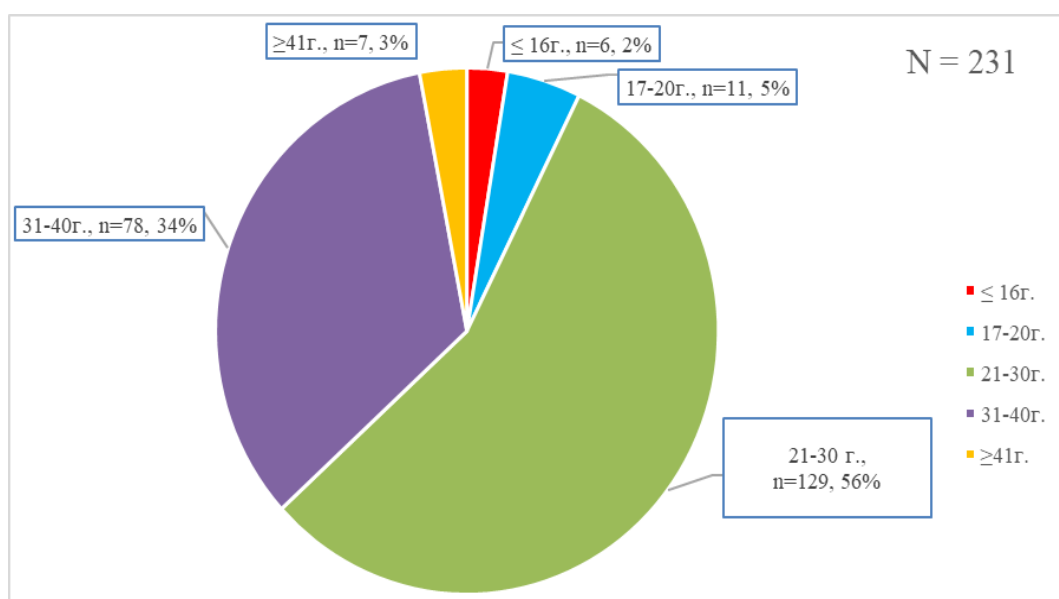
Фигура 28. Двойки участници в проучването.

Участниците са разделени на две кохорти:

- **Група А** - 191 двойки доносно новородено-майка
- **Група Б** - 40 двойки недоносно новородено-майка

3. Възраст на майката

Средната възраст на родилките, взели участие в проучването е 28,67 години (диапазон 14-46 години). Не съществуват разлики по отношение на възрастовия диапазон между майките на доношените и недоношените. Средната възраст на майките в група А е 29,28 години (диапазон 15-46 години), а в група Б е 26,04 години (диапазон 14-45 години). На фиг. 29 е показано разпределението на всички родилки по възрастови групи. Най-голям дял са майките на възраст между 21- 30 години (56%), следвани от родилки на възраст между 31-40 години (34%). Най-нисък е дялът на родилки на възраст под 16 години - едва 2%, следван от родилки на възраст над 41 години (3%) и родилки между 17 и 20 годишна възраст (5%).



Фигура 29. Разпределение на майките (n=231) по години.

4. Пол на новородените

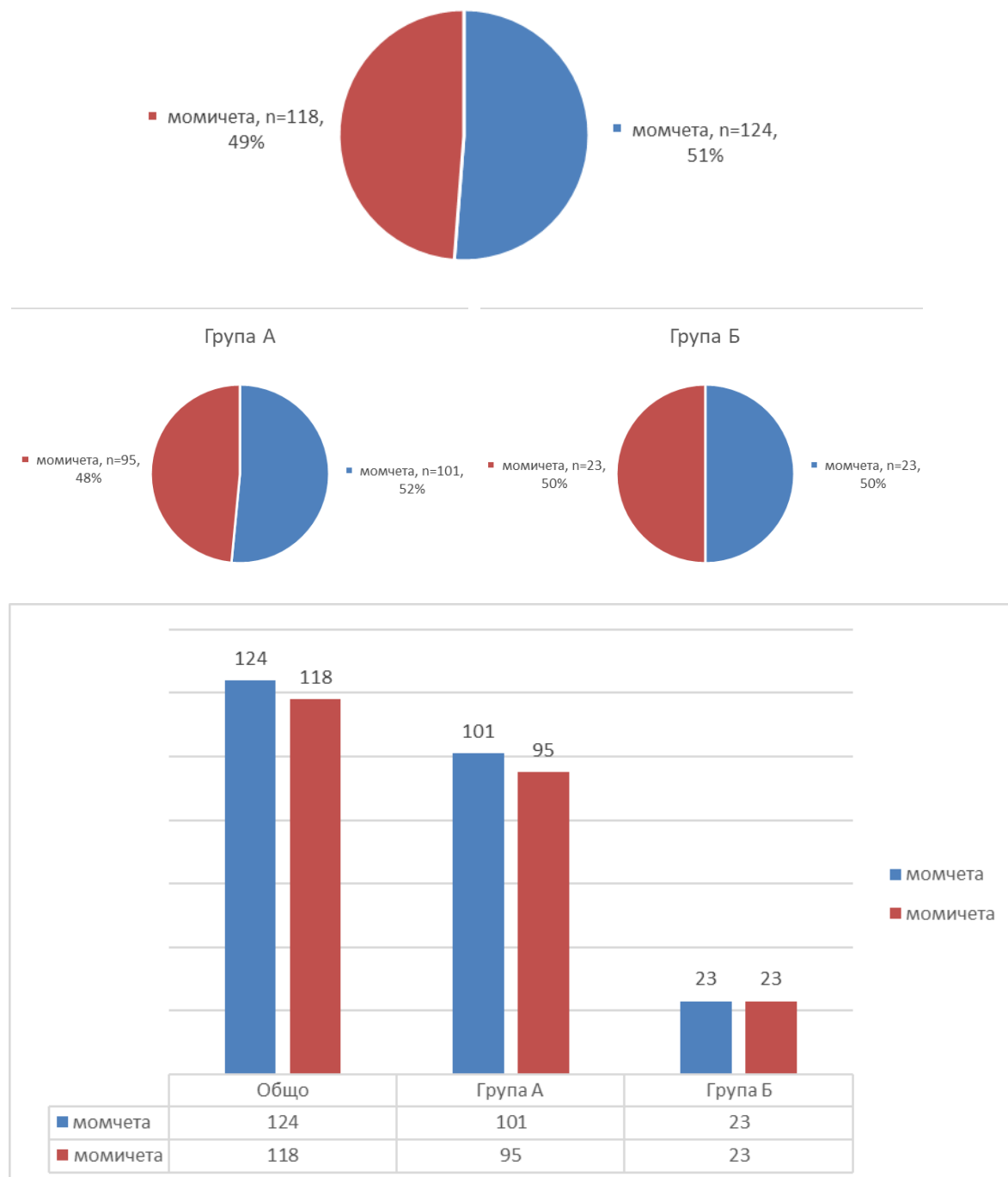
Общото разпределение на всички участници по пол е 124:118 съответно момчета:момичета (табл. 7).

Таблица 7. Титър на антителата при мъжки и женски пол.

	Пол	N	GMC	SD	t	df	p
anti-PT IgG - майка	момчета	117	5,39	3,32	0,459	229	0,646
	момичета	114	4,96	4,74			
anti-PT IgG - бебе	момчета	124	6,59	4,20	0,197	240	0,844
	момичета	118	6,84	4,73			

Не се наблюдава статистически значима разлика в anti-PT IgG стойностите между мъжки и женски пол.

Новородените доносни (група А) са разпределени по пол съответно момчета:момичета - 101:95 момичета, а недоносените новородени (група Б) – 23:23. На практика не съществува разлика по отношение на разпределение по пол в двете групи (фиг. 30).

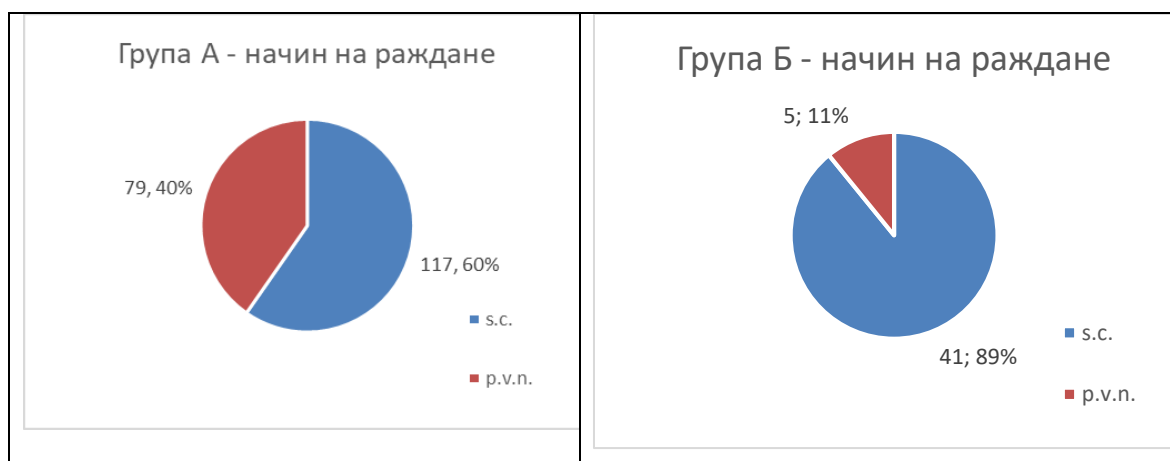


Фигура 30. Разпределение на новородените по пол и групи.

5. Начин на раждане

Сто деветдесет и шест от всички изследвани родилки са родоразрешени след ≥ 37 г.с. (група А). От тях 117 са родили по оперативен механизъм, а 79 – по нормален механизъм (фиг. 31).

Изследваните майки от група Б, които са родоразрешени ≤ 36 г.с. са общо 46. Само 5 от тях са родили per vias naturales, а останалите 41 са родоразрешени по оперативен път.



Фигура 31. Начин на раждане.

6. Гестационна възраст на новородените

В групата на доносените новородени средната гестационна възраст е 38,91 седмици (диапазон 37-42 седмици), а средното тегло при раждане е 3306,12 g (диапазон 2550-4600 g).

В групата на недоносените средната гестационна възраст е 33,37 седмици (диапазон 27-36 седмици), а средното тегло при раждане е 1910,33 g (диапазон 895–3850 g).

Демографските характеристики на групите са обобщени в Таблица 8 и 9, фиг. 32 и 33.

Таблица 8. Средна гестационна възраст на новородените.

Група	n	Mean±SD (гестационна седмица)	Min	Max
Недоносени	46	33,37±3,14	27,00	41,00
Доносени	196	38,91±1,16	37,00	42,00
Общо	242	37,86±2,77	27,00	42,00

Таблица 9. Демографски характеристики на доносени и недоносени.

	Доносени (n=196)	Недоносени (n=46)
Възраст на майката	29.28 години (15-46)	26.04 години (14-45)
Начин на раждане (p.v.n./s.c.)	79/117	5/41
Пол (мъж/жена)	101/95	23/23
Гестационна възраст	38.91 г.с. (37-42)	33.37 г.с. (27-41)
Тегло при раждане (mean±SD)	3306.12±377.8 g (min 2550- max 4600)	1910.33±646.2 g* (min 895– max 3850) (p<0.05)

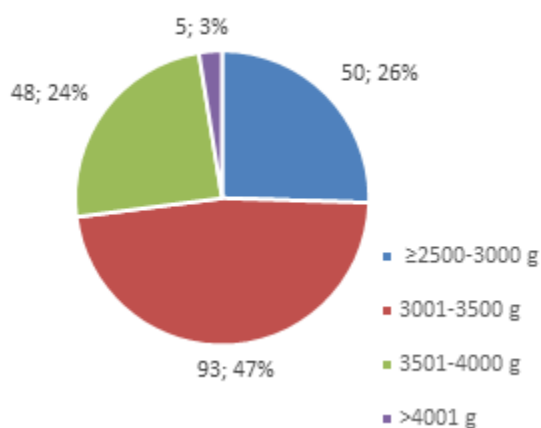
* Статистически значима разлика се наблюдава по отношение на теглото на недоносените новородени спрямо доносените (p<0.05).

7. Телесно тегло на новородените

Телесно тегло (новородени-доносени, група А)

Доносени (n=196)

Група А - телесно тегло n=196

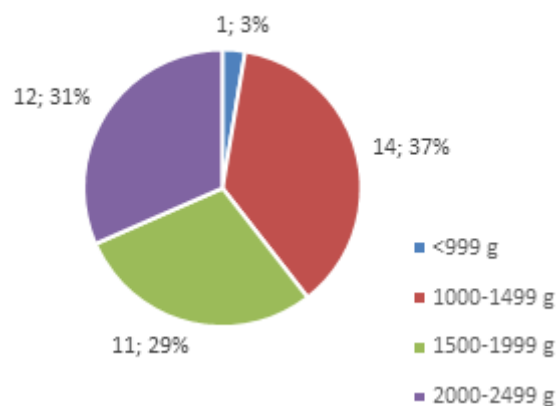


Фигура 32. Телесно тегло на доносени новородени.

Телесно тегло (новородени-недоносени, група Б)

Недоносени (n=38)

Група Б с тегло <2500g - n=38



Фигура 33. Телесно тегло на недоносени новородени.

Общият брой на недоносените е 46. В графиката са включени само тези с тегло <2500 g. Децата родени ≤36 г.с., но с тегло ≥2500 g не са включени в тази статистика. От наблюдаваната кохорта в Група Б, 8 от новородените отговарят на това условие.

Anti-PT IgG нива

Бяха изследвани общо 231 майки и 242 новородени. Изследваните двойки майка-новородени са общо 231. Поради неуспех при взимането или неправилно съхранение на кръвта, взета от майките, при 11 от пробите липсва кръв на майката. Общо двойки майка-новородено са 231, от които двойки майка-доносено новородено – 191 и двойки майка-недоносено новородено – 40.

7.1. Anti-PT IgG нива на майките

Кръвните проби на майките (2 ml) са вземани непосредствено преди раждането. Anti-PT IgG беше изследван чрез ELISA метод. Всички серумни концентрации на антителата бяха трансферирани логаритмично като средни геометрични концентрации (GMCs). Получените данни са представени на Таблица 10.

Таблица 10. GMC anti-PT IgG стойности на майките.

Възраст (години)	Брой майки	anti-PT IgG mean±SD (min-max IU/ml)	anti-PT IgG GMC (<40 IU/ml)	anti-PT IgG GMC (>40 IU/ml)
под 16	6	8.22±7.85 (2.52-23.84)	6.24	-
17 - 20	11	27.17±55.17 (0.49-191.74)	6.66	191.74 (n=1)
21- 30	129	10.81±17.75 (0.04-108.03)	3.96	63.49 (n=9)
31- 40	78	14.90±29.35 (0.14-195.29)	4.4	75.39 (n=7)
над 41	7	18.68±42.22 (0.01-114.36)	1.33	114.36 (n=1)
общо	231	13.15±25.67	4.13	74.58

GMC на майките е 5.17 IU/ml, като тази стойност варира от 74.58 IU/ml за тези > 40 IU/ml (n=18) и 4,13 IU/ml за тези < 40 IU/ml (n=213).

Според инструкциите за интерпретация на резултатите на използвания кит Bordetella pertussis toxin (PT) IgG ELISA kit (NovaTec, Immunodiagnostica, GmbH, Germany), стойности на anti-PT IgG ≥ 100 IU/ml се считат за индикация за скорошно прекарана коклюшна инфекция. При стойности на anti-PT IgG ≥ 40 -99,9 IU/ml има съмнение за прекарана скорошна инфекция. При стойности на anti-PT IgG < 40 IU/ml няма индикация за прекарана скорошна инфекция.

Според данните от проведената анкета, 43% от майките живеят в двучленно семейство, 34.3% в тричленно, 14.9% в четиричленно и 7.4% в многочленно семейство.

По възрастови групи и стойности на anti-PT IgG, данните са представени на табл. 11.

Таблица 11. Разпределение на anti-PT IgG стойностите на майките по възраст.

anti-PT IgG	под 16	17 - 20	21- 30	31- 40	над 41	общо
≥100 IU/ml		1	1	2	1	5
≥40 - 99,9 IU/ml			8	5		13
< 40 IU/ml	6	10	120	71	6	213
Общо						231
Потенциално незащитени						
≥5 - <10 IU/ml*	3	1	21	12	-	37
< 5 IU/ml	2	4	76	41	6	129
Общо						166 (72%) p < 0,05

* Според някои автори (Ercan et al, 2013; Shakib et al, 20), за потенциално незащитени трябва да се приемат стойности <10 IU/ml.

По литературни данни за потенциално защитни нива се считат anti-PT IgG >5 IU/ml, а други приемат >10 IU/ml. В проведеното изследване, потенциално незащитени са 69.6% от майките. Петте жени с нива на anti-PT IgG ≥100 IU/ml са от 2-, 3- и 4-членни семейства. Не се наблюдава връзка между нивата на anti-PT IgG и броя на членовете в семейството.

Всички 242 жени са отговорили, че са имунизирани редовно според имунизационния календар на Република България. 234 от тях са получили целоклетъчна коклюшна ваксина, тъй като през 2008 година се въвежда бустерна доза с ацелуларна ваксина (**DTaP** + IPV) на 6 годишна възраст, а от 2010 г се преминава изцяло на ацелуларна ваксина за всички възрастови групи. В настоящето проучване 8 жени попадат в кохортата да са получили бустерна **aP** ваксина през 2008 година. При 2 от тях няма данни за anti-PT IgG. При останали 6 жени, пет са с anti-PT IgG e < 10 IU/ml. Тази бройка е твърде малка за да се направи извод относно въвеждането на ацелуларна бустерна ваксина в България.

Разпределението на майките на доносни деца по възраст и anti-PT IgG стойности са представени на табл. 12.

Таблица 12. Брой майки (на доносни), разпределени по anti-PT IgG стойности.

anti-PT IgG	под 16	17 - 20	21- 30	31- 40	над 41	общо
≥100 IU/ml			1	2	1	4
≥40-99,9 IU/ml			6	5		11
< 40 IU/ml	3	9	95	64	5	176
Общо						191
Потенциално незащитени						
≥5- <10 IU/ml*	1	1	14	12		28
< 5 IU/ml	1	3	62	34	5	105
Общо						133 (69,6%) p < 0,05

* Според някои автори (Ercan et al, 2013; Shakib et al, 2010), за потенциално незащитени трябва да се приемат стойности <10 IU/ml

GMC на майки на доносни деца е 5,17 IU/ml, като тази стойност варира от 69,43 IU/ml за тези > 40 IU/ml (n=15) и 4,15 за тези < 40 IU/ml (n=176).

Разпределението на майките на недоносни деца по възраст и anti-PT IgG стойности са представени на табл. 13.

Таблица 13. Брой майки (на недоносни), разпределени по anti-PT IgG стойности.

anti-PT IgG	под 16	17 - 20	21- 30	31- 40	над 41	общо
≥100 IU/ml		1				1
≥40-99,9 IU/ml			2			2
< 40 IU/ml	3	1	25	7	1	37
						40
Потенциално незащитени						
≥5- <10 IU/ml*	2		7			9
< 5 IU/ml (потенциално незащитени)	1	1	14	7	1	24
						33 (83%) p < 0,05

* Според някои автори (Ercan et al, 2013; Shakib et al, 2010), за потенциално незащитени трябва да се приемат стойности <10 IU/ml

GMC на майки на недоносени деца е 5,19 IU/ml, като тази стойност варира от 106,63 IU/ml за тези > 40 IU/ml (n=3) и 4,06 за тези < 40 IU/ml (n=37).

Средната геометрична (GMC) стойност се използва като един по-обективен подход, когато резултатите следват нормално логаритмично разпределение. В настоящото изследване, такова разпределение е доказано статистически с теста на Колмогоров-Смирнов, затова е представяна и GMC на резултатите. В литературните данни, използвани за сравнение резултатите също са представени като средна геометрична стойност.

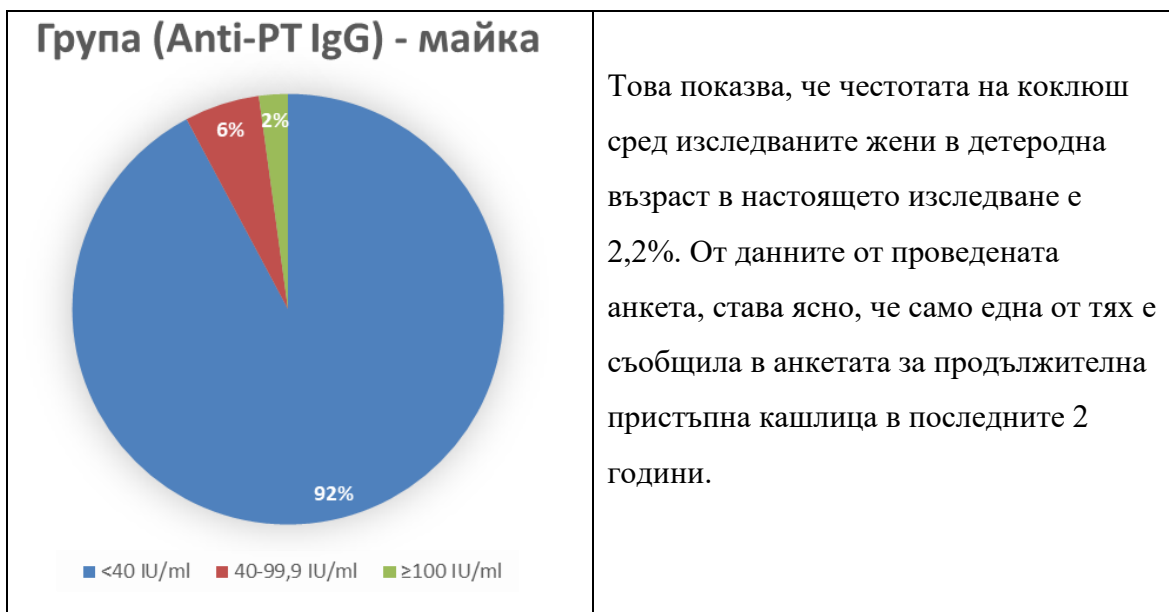
Нивата на anti-PT IgG отразяват не само циркулиращото антитяло от миналата ваксинация, но също и скорошна експозиция на коклюш. Транскрипцията на резултатите за anti-PT IgG е представена на табл. 14.

Таблица 14. Интерпретация на резултатите според инструкциите на производителя на кита.

стойност	обяснение
<5 (според някои източници ≥ 5 - <10 IU/ml)	серонегативна
5–40 IU/ml	няма данни за скорошна инфекция
40–99 IU/ml	вероятно излагане на коклюш
> 100 IU/ml	остра или скорошна инфекция

Чрез направен регресионен анализ, установихме, че 69,6% от бременните жени са серонегативни за anti-PT IgG <10 IU/ml, от които 55,8% с anti-PT IgG <5 IU/ml.

Деветдесет и два (92%) процента от серумните проби на майката не показват данни за скорошна инфекция, както е определено от нивата на anti-PT IgG <40 IU/ml (фиг. 34). От представените данни се вижда, че само 5 от майките имат стойност на anti-PT IgG ≥ 100 IU/ml, което се счита за индикация за прекарана скорошна инфекция.



Фигура 34. Процентно съотношение на anti-PT IgG стойностите на майките.

При стойности на anti-PT IgG $\geq 40-99,9$ IU/ml, според инструкциите на производителя на кита, се препоръчва повторен тест, поради съмнение за скорошна инфекция. Резултатите ни показват, че при 13 (6%) от родилките се препоръчва повторно изследване на антителата. Само една родилка от тази група е съобщила за продължителна пристъпна кашлица за последните 2 години.

Ако се разгледат и двете групи заедно (т.е. anti-PT IgG ≥ 40 IU/ml) резултатите показват, че честотата на вероятно прекарана скорошна коклюшна инфекция в настоящото проучване е 7.8%, т.е. 18 от всички родилки в изследването е възможно да са имали скорошна инфекция от коклюш. От тях само 2 майки съобщават за скорошна пристъпна кашлица за последните 2 години в проведената анкета.

7.2. Anti-PT IgG нива на новородените

Кръвните проби на новородените (2 ml) са вземани от пъпната връв непосредствено след раждането. Anti-PT IgG беше изследван чрез ELISA метод. Всички серумни концентрации на антителата бяха трансферирани логаритмично като средни геометрични концентрации (GMCs). Получените данни са представени на таблица 15.

Таблица 15. Средни стойности на anti-PT IgG на новородените.

Възраст (години)	Брой новородени	anti-PT IgG mean±SD (min-max IU/ml)	anti-PT IgG GMC (IU/ml)
Общо доносни (≥37 г.с.)	196	20.45±34.35 (0,11-215,96)	7.21
Общо недоносни ≤36 г.с.	46	11.01±19.41 (0,17-101,79)	4.94*

* p<0.05 в сравнение с доносените новородени

Средните стойности на anti-PT IgG и GMC на новородените спрямо възрастта са представени на таблица 16.

Разпределението на броя новородени по гестационна възраст, пол и диапазон на anti-PT IgG, са представени на таблица 17.

Таблица 16. Средни стойности на anti-PT IgG на новородените по гестационна седмица.

Гестационна седмица	Брой	anti-PT IgG mean±SD (min-max IU/ml)	anti-PT IgG GMC (<40 IU/ml)	anti-PT IgG GMC (>40 IU/ml)
27	1	0.17	0,17 (n=1)	
28	3	4.74±3.26 (2.24-8.42)	4.07	
29	2	2.98±3.37 (0.59-5.36)	1.79	
30	3	26.24±40.63 (2.06-73.15)	2.69	73.15 (n=1)
31	2	4.36±2.62 (2.51-6.21)	3.95	
32	7	16.48±20.01 (3.89-60.06)	7.81	60.06 (n=1)
33	5	2.13±1.41 (0.36-3.36)	1.57	
34	5	7.76±5.48 (3.4-15.04)	6.35	
35	5	6.05±5.43 (2.05-14.89)	4.48	
36	13	15.90±30.64 (1.22-101.79)	4.53	101.79 (n=1)
37	20	18.79±31.26 (0.43-117.21)	4.19	75.92
38	57	19.65±34.73 (0.13-215.96)	3.98	73.31
39	62	20.34±32.96	5.09	72.27

		(0.11-196.01)		
40	36	18.69±33.32 (0.20-182.48)	5.11	68.57
41	20	27.66±42.07 (0.15-189.66)	6.35	76.88
42	1	2.67	2.67 (n=1)	
Общо	242			

Таблица 17. Разпределение на брой новородени по гестационна възраст, пол и стойност на anti-PT IgG

Гестационна възраст в седмици	anti-PT IgG				
	< 40 IU/ml				
	потенциално незащитени				
	< 5 IU/ml ()	≥5- <10 IU/ml	< 40 IU/ml	≥40-99,9 IU/ml	≥100 IU/ml
27	1м		1м		
28	2м	1м	3м		
29	1м	1ж	2 (1м+1ж)		
30	2 (1м+1ж)		2 (1м+1ж)	1ж	
31	1м	1ж	2 (1м+1ж)		
32	1м	3 (1м+2ж)	6 (3м+3ж)	1ж	
33	5 (1м+4ж)		5 (1м+4ж)		
34	3 (2м+1ж)		5 (3м+2ж)		
35	3 (2м+1ж)	1ж	5 (3м+2ж)		
36	6 (3м+3ж)	2ж	12 (6м+6ж)		1ж
37	9 (4м+5ж)	4 (1м+3ж)	17 (7м+10ж)	1м+1ж	1ж
38	25 (11м+14ж)	12 (7м+5ж)	48 (22м+26ж)	8 (6м+2ж)	1ж
39	25 (16м+9ж)	8 (4м+4ж)	52 (30м+22ж)	8 (5м+3ж)	2 (1м+1ж)
40	17 (10м+7ж)	3 (1м+2ж)	31 (16м+15ж)	4 (3м+1ж)	1ж
41	8 (5м+3ж)	2ж	16 (8м+8ж)	3ж	1м
42	1		1		
общо	110 (62м+48ж)	38 (15м+23ж)	208* (107м+101ж) (86%) (p < .05)	27 (15м+12ж)	7 (2м+5ж)

*The t-value is -2.20249. The p-value is .018176.
p < .05 anti-PT IgG > 40 в сравнение с anti-PT IgG < 40.

м- мъжки пол; ж – женски пол

Според инструкциите за интерпретация на резултатите на използвания кит (табл. 14), по възрастови групи и стойности на anti-PT IgG, данните за новородените са представени на табл. 18.

Таблица 18. Общ брой на доносени и недоносени новородени спрямо стойностите на anti-PT IgG.

anti-PT IgG	Общо недоносени (≤ 36 г.с.)	Общо доносени (≥ 37 г.с.)
≥ 100 IU/ml	1	6
$\geq 40-99,9$ IU/ml	2	25
< 40 IU/ml	43	165
$\geq 5- < 10$ IU/ml (потенциално незащитени)		
	9	29
< 5 IU/ml (потенциално незащитени)		
	25	85

* Според някои автори (Ercan et al, 2013; Shakib et al, 2010), за потенциално незащитени трябва да се приемат стойности < 10 IU/ml

От представените данни се вижда, че само 7 от новородените имат стойност на anti-PT IgG ≥ 100 IU/ml, което се счита за индикация за прекарана скорошна инфекция на майката. От 196 доносени новородени, потенциално незащитени от *B. pertussis* инфекция (anti-PT IgG < 10 IU/ml) са 114 новородени, което прави 58,2%. От 46 недоносени новородени, потенциално незащитени от *B. pertussis* инфекция (anti-PT IgG < 10 IU/ml) са 34 новородени, което прави 74%.

GMC на IgG към PT в серумни проби от майката и пъпната връв (новороденото), както в групата на доносените, така и в групата на недоносените, са обобщени в таблица 19.

Таблица 19. GMC anti-PT IgG стойности на новородените.

Anti-PT IgG	Група	n	GMC \pm SD	Min	Max
майка	Недоносени	40	5,19 \pm 3,47	0,17	191,74
	Доносени	191	5,17 \pm 4,12	0,02	195,30
	Общо	231	5,17\pm3,99	0,02	195,30
новородени	Недоносени	46	4,94 \pm 3,49*	0,17	101,79
	Доносени	196	7,21 \pm 4,65	0,11	215,96
	Общо	242	6,71\pm4,44	0,11	215,96

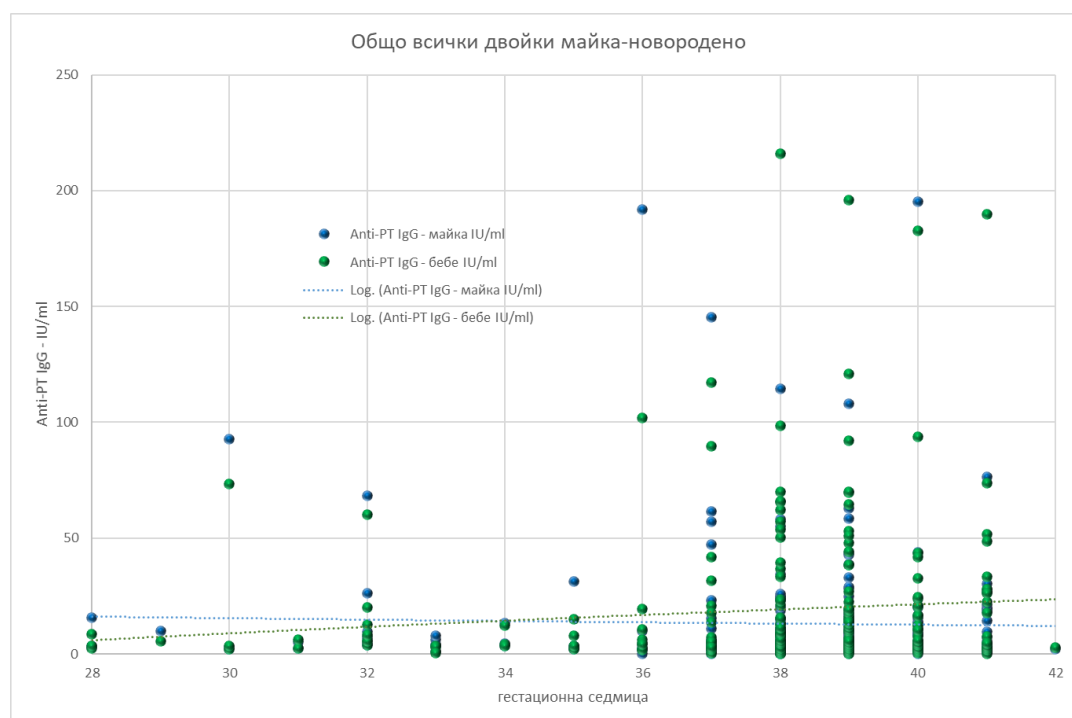
Няма разлики между групите по отношение на майчините anti-PT IgG нива в кохортата на доносените (група А) и в тази на недоносените (група Б), като

съответно GMC anti-PT IgG е 5,17 и 5,19 IU/ml. GMC нивата на групата на недоносените са статистически значимо по-ниски от GMC нивата на децата, родени на термин (4,94/7,21 IU/ml; $p < 0.05$).

7.3. Общо двойки майка-новородено

В изследването бяха включени общо 231 двойки майка-новородено с пълни данни (фиг. 35). При разглеждане на резултатите по двойки, прилагането на Z-score наблюдационен анализ, се установява статистически значима разлика в разпределението на anti-PT IgG по двойки майка-новородено < 34 г.с. и > 34 г.с.

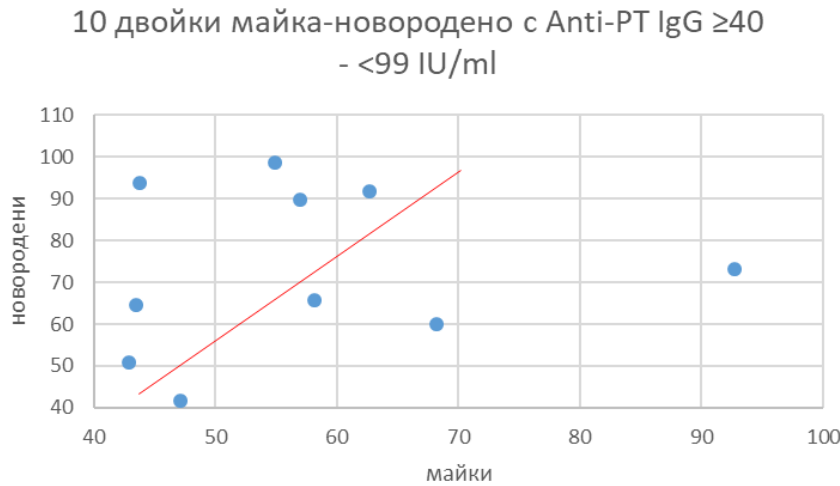
Чрез представяне на логаритмична тенденция на резултатите, ясно се вижда позитивиране на anti-PT IgG стойностите на новородените след 34 гестационна седмица.



Фигура 35. Разпределение на anti-PT IgG по двойки майка-новородено.
The Z-Score is 3.18095. The p-value is .00074. The result is significant at $p < 0.05$.

При 7 новородени (36-41 г.с.) са измерени anti-PT IgG ≥ 100 IU/ml, докато само при 5 майки се наблюдава anti-PT IgG ≥ 100 IU/ml. Съпоставянето на данните за новородените със съответните майки сочи че при **4 двойки** има корелация между майка-новородено. При останалите 3 новородени, anti-PT IgG е ≥ 40 IU/ml.

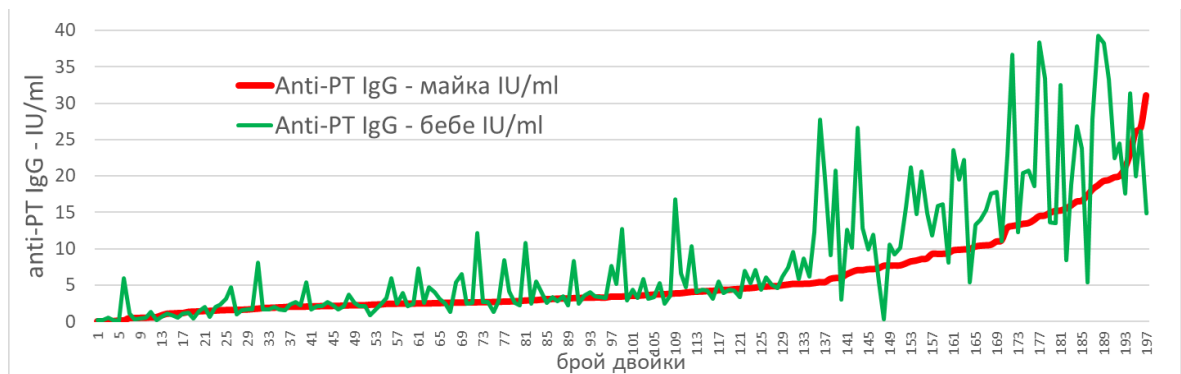
Anti-PT IgG в границите ≥ 40 - < 99 IU/ml е измерен при 26 новородени, докато при майките този резултат е 13. Съпоставянето на данните за новородените със съответните майки сочи, че при **10 двойки** има корелация между майка-новородено (фиг. 36).



Фигура 36. Разпределение на 10 двойки майка-новородено с anti-PT IgG ≥ 40 - < 99 IU/ml

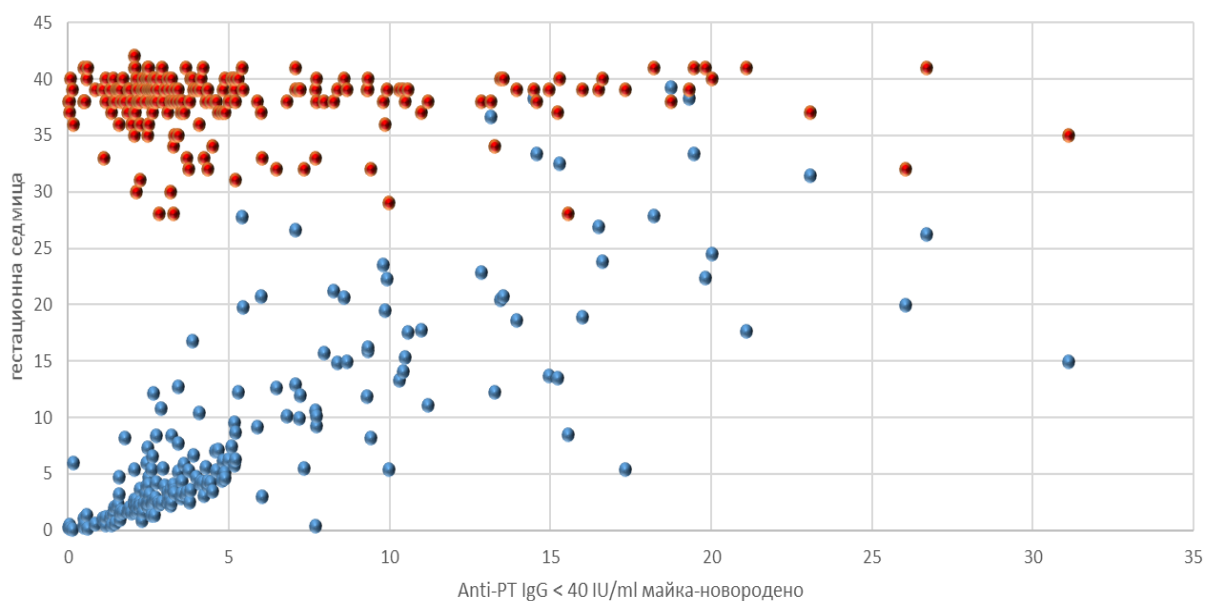
При 3 майки, anti-PT IgG е ≥ 40 - < 99 IU/ml, но при техните новородени резултатът е > 100 IU/ml, което говори за добър трансплацентарен транспорт.

Anti-PT IgG стойност < 40 IU/ml е измерен при 198 новородени, докато при майките този резултат е 213. Съпоставянето на данните за новородените със съответните майки сочи че при **197 двойки** има корелация между майка-новородено (фиг. 37). При едно новородено (37 г.с.) с anti-PT IgG < 40 IU/ml, майката е със стойност 145.2 IU/ml. При останалите майки (n=16), новородените са с anti-PT IgG ≥ 40 IU/ml.



Фигура 37. Разпределение на 197 двойки майка-новородено с anti-PT IgG < 40 IU/ml

Корелацията на anti-PT IgG <40 IU/ml спрямо гестационна възраст на 197 двойки-майка-новородено е представена на фиг. 38.



Фигура 38. Корелация на anti-PT IgG спрямо гестационна възраст на 197 двойки.

Процентното съотношение на оформените двойки спрямо anti-PT IgG стойностите е представено на табл. 20.

Таблица 20. Процентно съотношение на двойките майка-новородено спрямо anti-PT IgG.

Група (Anti-PT IgG) - бебе		Група (anti-PT IgG) - майка			Общо
		<40 IU/ml	40-99,9 IU/ml	≥100 IU/ml	
<40 IU/ml	n	197	0	1	198 новородени
	%	92,5%	0%	20%	85,7%
40-99,9 IU/ml	n	16	10	0	26
	%	7,5%	76,9%	0%	11,3%
≥100 IU/ml	n	0	3	4	7
	%	0%	23,1%	80%	3%
Общо	n	213 майки	13	5	231 общо двойки
	%	100%	100%	100%	100%

Не се наблюдава сигнификантна разлика между anti-PT IgG GMC на майките на доносени и недоносени новородени, но има статистически значима разлика ($p=0,045$) между anti-PT IgG GMC на доносени и недоносени новородени (таблица 21).

Таблица 21. GMC стойности на майките и новородените.

	Майчино anti-PT IgG GMC (min-max IU/ml)	Новородено anti-PT IgG GMC (min-max IU/ml)
недоносени	5.19±1.08 (0.18-191.74)	4.94*±1.01 (0.17-101.79)
95% CI	4.11-6.27	3.93-5.95
доносени	5.17±0.58 (0.01-195.29)	7.21±0.65* (0.11-215.96)
95% CI	4.95-5.75	6.56-7.86
Стойност за p		*p<0.05 в сравнение с доносени

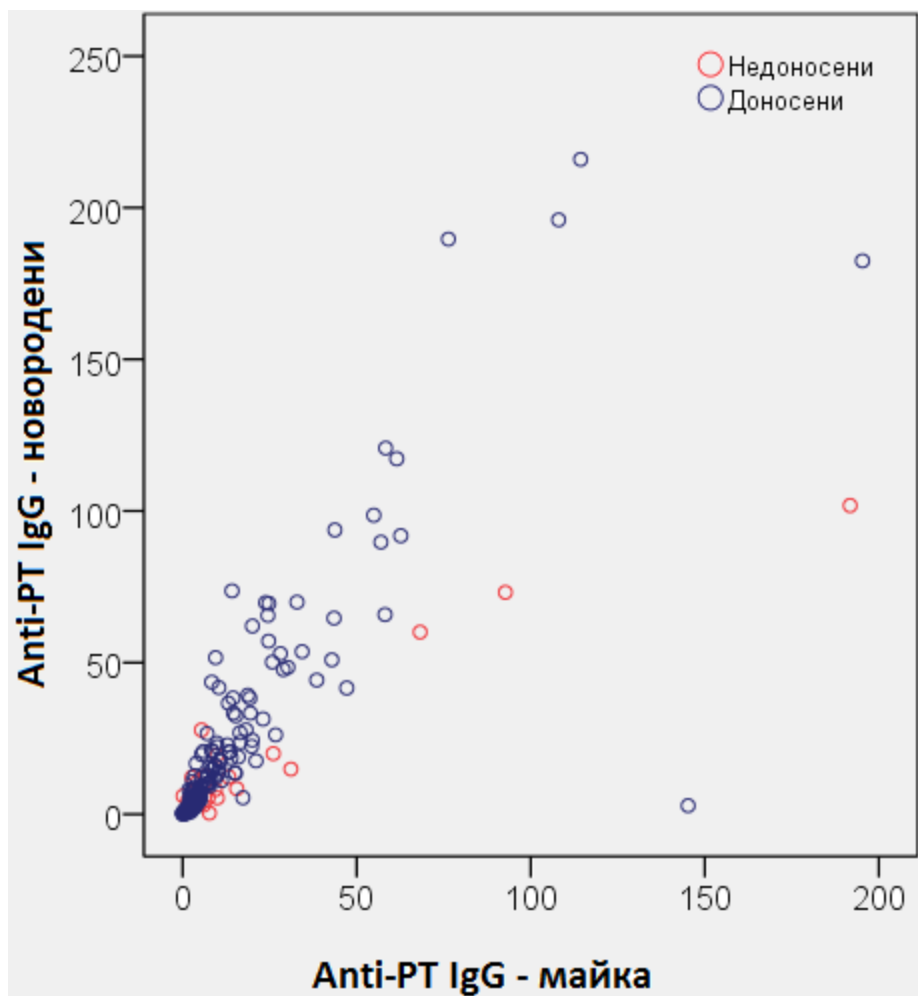
Сравнението на anti-PT IgG < 40 IU/ml и > 40 IU/ml е представено на таблица 22.

Таблица 22. Anti-PT IgG < 40 IU/ml и > 40 IU/ml при доносени и недоносени новородени

	Новородено GMC (anti-PT IgG < 40 IU/ml)	Новородено GMC (anti-PT IgG > 40 IU/ml)	
доносени	4.67±0.71 (n=165)	72.88±49.1 (n=31)	p<0.001
95% CI	3.96-5.38	64.87-100.9	
недоносени	4.08±1.04 (n=43)	76.48±21.3 (n=3)	p<0.001
95% CI	3.04-5.12	25.3-131.3	

Статистически значимо по-малко деца са с GMC anti - PT > 40 UI/ml.

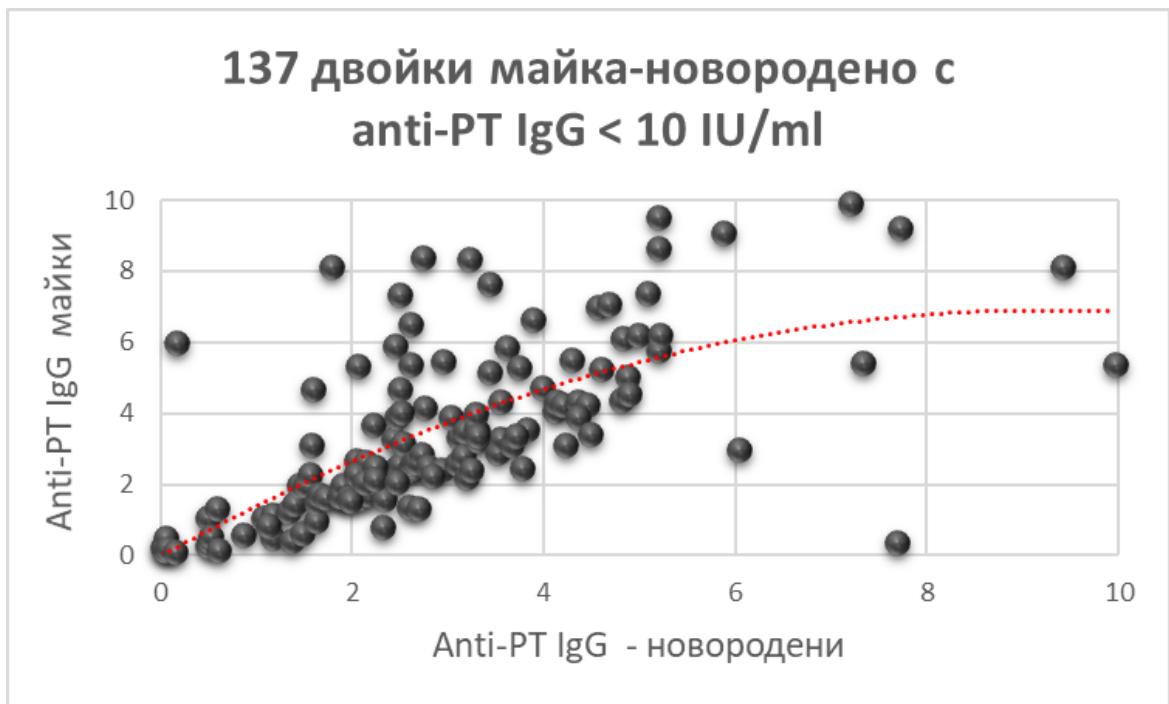
Сравнението на всички 231 двойки проби от майки-новородени показва, че майчините anti-PT корелират значително със стойностите на новородените. Корелацията общо за всички 231 двойки е представена на фиг. 39.



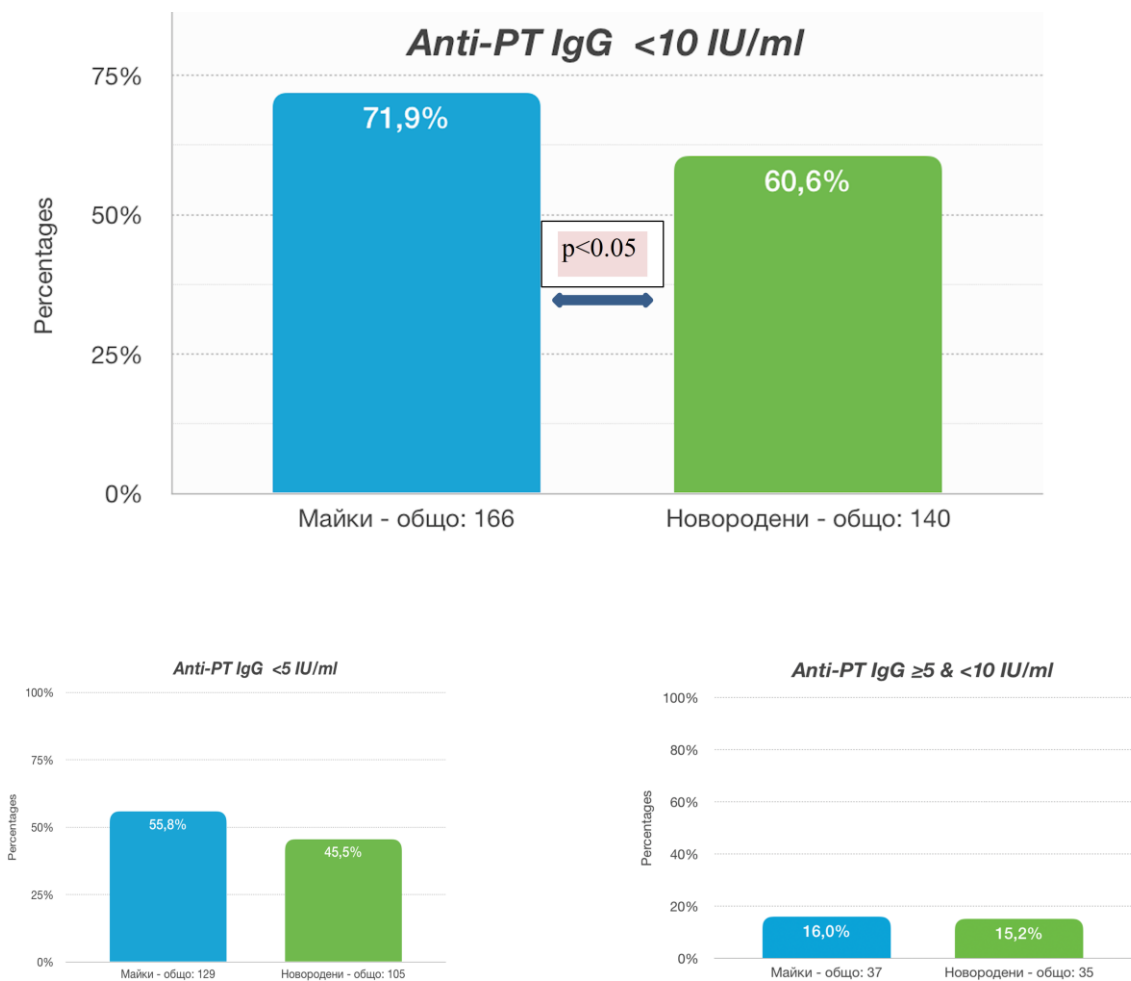
Фигура 39. Корелация на anti-PT IgG на новородени спрямо майки.

Съотношението на неонатално към майчино anti-PT IgG е положително при 65.37% (n=151) и негативно при 34.63% (n=80), което дава статистически значим резултат ($p < 0.01$) за положителен трансфер на антипертусис антитела от майката към новороденото.

При 137 двойки майка-новородено anti-PT IgG е < 10 IU/ml, което се счита за потенциална незащитеност на новородените и техните майки (фиг. 40 и фиг. 41).

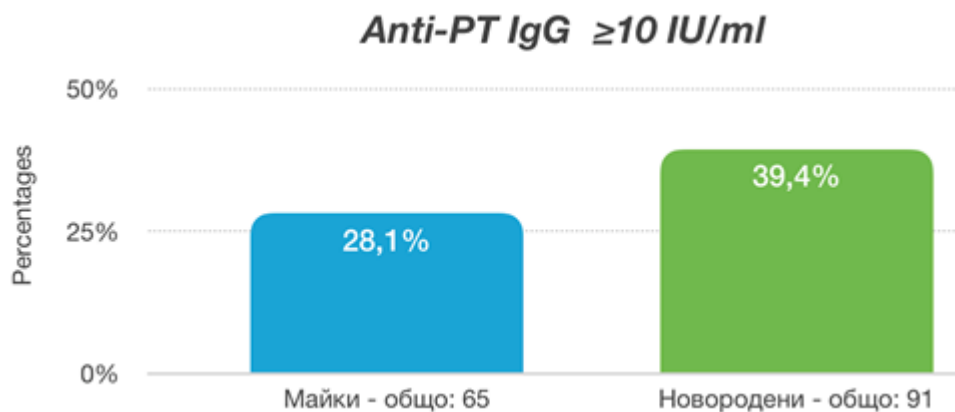


Фигура 40. Рангов корелационен коефициент на Spearman's rho за anti-PT IgG на майчините стойности спрямо стойностите на новородените ($Rho\ 0.899$, $p < 0.001$)



Фигура 41. Процентно съотношение на двойки майка-новородено с anti-PT IgG < 10 IU/ml.

Ако за потенциално защитни се приемат титри на anti – PT IgG ≥ 10 IU/ml, то 28% (65/231) от всички родилки и 39,4% (91/231) от всички новородени имат защитни титри на антитела срещу *B. pertussis* токсин. Средните съотношения на антитела за бебета и майки за anti-PT IgG са съответно 1,4 (фиг. 42).



Фигура 42. Процентно съотношение на двойки майка-новородено с anti-PT IgG ≥ 10 IU/ml.

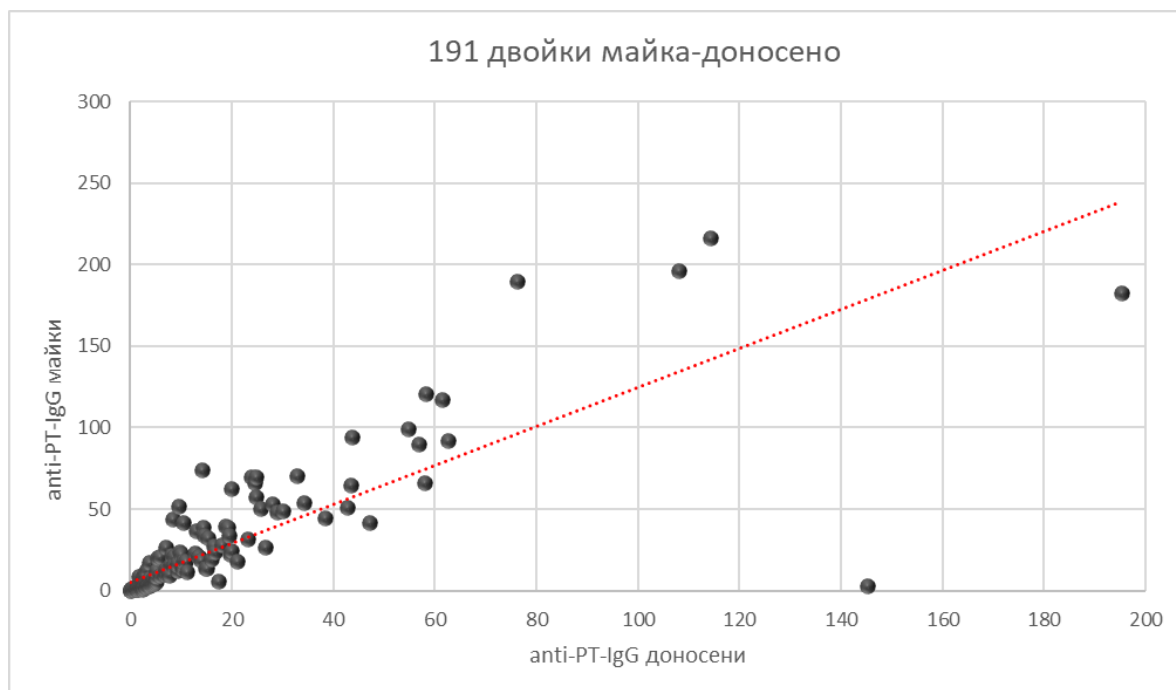
Ако за потенциално защитни се приемат титри на anti – PT IgG ≥ 5 IU/ml, то 44,2% (102/231) от всички родилки и 54,5% (126/231) от всички новородени имат защитни титри на антитела срещу *B. pertussis* токсин. Средните съотношения на антитела за бебета и майки за anti-PT IgG са съответно 1,24.

Анамнеза за продължителна кашлица

От 242 анкети попълнени от майките, само 14.8% (36 жени) съобщават за продължителна кашлица в последните 2 години. Само при 4 жени от тези 36 има вероятност за прекарана коклюшна инфекция през последните 5 години, ако се съди по нивата на anti-PT IgG ≥ 40 IU/ml.

7.4. Двойки майка-доносено новородено

В изследваната кохорта, в група А се оформиха 191 двойки майка-доносено с пълни данни. Корелацията на детските спрямо майчините anti-PT IgG за доносените новородени, е представена на фиг. 43.



Фигура 43. Рангов корелационен коефициент на Spearman's rho за anti-PT IgG на майчините стойности спрямо стойностите на доносени.

При 6 новородени (36-41 г.с.) са измерени anti-PT IgG ≥ 100 IU/ml, докато само при 4 майки се наблюдава anti-PT IgG ≥ 100 IU/ml. Съпоставянето на данните за новородените със съответните майки сочи че при **3 двойки** има корелация между майка-новородено (таблица 23). При 3 от новородените, anti-PT IgG на майките е в диапазона 58.32 до 76.34 IU/ml. При една майка със стойност anti-PT IgG ≥ 100 IU/ml, нейното новородено е със стойност 2.8 IU/ml. Този резултат вероятно може да се дължи на грешка при вземането на кръв от плацентата или други фактори, възпрепятстващи пасивното предаване на антитела от майката към плода.

Таблица 23. Двойки майка-доносено със стойност anti-PT IgG ≥ 100 IU/ml

anti – PT IgG ≥ 100 IU/ml при 3 двойки			
майка	доносено	възраст в години/г.с.	odd ratio
114,36	215,96	42/38	1.88
108,03	196,01	22/39	1.81
195,29	182,48	31/40	0.93
mean \pm SD	139.23 \pm 48.66	198.15 \pm 16.84	1.54 \pm 0.53

Anti-PT IgG в диапазона ≥ 40 - < 99 IU/ml е измерен при 24 новородени, докато при майките този резултат е 11. Съпоставянето на данните за новородените със съответните майки сочи че при **8 двойки** има корелация между майка-новородено (таблица 24). При 3 майки, anti-PT IgG е ≥ 40 - < 99 IU/ml, но при техните новородени резултатът е в порядъка на 117.21 до 189.66 IU/ml. При 16 новородени с anti-PT IgG е

≥ 40 - < 99 IU/ml, които не попадат в корелационна зависимост с техните майки, се наблюдават нива на anti-PT IgG < 40 IU/ml при всички майки, като при нито еден от тях не се наблюдава стойност < 5 IU/ml (от 9.37 до 38.53 IU/ml).

Таблица 24. Двойки майка-доносено със стойност anti-PT IgG ≥ 40 - < 99 IU/ml

Anti-PT IgG ≥ 40 - < 99 IU/ml при 8 двойки			
майка	доносено	възраст в години/г.с.	odd ratio
42.86	50.91	33/39	1.18
43.49	64.64	27/39	1.49
43.73	93.72	27/40	2.14
47.15	41.62	29/37	0.88
54.91	98.58	31/38	1.79
56.95	89.71	36/37	1.57
58.13	65.83	38/38	1.13
62.66	91.82	33/39	1.46
mean \pm SD	51.24 \pm 7.81	74.60 \pm 21.68	1.46 \pm 0.4

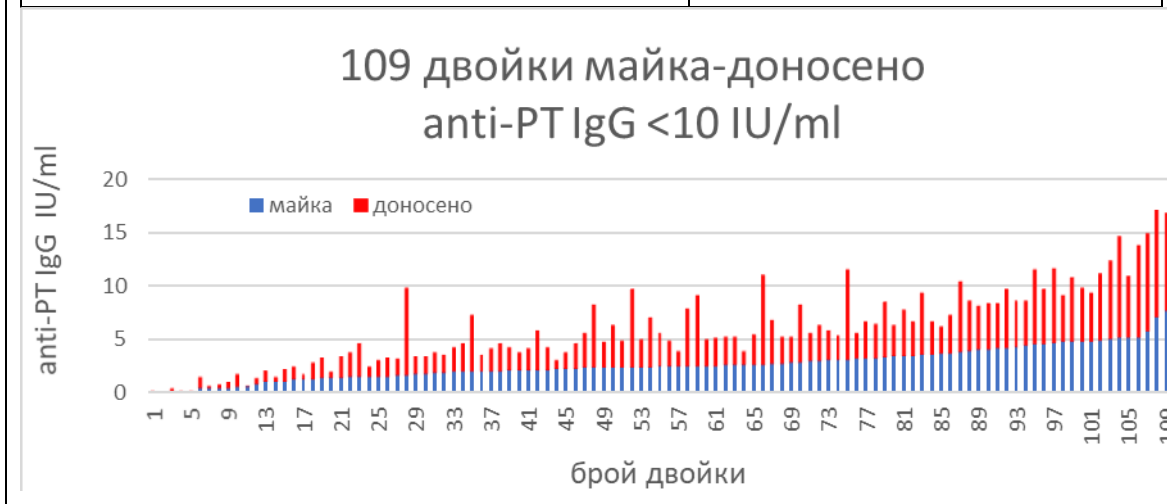
Anti-PT IgG < 40 IU/ml е измерен при 161 новородени, докато при майките този резултат е 176. Съпоставянето на данните за новородените със съответните майки сочи, че при **160 двойки** има корелация между майка-новородено (таблица 25). При едно новородено (37 г.с.) с anti-PT IgG < 40 IU/ml, майката е със стойност 145.2 IU/ml. При останалите майки (n=16), новородените са с anti-PT IgG ≥ 40 IU/ml (41.74 до 73.67 IU/ml).

Таблица 25. Процентно съотношение на двойките майка-доносено спрямо anti-PT IgG

Доносени					
Група (Anti-PT IgG) - бебе		Група (Anti-PT IgG) - майка			Общо
		< 40 IU/ml	40-99,9 IU/ml	≥ 100 IU/ml	
< 40 IU/ml	n	160	0	1	161 доносени
	%	90,9%	0%	25%	84,3%
40-99,9 IU/ml	n	16	8	0	24
	%	9,1%	72,7%	0,0%	12,6%
≥ 100 IU/ml	n	0	3	3	6
	%	0%	27,3%	75%	3,1%
Общо	n	176 майки	11	4	191 общо двойки
	%	100%	100%	100%	100%

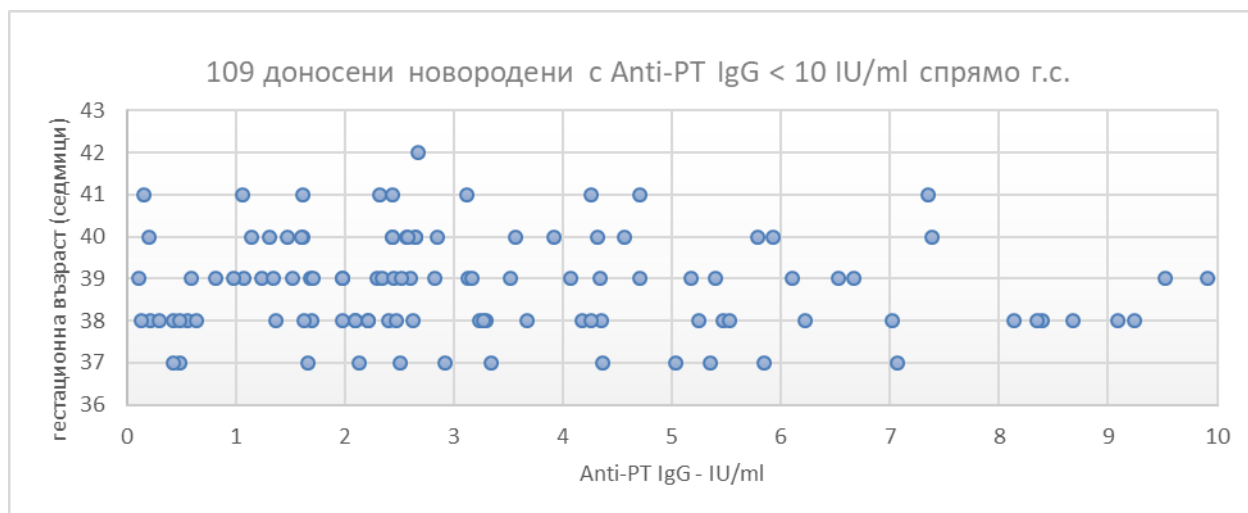
От 160 двойки майка-доносено с anti-PT IgG < 40 IU/ml се оформят 109 двойки с anti-PT IgG < 10 IU/ml (фиг. 44).

Майка mean±SD	2.72±1.49
Доносено mean±SD	3.37±2.4
Средна възраст в години/г.с.	29.43±6.6/38.8±1.16
Odd ratio mean±SD	1.43±1.48



Фигура 44. 109 двойки майка-доносено с anti-PT IgG <10 IU/ml.

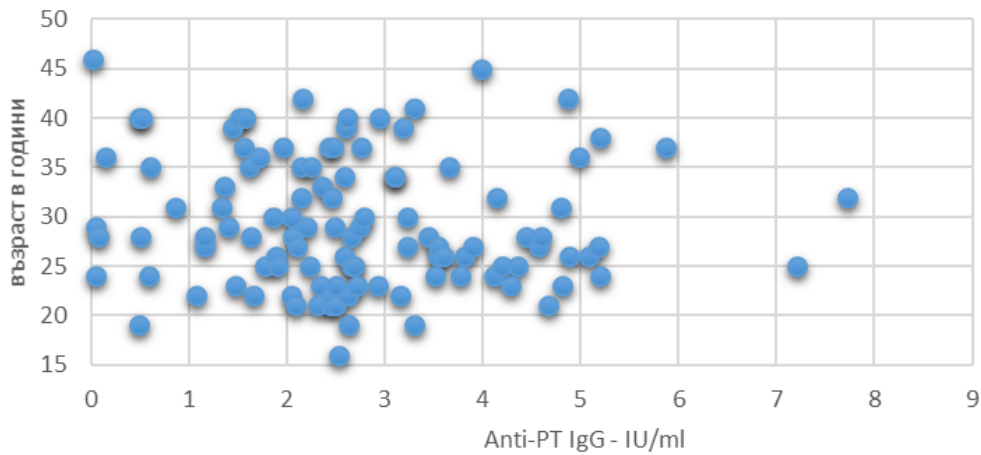
Разпределението на anti-PT IgG стойностите на доносените деца от **109 двойки** майка-доносено с anti-PT IgG <10 IU/ml са представени на фиг. 45.



Фигура 45. Разпределение на 109 доносени с anti-PT IgG <10 IU/ml спрямо гестационната седмица.

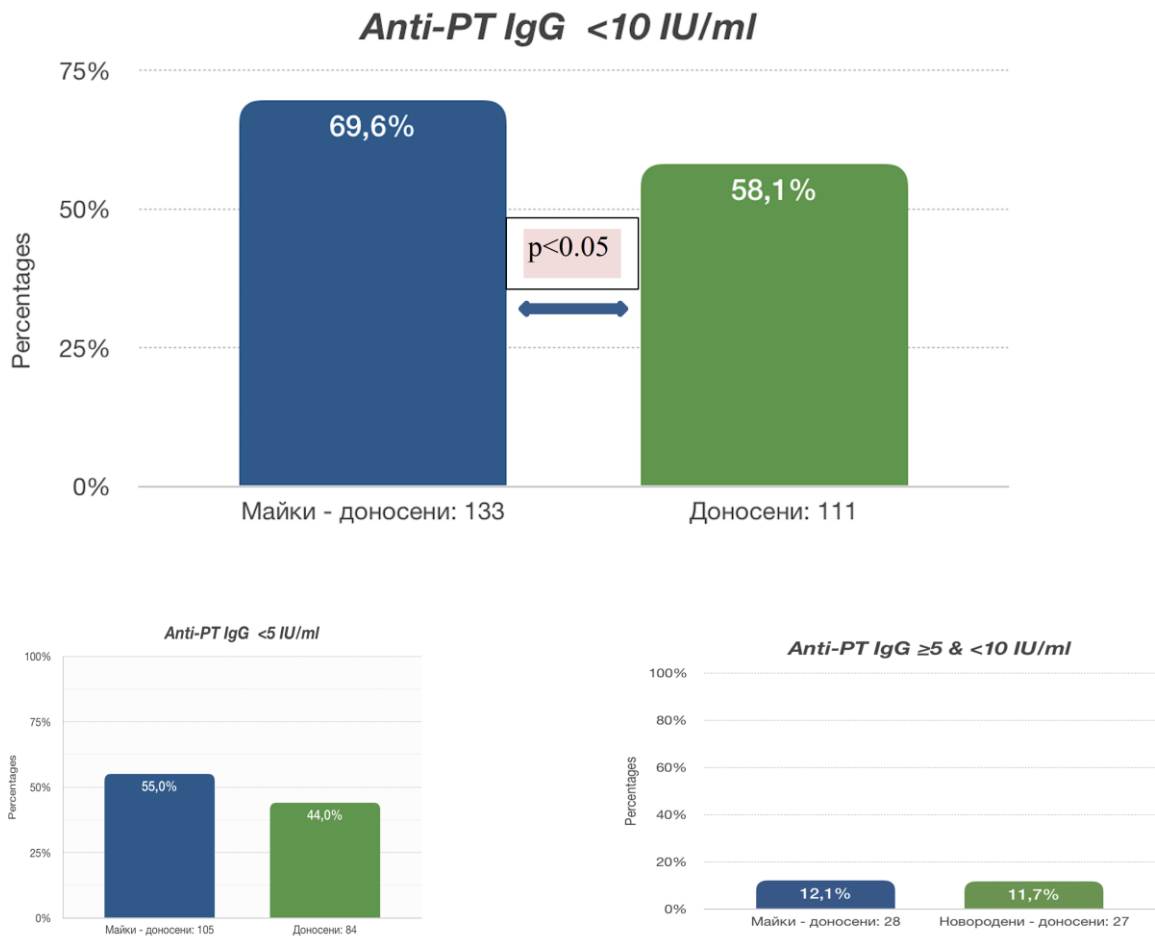
Разпределението на anti-PT IgG стойностите на майките на доносените деца от 109 двойки майка-доносено с anti-PT IgG <10 IU/ml са представени на фиг. 46.

109 майки с Anti-PT IgG < 10 IU/ml спрямо
възрастта



Фигура 46. Разпределение на 109 майки на доносени с anti-PT IgG <10 IU/ml спрямо възрастта им.

Процентното разпределение на двойките майка-доносено с anti-PT IgG <10 IU/ml е представено на фигура 47.



Фигура 47. Процентно съотношение на двойки майка-доносено с anti-PT IgG < 10 IU/ml

Ако за потенциално защитни се приемат титри на anti-PT IgG ≥ 10 IU/ml, то 29,3% (56/191) от двойките майка-доносено имат защитни титри на антитела срещу B. pertussis токсин.

Ако за потенциално защитни се приемат титри на anti-PT IgG ≥ 5 IU/ml, то 44,5% (85/191) от двойките майка-доносено имат защитни титри на антитела срещу B. pertussis токсин.

В групата на доносите, плацентарният трансфер на anti-PT IgG е позитивен при 69.6% от двойките, а ефективността на трансфера е 148%.

Анамнеза за продължителна кашлица

31 майки на доносени новородени са съобщили за продължителна кашлица в последните 2 години. При 8 от тях се съобщава за продължителна кашлица и при други членове на семейството. Измерените стойности на anti-PT IgG при тези 31 жени се движат в порядъка на 0.07 до 58.13 IU/ml. 29% от тях са потенциално защитени със стойност > 10 IU/ml. Майката, която е със стойност 58.13 IU/ml е с голяма вероятност да е боледувала от коклюшна инфекция през последните 5 години.

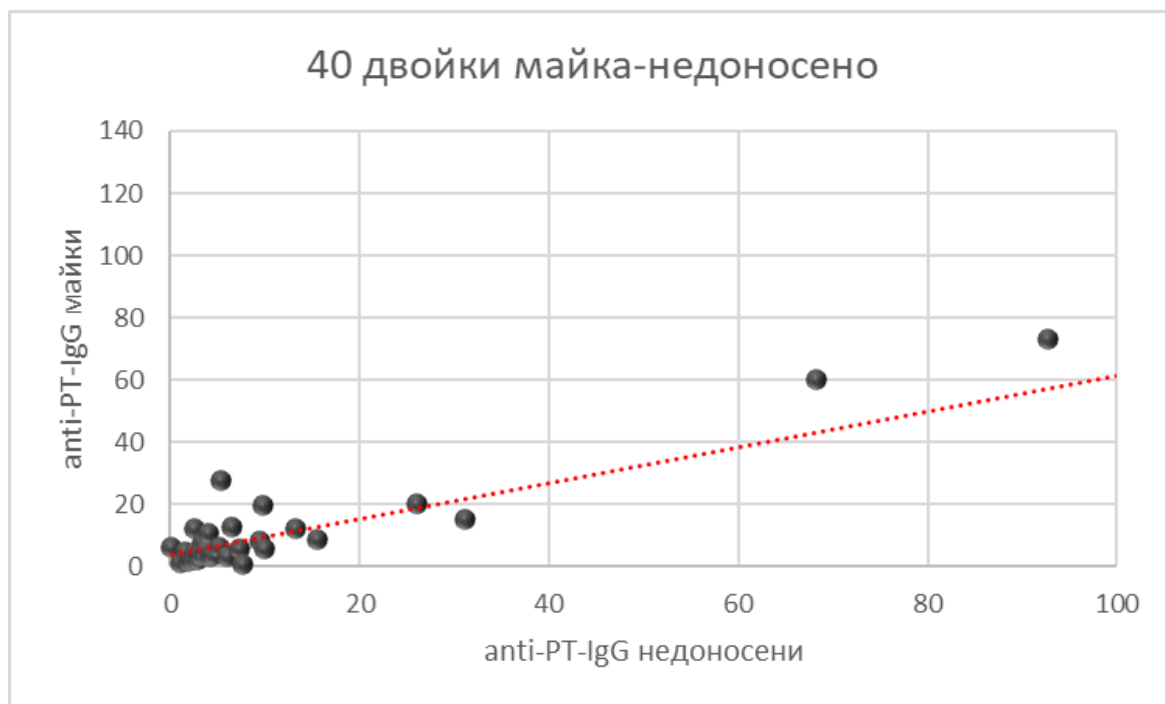
7.5. Двойки майка-недоносено новородено

В изследваната кохорта се оформиха 40 двойки майка-недоносено с пълни данни (фиг. 48 и табл. 26).

Само при **1 двойка** майка на 17 годишна възраст и нейното новородено-недоносено (36 г.с.; 2350 грама) е измерена стойност anti – PT IgG ≥ 100 IU/ml, както при новороденото (101.79 IU/ml), така и при майката (191.74 IU/ml).

Същата закономерност се наблюдава и при групата със стойност на anti – PT IgG ≥ 40 - < 99 IU/ml. При **2 двойки** майка-недоносено се наблюдава корелация:

1. Майка (29 г)/недоносено (32 г.с.; 1260 грама)– 68.20/60.06
2. Майка (25 г)/недоносено (30 г.с.; 1500 грама) – 92.70/73.15



Фигура 48. Рангов корелационен коефициент на Spearman's rho за anti-PT IgG на майчините стойности спрямо стойностите на недоносени.

Таблица 26. Процентно съотношение на 40 двойки майка-недоносено спрямо anti-PT IgG

		Недоносени			
Група (Anti-PT IgG) - бебе		Група (Anti-PT IgG) - майка			Общо
		<40 IU/ml	40-99,9 IU/ml	≥100 IU/ml	
<40 IU/ml	n	37	0	0	37 недоносени
	%	100%	0%	0%	92,5%
40-99,9 IU/ml	n	0	2	0	2
	%	0%	100%	0%	5,0%
≥100 IU/ml	n	0	0	1	1
	%	0%	0%	100%	2,5%
Общо	n	37 майки	2	1	40 общо двойки
	%	100%	100%	100%	100%

Anti-PT IgG <40 IU/ml е измерен при 37 недоносени и при техните 37 майки, като по този начин се формират **37 двойки** с корелация между майка-недоносено (табл. 27).

Таблица 27. Стойности на anti-PT IgG <40 IU/ml при 37 двойки майка-доносено

Anti-PT IgG <40 IU/ml при 37 двойки			
майка mean±SD	доносено mean±SD	средна възраст в години/г.с.	odd ratio mean±SD
5,98±6,43	6,54±6,02	26,05±6,4/33,54±3,11	2,25±5,78

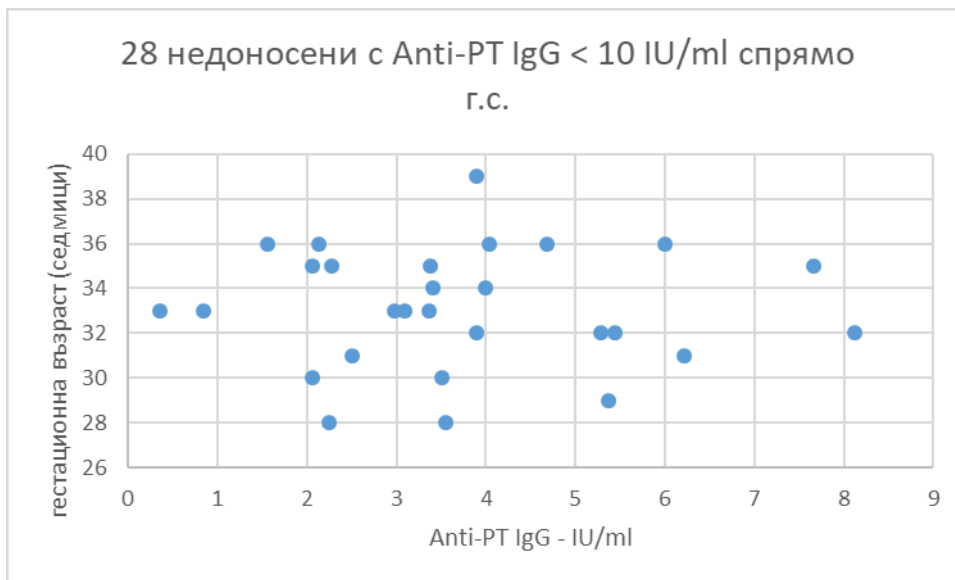
При 18 от 37 (48%) двойки майка-недоносено, нивата на anti-PT IgG на новородените недоносени са по-високи от майчините стойности. Възрастта на майките варира от 14 до 35 годишна възраст; гестационна възраст е от 28 до 36. При **28 двойки** майка-недоносено anti-PT IgG е <10 IU/ml (фиг. 49).

Anti-PT IgG <10 IU/ml при 28 двойки майка-недоносено			
майка mean±SD	недоносено mean±SD	средна възраст в години/г.с.	odd ratio mean±SD
3,82±2,36	3,71±1,87	25,86±6,9/33,1±2,7	2,3±6,6



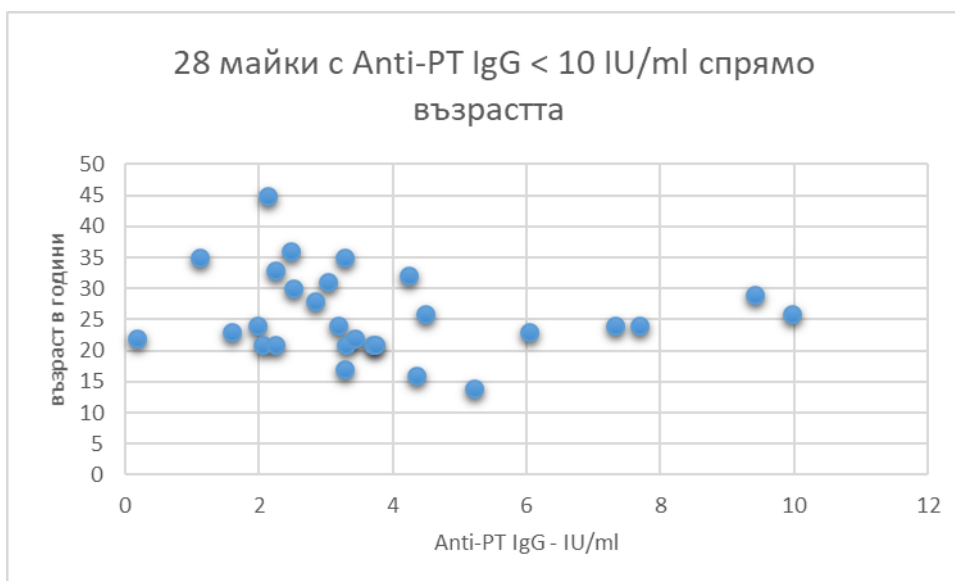
Фигура 49. 28 двойки майка-недоносено с anti-PT IgG <10 IU/ml.

Разпределението на anti-PT IgG стойностите на недоносените деца от 28 двойки майка-недоносено с anti-PT IgG <10 IU/ml са представени на фиг. 50.



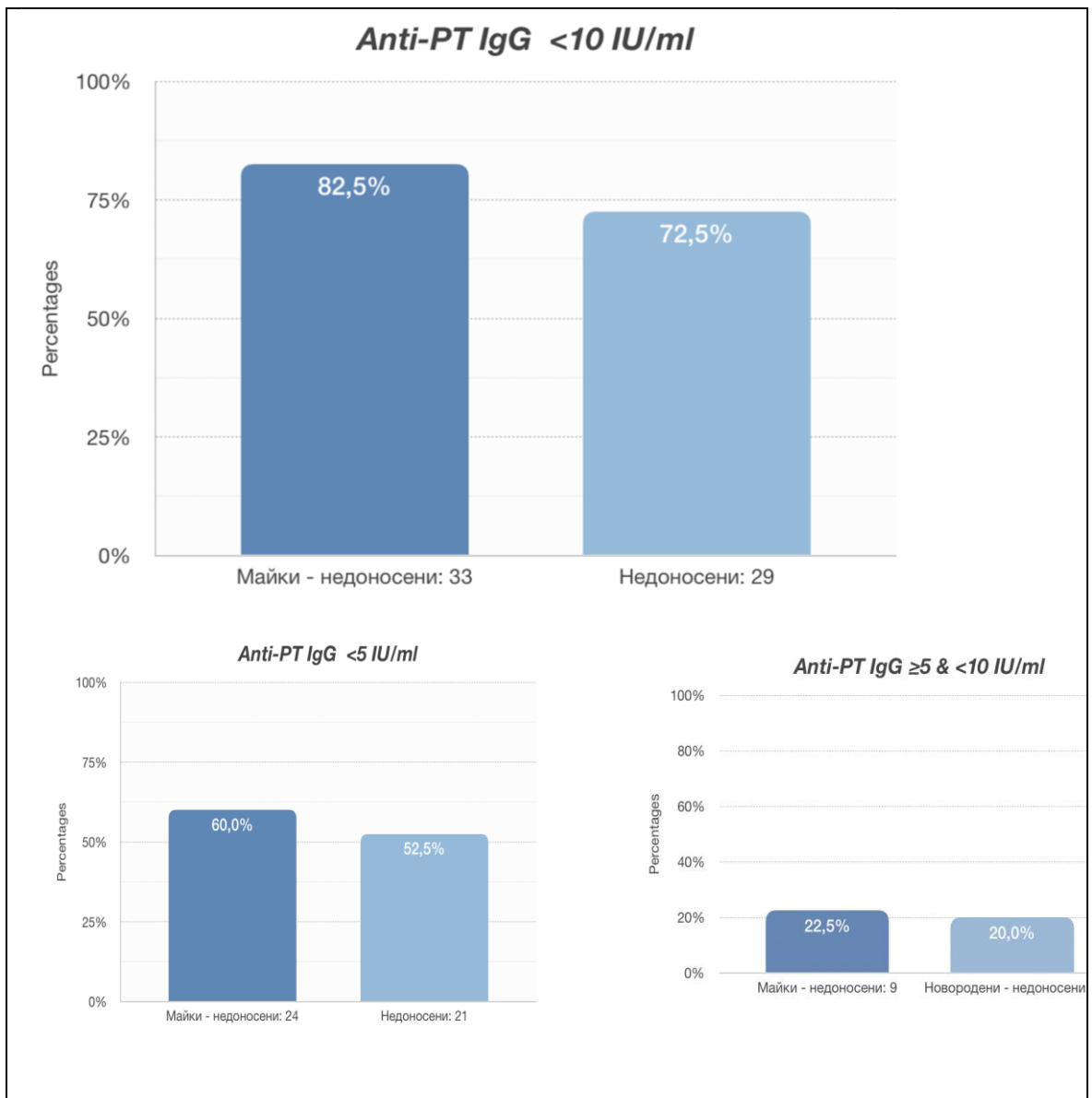
Фигура 50. Разпределение на 28 недоносени с anti-PT IgG <10 IU/ml спрямо гестационната седмица.

Разпределението на anti-PT IgG стойностите на майките на недоносените деца от 28 двойки майка-недоносено с anti-PT IgG <10 IU/ml са представени на фиг. 51.



Фигура 51. Разпределение на 28 майки на недоносени с anti-PT IgG <10 IU/ml спрямо възрастта им.

Процентното разпределение на двойките майка-недоносено с anti-PT IgG <10 IU/ml е представено на фигура 52.



Фигура 52. Процентно съотношение на двойки майка-недоносено с anti-PT IgG < 10 IU/ml

Ако за потенциално защитни се приемат титри на anti – PT IgG ≥ 10 IU/ml, то 15% (6/40) от двойките майка-недоносено имат защитни титри на антитела срещу В. pertussis токсин.

Ако за потенциално защитни се приемат титри на anti – PT IgG ≥ 5 IU/ml, то 35% (14/40) от двойките майка-недоносено имат защитни титри на антитела срещу В. pertussis токсин.

В групата на недоносените, плацентарният трансфер на anti-PT IgG е позитивен при 45% от двойките, а ефективността на трансфера е 78%.

Анамнеза за продължителна кашлица

5 майки на недоносени новородени са съобщили за продължителна кашлица в последните 2 години. Измерените стойности на anti-PT IgG при тези 5 жени се движат в порядъка на 0.16 до 191 IU/ml, но само една жена е със стойност > 10 IU/ml (191.74 IU/ml). Тя е на 17 годишна възраст и нейното новородено е със стойност 101.79 IU/ml. Вероятността тази жена да е боледувала от скорошна коклюшна инфекция е най-голяма.

8. Трансплацентарен трансфер на антителата

На таблица 28 е представено, че няма статистически значима корелация между anti-PT IgG при новородените и възрастта на майката и теглото при раждане, както в общата кохорта, така и в кохортата на недоносените и доносените новородени.

Таблица 28. Корелация между anti-PT IgG при новородените, възрастта на майката и теглото при раждане

Група	Anti-PT IgG – новородено ↔	възраст майка	тегло
Общо	R	-0,018	0,064
	p	0,775	0,319
	n	242	242
Недоносени	R	-0,228	0,222
	p	0,127	0,138
	n	46	46
Доносени	R	0,007	-0,018
	p	0,925	0,807
	n	196	196

В групата на недоносените, ефективността на плацентарния трансфер за anti -PT IgG е 78%, докато за доносените новородени е 148% (таблица 29). Съотношението на плацентарния трансфер на антитела е статистически значимо по-нисък в групата на недоносените в сравнение с групата на доносените ($p < 0.01$).

Таблица 29. Корелация на трансплацентарен трансфер по Mann-Whitney test

Група	брой n	Ефикасност на трасфера	95% CI min	95% CI max	статистическа значимост
Недоносени	40 двойки	78%	60,8%	113,2%	p<0.01
Доносени	191 двойки	148%	133,5	161,7%	

Корелацията между майчините антитела и тези на техните новородени е изчислена чрез Spearman's rank correlation. Данните показват, че има статистически достоверна корелация на трансплацентарен трансфер на антипертусис антитела (p<0.01) (таблица 30).

Таблица 30. Корелация на anti-PT IgG майка-новородено по Spearman's rank correlation.

	Anti-PT IgG - майка ↔ Anti-PT IgG - бебе		
	n	R	p
Общо	231	0,899	<0,001
Недоносени	40	0,675	<0,001
Доносени	191	0,928	<0,001

n - брой

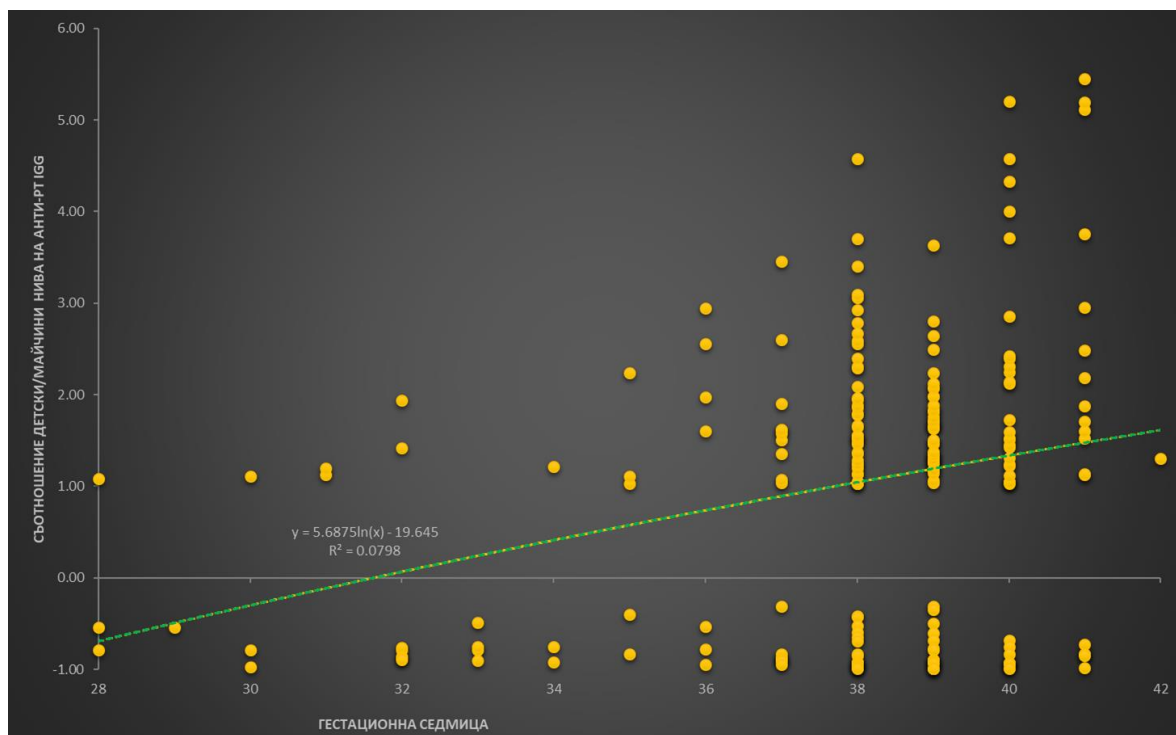
R – силата на значимостта

p – статистическа значимост

По-високият плацентарен трансфер на anti-PT IgG в групата А (на доносите новородени) в сравнение с Група Б (на недоносите новородени), най-вероятно се дължи на това, че активният трансплацентарен транспорт нараства експоненциално след 33-34 седмица, което съвпада с получените резултати в настоящето изследване. Все пак трябва да се отбележи, че и двете групи новородени получават трансплацентарен трансфер на anti -PT IgG, тъй като IgG се пренася до 50% след 28-32 седмица от бременността. През третото тримесечие нарастването на концентрациите на фетален IgG между 29-41 г.с. е 2 пъти по-голямо от това през 17-28 гестационна седмица.

Многовариантен регресионен анализ на съотношението новородено/майка нива на anti-PT IgG спрямо гестационната седмица (фиг. 53).

Установено е, че майчините anti-PT влияят върху на anti-PT на новородените както в доносената, така и в недоносената група.

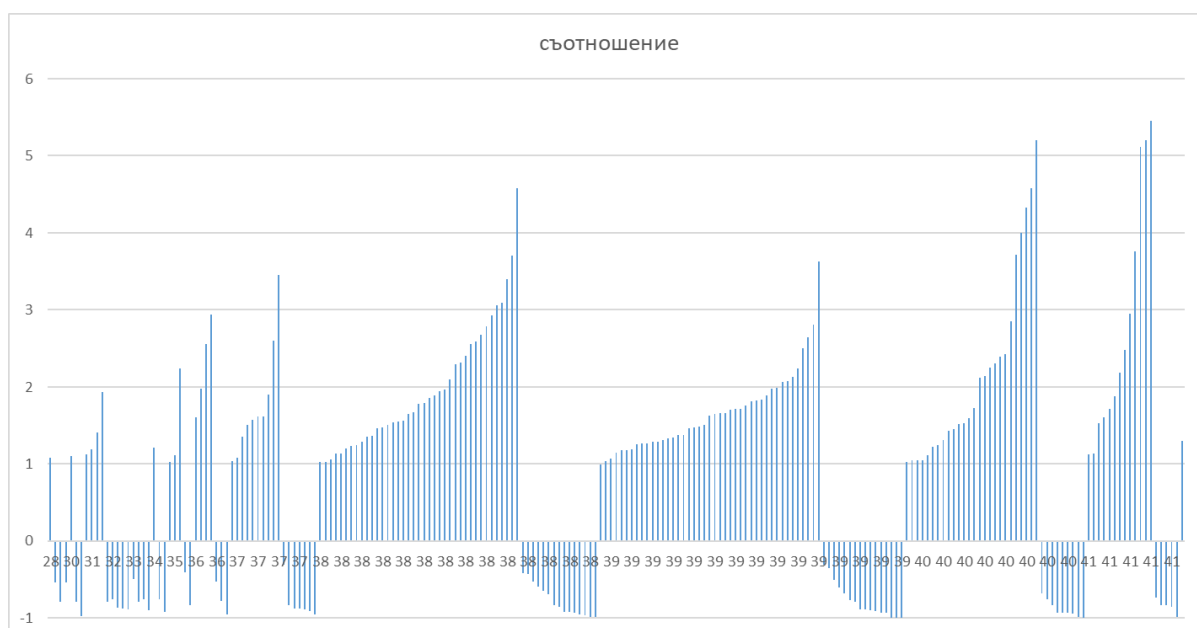


Фигура 53. Многовариантен регресионен анализ на съотношението anti-PT IgG новородено/майка спрямо гестационната седмица.

На фиг. 54 е представен плацентарния транспорт на всички дойки майка-новородено по гестационна седмица и представен като съотношение на anti-PT IgG на новородените спрямо майчините нива.

При доносените деца, anti-PT IgG под майчините нива имат 41,18% от родените през 37 седмица, 29,09% за 38 г.с., 27.59% за 39 г.с., 25,71% за 40 г.с. и 27.78% за 41 гестационна седмица.

При недоносените деца, anti-PT IgG под майчините нива имат 40% от родените през 28 гестационна седмица, 100% за 29 г.с., 40% за 30 г.с., 0% за 31 г.с., 41,66% за 32 г.с., 100% за 33 г.с., 25% за 34 г.с., 28,57% за 35 г.с. и 30% за 36 гестационна седмица.



Фигура 54. Плацентарен трансфер на всички двойки по гестационна седмица.

9. Потенциално защитни титри на антителата

9.1. Anti-PT IgG ≥ 5 IU/ml

В кохортата на двойките на недоносените, anti-PT IgG ≥ 5 IU/ml са имали 40% (n=16) от майките и 47,5% (n=19) от недоносените новородени (таблица 31).

В кохортата на доносените новородени съответно 45% (86) от майките и 56% (n=107) от новородените родени на термин са имали anti-PT IgG ≥ 5 IU/ml.

Таблица 31. Потенциално защитени двойки с anti-PT IgG ≥ 5 IU/ml

Група	Anti-PT IgG	n	%
Майки – общо (n=231)	<5 IU/ml	129	55,8
	≥ 5 IU/ml	102	44,2
Майки – недоносени (n=40)	<5 IU/ml	24	60
	≥ 5 IU/ml	16	40
Майки – доносени (n=191)	<5 IU/ml	105	55
	≥ 5 IU/ml	86	45
Новородени – общо (n=231)	<5 IU/ml	105	45,5
	≥ 5 IU/ml	126	54,5
Недоносени (n=40)	<5 IU/ml	21	52.5
	≥ 5 IU/ml	19	47.5
Доносени (n=191)	<5 IU/ml	84	44
	≥ 5 IU/ml	107	56

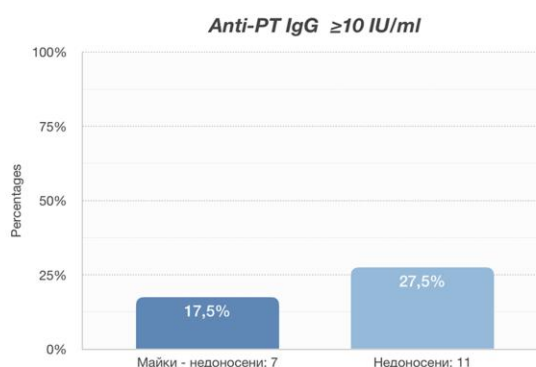
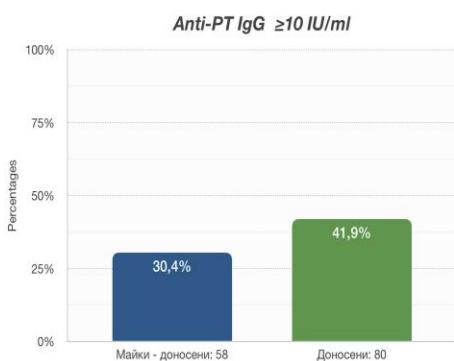
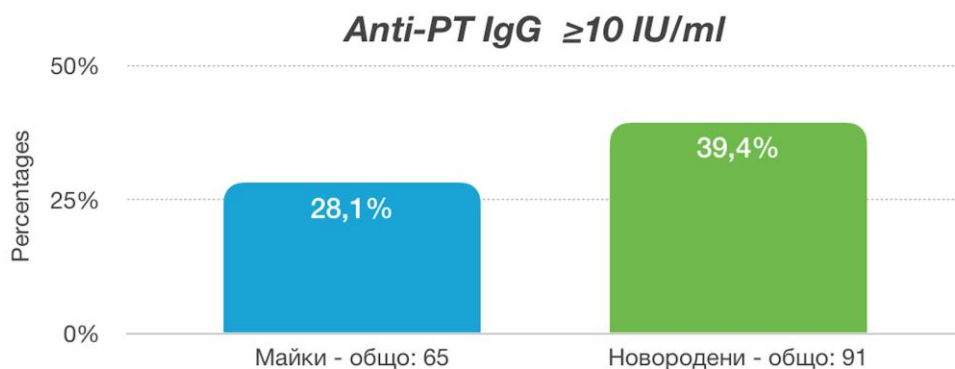
9.2. Anti-PT IgG \geq 10 IU/ml

В кохортата на двойките на недоносените, anti-PT IgG \geq 10 IU са имали 17.5% (n=7) от майките и 27,5% (n=11) от недоносените новородени (таблица 32 и фиг. 55). В кохортата на доносените новородени съответно 30,37% (n=58) от майките и 41,9% (n=80) от новородените родени на термин са имали anti-PT IgG \geq 10 IU.

Таблица 32. Потенциално защитени двойки с anti-PT IgG \geq 10 IU/ml

Група	Anti-PT IgG	n	%
Майки – общо (n=231)	<10 IU/ml	166	71,9
	\geq10 IU/ml	65	28,1
Майки - недоносени (n=40)	<10 IU/ml	33	82,5
	\geq10 IU/ml	7	17,5
Майки - доносени (n=191)	<10 IU/ml	133	69,63
	\geq10 IU/ml	58	30,37
Новородени – общо (n=231)	<10 IU/ml	140	60,6
	\geq10 IU/ml	91	39,4
Недоносени (n=40)	<10 IU/ml	29	72,5
	\geq10 IU/ml	11	27,5
Доносени (n=191)	<10 IU/ml	111	58,1
	\geq10 IU/ml	80	41,9

Забелязва се съществена разлика между двете кохорти. Петдесет и осем майки (30,4%) на родените доносени бебета имат anti-PT IgG \geq 10 IU/ml. Това кореспондира и с висок дял на потенциално защитени доносени бебета (41,9%, n=80). В група Б само 7 от майките (17,5%) и 11 от бебетата (27,5%) притежават потенциално защитни антитела IgG \geq 10 IU/ml.



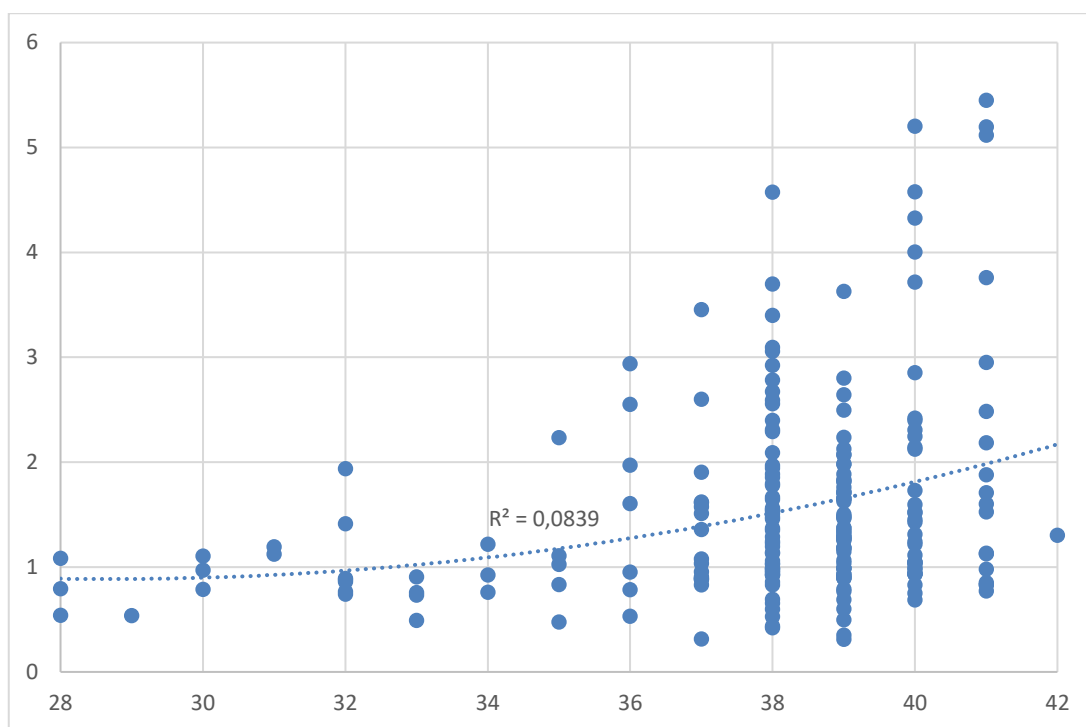
Фигура 55. Процентно съотношение на майки и новородени с anti-PT IgG ≥ 10 IU/ml.

Процентът на защитните концентрации на антитела за anti-PT в пробите от серум от пъпна връв е значително по-нисък в групата на недоносените, отколкото в групата на доносените ($p < 0.05$) (таблица 33).

Таблица 33. Процентно съотношение на 40 двойки майка-недоносено новородено спрямо anti-PT IgG < 10 и ≥ 10 IU/ml

Anti-PT IgG		Недоносенни	Доносенни	Общо	X ²	df	p
< 10	n	34	114	148	3,89	1	0,049
	%	73,9%	58,2%	61,2%			
≥ 10	n	12	82	94			
	%	26,1%	41,8%	38,8%			
Общо	n	46	196	242			

В настоящето изследване наблюдавахме рязко покачване на anti-PT IgG след 33 гестационна седмица (фиг. 56). Във връзка с това може да се счита, че периода до 28 седмица е оптимален за провеждане на имунизация на майката, като се има предвид, че периода за изграждане на антитела е около 2 седмици.



Фигура 5б. Позитивирание на трансплацентарния транспорт според гестационната седмица.

Според инструкциите за интерпретация на резултатите на използвания кит Bordetella pertussis toxin (PT) IgG ELISA kit (NovaTec, Immunodiagnostica, GmbH, Germany) стойности на anti-PT IgG ≥ 100 IU/ml се считат за индикация за скорошно прекарана коклюшна инфекция. Нашите резултати показват, че 5 от всички изследвани родилки са имали такива нива на антитела, като само една от тях е съобщила за продължителна пристъпна кашлица. Това показва, че честотата на коклюш сред жените в детеродна възраст в настоящето изследване е 2,2%. За последните години в Република България са регистрираните потвърдени случаи на коклюш за периода 2000 - 2017 година, според националния статистически Институт, са представени на таблица 34.

Таблица 34. Регистрирани, потвърдени случаи на коклюш в България за периода 2000-2017.

	2000	2005	2010	2013	2014	2015	2016	2017
Регистрирани случаи	106	242	54	89	52	35	98	116
Заболеваемост на 100000	1.3	3.1	0.7	1.2	0.7	0.5	1.4	1.6

За периода 2000-2017 г. не са отчетени смъртни случаи в България, дължащи се на B. pertussis инфекция.

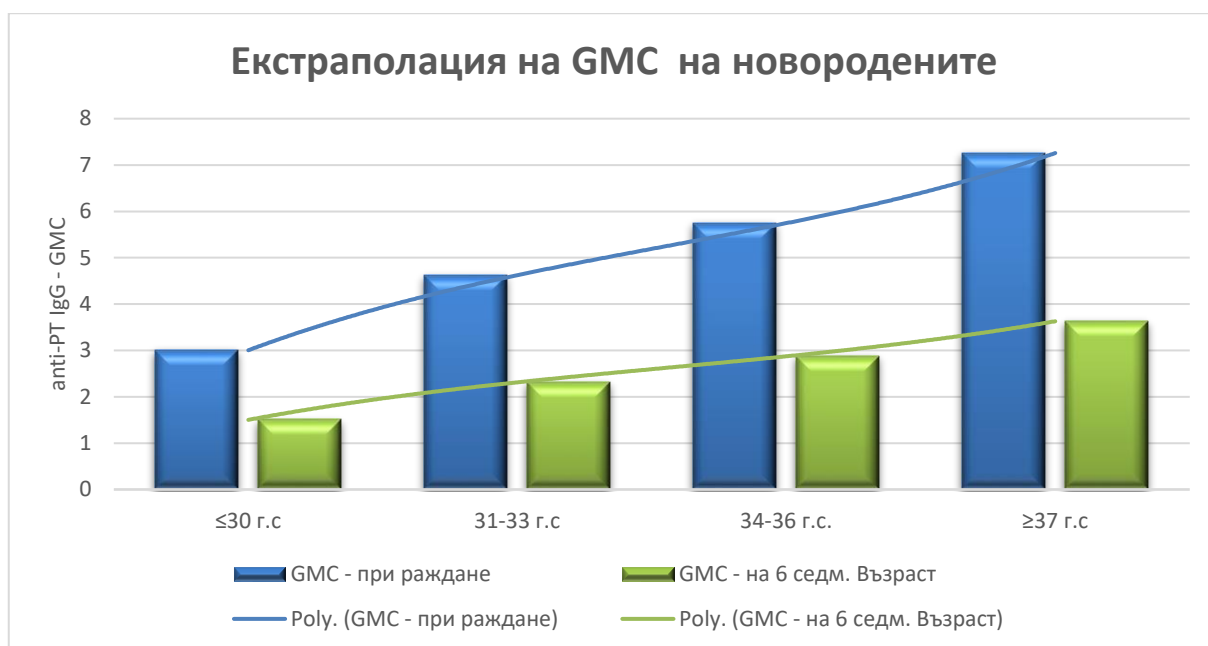
Получените данни в настоящето проучване за прекарана скорошна *B. pertussis* инфекция, в размер на 2.2% сред жените в детеродна възраст, **НЕ корелира** с публикуваните данни за Република България за същата кохорта. Получените данни показват от една страна, че е вероятно много повече жени в детеродна възраст да са прекарали скорошна инфекция с *B. pertussis*, както и че 72% от жените в детеродна възраст не са защитени срещу инфекция с *B. pertussis*.

При стойности на anti-PT IgG $\geq 40-99,9$ IU/ml, според инструкциите на производителя на кита, се препоръчва тестване на нова проба след 7-10 дни, поради съмнение за скорошна инфекция. Резултатите в настоящето проучване показват, че при 13 (5,6%) от родилките се препоръчва повторно изследване на антителата. Само една жена от тази група е съобщила за продължителна пристъпна кашлица за период повече от две седмици през последните 2 години.

Тогава, ако включим и двете групи заедно, т.е. всички жени с anti-PT IgG ≥ 40 IU/ml, резултатите показват, че честотата на коклюш в настоящето проучване е 7.8%, т.е. 18 от 231 родилки, включени в изследването е възможно да са имали скорошна инфекция от коклюш. От тях само 2 майки съобщават в анкетата за продължителна кашлица за последните 2 години.

10. Екстраполиране на антителата при новородените на 6 седмична възраст

В нашето проучване, GMC на anti-PT IgG са 5,17 IU/ml в кръвта на майката и 6,71 IU/ml, съответно в кръвта от пъпната връв на новородените. Тези стойности на GMC в нашето проучване не са достатъчно високи, за да осигурят защита до първата ваксинация, приложена на 2-месечна възраст, тъй като полу-живота на anti-PT IgG е около 36,6 дни (6 седмици). Това означава, че след този период, антителата в общата кохорта ще са GMC 3,55 IU/ml, което ще е под потенциално защитните стойности (фиг. 57). Данните от настоящето изследване показват, че при около 75% от новородените деца (71.94% при доносените и 91.31% при недоносените), титрите на anti-PT IgG, на 6 седмична възраст са недостатъчни за осигуряване на защита от коклюш.



Фигура 57. Екстраполация на anti-PT IgG GMC на новородените на 6 седмична възраст.

11. Честота на инфекцията сред жени в детеродна възраст

Към 2018 година в Република България, жените в детеродна възраст (15-46 годишна възраст) са 1487603. Докладваните регистрирани и потвърдени случаи на коклюш сред жени в детеродна възраст са 8, което означава, че заболеваемостта от коклюш при жени в детеродна възраст е 0.54 на 100000. В настоящето изследване, са установени 5 жени с прекарана скорошна инфекция, доказано с anti-PT IgG ≥ 100 IU/ml, което отнесено към цялата популация на жените в детеродна възраст към 2018 година, прави ниво на заболеваемост в размер над 2000 случая. Огромната разлика в докладваните случаи и изчислената популация на коклюшна инфекция, най-вероятно се дължи на недокладване на случаите и наличието на една единствена лаборатория, която да проведе PCR за бърза диагностика.

12. Сравнителен анализ с други държави

В настоящето изследване случаите на anti-PT IgG ≥ 100 IU/ml при жени в детеродна възраст са 5 от 231 жени (2,2%). Тези данни са статистически по-ниски от данните за Турция, където са 1.2% от жените в детеродна възраст имат anti-PT IgG ≥ 100 IU/ml. За Тайланд е докладван 3,3%, за Китай – 0.7%, Швеция – 3%, САЩ – 1.2%, Иран – 5.9%.

13. Стратегия за борба с коклюша

13.1. Пашкул

Стратегия „пашкул“ се препоръчва от началото на 2000-те години в САЩ, Франция, Австралия и Германия за предотвратяване на коклюш при новородени. Тази стратегия се състои във ваксиниране с *Tdap* на всички близки роднини, когато се очаква раждане на дете в домакинството, най-малко две седмици преди да започне близък контакт с детето. Според данните от проведената анкета, 43% от майките живеят в двучленно семейство, 34.3% в тричленно, 14.9% в четиричленно и 4.1% в петчленно, 2.9% - шестчленно и 0.4% - седемчленно семейство. Пределната цена на Adacel е 84.10 лв. (табл. 35).

Таблица 35. Цена на ваксината Adacel.

ваксина	Стойност за семейството*				
	3 членно	4 членно	5 членно	6 членно	7 членно
Adacel 0.5 ml suspension for injection x 1	168,38 лв.	252,57 лв.	336,68 лв.	420,85 лв.	505,02 лв.

*Цената е взета от Регистъра на пределните цени от НСЦРЛП към 02.10.2019

Adacel и Boostrix са включени в Приложение 3 на ПЛС със 100% реимбурсиране (табл. 36).

Таблица 36. Състав на ваксините Adacel и Boostrix.

Продукт	Състав	Разлика между Adacel и Boostrix
Adacel 0.5 ml suspension for injection in pre-filled syringe x 10	Дифтериен токсoid – 2 Lf Тетаничен токсoid – 5 Lf Коклюшни антигени <ul style="list-style-type: none"> • Коклюшен токсoid – 2.5 µg • Филаментозен хемаглутинин – 5 µg • Пертактин – 3 µg • Фимбрии тип 2 и 3 – 5 µg 	Adacel може да съдържа следи от формалдехид и глутаралдехид. Adacel се различава от Boostrix по качествено и количествено съдържание на дифтериен и коклюшни антигени. Adacel съдържа 4 коклюшни антигена, докато в Boostrix са 3.
Boostrix 0.5 ml suspension for injection in pre-filled syringe x 1	Дифтериен токсoid – 2.5 Lf Тетаничен токсoid – 5 Lf Коклюшни антигени <ul style="list-style-type: none"> • Коклюшен токсoid – 8 µg • Филаментозен хемаглутинин – 8 µg • Пертактин – 2.5 µg 	Boostrix се различава от Adacel по качествено и количествено съдържание на дифтериен и коклюшни антигени, като не съдържа фимбрии Тип 2 и 3.

13.2. Следродова ваксинация „частичен пашкул“

Следродилната ваксинация или частичното пашкулиране се препоръчва възможно най-рано за жени, които не са ваксинирани по време на бременност, за да се предотврати предаването на коклюш на новороденото от майката. Тази стратегия не е идеална, защото тя предлага защита само на майката. След ваксинацията са необходими две седмици, за да се генерира максимален имунен отговор на антигените на ваксината, през което време майката е уязвима от заразяване и разпространение на заболяването на детето.

В световен мащаб се препоръчва прилагането на стратегията на „пашкула“, но според последни проучвания (Warfel et al, 2012; Warfel et al, 2014) тя не е ефективна, защото *aP* коклюшните ваксини предпазват ваксинираните индивиди от заболяване, но не предотвратяват заразяване и предаване на инфекцията на други индивиди. Затова се въвежда стратегията за ваксиниране на бременните.

13.3. Имунизация по време на бременността

Най-новата стратегия е насочена към индуциране на по-високи нива на антитела срещу коклюш при бременни жени. В световен мащаб от 2012 година се препоръчва майчината имунизация по време на бременността, с цел намаляване заболяемостта и тежестта на заболяването. Най-добрият период за ваксинация, който е установен между 27 и 32 гестационна седмица, когато анти-РТ IgG има по-висок афинитет. По-ранната имунизация (16 гестационна седмица) обаче, насърчава по-голямо пренасяне на антитела към новороденото, най-вероятно поради кумулативен ефект, който може да бъде особено важен по отношение на преждевременната защита на новородените. По-ранното ваксиниране се оказва, че е и по-рентабилно. От 50-те години обаче е известно, че майчините антитела могат да се намесят в собствения имунен отговор на детето към ваксинацията. Интервалът между имунизацията и раждането може да определи поведението на антителата, когато те контактуват с ваксинните антигени в ранна детска възраст; това поведение може да зависи от състава на ваксината (*aP* или *wP*), приложена на детето. Високите концентрации на антитела могат да потиснат имунния отговор на детето чрез не напълно изяснени механизми. Най-приетите теории твърдят, че майчините антитела могат да образуват имунни комплекси с ваксинални антигени, или инхибират активирането на В лимфоцити,

или елиминират антигена чрез фагоцитоза, зависима от антитялото, и могат да маскират антигенни епитопи, предотвратявайки свързването на антигени с В лимфоцитите. Проучвания показват по-ниски нива на антитела при деца, родени от ваксинирани майки. Необходими са по-големи и представителни изследвания, за да се оценят възможните взаимодействия.

В заключение, стратегията „пашкул“ най-вероятно ще е неприложима от икономическа гледна точка за българското население. Стратегията с имунизирание по време на бременност най-вероятно ще бъде неизпълнима за по-голяма част от бременните жени имайки предвид народопсихологията. Стратегията „частичен пашкул“ е с ограничен ефект и също не е приемлива. Като най-добър вариант като стратегия за превенция на новородените веднага след раждане до първа имунизация остава реваксинация на жените в детеродна възраст преди забременяване. Такава една стратегия би могла да обхване една широка кохорта от жени с планирана бременност.

V. ДИСКУСИЯ

Коклюшната инфекция се причинява от *B. pertussis*, Грам-отрицателен аеробен, капсулиран кокобацил, изолиран 1906 година. Ваксина срещу коклюш е разработена 1934 година и масовата имунизация започва 10 години по-късно. Първоначално създадената ваксина е целоклетъчна. От 1981 година започва разработването на ацелуларните ваксини (Kulenkampff et al, 1974; Miller et al, 1981). Рутинната имунизация с целоклетъчна ваксина срещу коклюш е въведена в България през 1957 година. Въпреки активната имунизация, в световен мащаб коклюшната инфекция е широко разпространена, причинявайки епидемии на всеки 3-4 години (WHO, 2018). Това донякъде може да се обясни с добре документираната изменчивост на *B. pertussis*. По аналогичен начин на антибиотичната резистентност, ваксините могат да упражнят натиск върху бактериите за еволюция в други антигенни изоформи на включените във ваксините протеини (Mooi et al, 2009; Belcher & Preston, 2015; King et al, 2010; Sealey et al, 2015; van Gent et al, 2012; Hardwick et al, 2002). В случая с *B. pertussis* тази адаптация се случва чрез поне три известни механизма: антигенно изместване от покритите от **aP** ваксината антигени; изтриване на покритите от aP ваксината антигени; и свръхпродукция на антигени. Bart et al. (2014) изследва изменчивостта на *B. pertussis* за последните 100 години и установява промени в антигенните генни алели, генетично различни от съдържащите се в aP ваксината. Във всеки един от случаите е имало преминаване от специфичните (включени във aP ваксините антигенни алели), към непокрити от **aP** ваксините алели. Един още по-дефинитивен път за „бягство“ е бил отбелязан от множество лаборатории - коклюшни изолати, които изцяло спират да експресират един или повече от гените за включените в **aP** антигени (Hegerle et al, 2012; Barkoff et al, 2012; Quinlan et al, 2014; Martin et al, 2015). Новите щамове, са били по-вирулентни към хората, давали са по-висока честота на хоспитализациите и смъртните случаи (Belcher & Preston, 2015; de Gouw et al, 2014; Octavia et al, 2012; Lapidot & Gill, 2016). Този полиморфизъм на *B. pertussis* не е достатъчен да се обясни повишената заболяемост в цял свят. Интересен е случаят с Швеция, където повече от 20 години се използва моновалентна **aP** ваксина, която все още е ефективна, независимо от потвърдени щамове *B. pertussis* съдържащи невключени във ваксината алели (Lapidot & Gill, 2016). Около 10 години след въвеждането на **aP** ваксината в САЩ се наблюдава повишена заболяемост. Във Великобритания се наблюдава значително намаляване на заболяемостта след 1990 година, поради което от 1991 до 2010

година се спира бустер имунизацията, като се разчита на естествения имунитет, но значително повишаване на заболяемостта от коклюш се отчита от 2012 насам (Amirthalingam et al, 2013). България не прави изключение от тази статистика, въпреки, че честотата на коклюшната инфекция е сравнително ниска в сравнение с други Европейски страни, като Норвегия, Дания, Германия, където рутинно коклюшната инфекция е с висока честота. В тези страни обаче, делът на лабораторно потвърдени случаи е 100%, докато трябва да се отбележи, че в България има една лаборатория към Националния център по заразни и паразитни болести (НЦЗПБ), където могат да се потвърдят резултатите. Това създава известна несигурност в абсолютния брой докладвани случаи на коклюшна инфекция в България.

По данни на СЗО за 2018 година, 160700 случаи на коклюш са завършили летално при деца под 5 годишна възраст (WHO, 2018), като 75% от тях са при деца на възраст под 2 месеца. Проучването на Halasa et al. (2008) доказва, че имунизационната практика насочена към новородените не може да осигури необходимата ранна защита от коклюшна инфекция. Според имунизационния календар на Република България, ваксинация срещу коклюш се започва на възраст от 6 - 8 седмици, последвано от имунизация на 3 месеца, 4 месеца и поне една година след третата имунизация, което е на 1 година и 4 месеца. Като правило трансферираните майчини антитела напълно изчезват до 6-ия месец от живота на детето. Като пълна защита за кърмачета се счита периода след последната имунизация на 1 година и 4 месеца. Това прави децата до тази възраст много по-податливи на коклюшна инфекция.

Подобно на други протеинови антигени, съществува активен плацентарен трансфер на майчините коклюш-специфични антитела, което води до значително повишени нива на специфичен за коклюша IgG, достъпен за новородените (Healy et al, 2004). През първия триместър от бременността, малко количество IgG се транспортира до плода (Simister, 2003). Трансплацентарният транспорт е приблизително 10% от майчината концентрация на 17-22 гестационна седмица и постепенно нараства до 50% при 28-32 седмици от бременност. През третото тримесечие нарастването на концентрациите на фетален IgG (между 29 и 41 седмица на бременността) е два пъти по-голямо от това на 17-28-та гестационна седмица. Въпреки това, количеството на трансплацентарно пренасян IgG е по-ниско до приблизително 34 седмици от бременността (Healy, 2012). Тези литературни данни напълно корелират с

получените данни в настоящето проучване, тъй като установихме, че трансплацентарният трансфер сигнификантно се позитивира около 33 гестационна седмица.

Нивата на антитела на пертусис токсин IgG, определени като потенциално защитни, се основават на данни от проучвания за ефикасност на ваксината (Storsaeter et al, 1998; Cherry et al, 1988). Предполага се, че майките с най-високи нива на антитела ще раждат деца с по-високи нива на антитела и е по-вероятно те да бъдат защитени от коклюшна инфекция след раждането, отколкото бебета, родени от майки с по-ниски нива. Тъй като нивото на антитела, наличието на специфични антитела или профила на антитялото не е прието универсално като количествена серологична мярка за защита, в настоящето изследване беше направен анализ на родилките, новородените, двойки майка-доносено и двойки майка-недоносено с антитела към пертусис токсина, разделени в няколко групи според стойността на антителата: над 100, 40-99 и под 40 IU/ml (под 10, 5-10, над 5). От проведената анкета на 242 майки в проучването, нито една не е получила имунизация с коклюшна ваксина за възрастни (*Tdap*) по време на бременността или последните 5 години. Следователно, жени с най-висок титър на антитела (≥ 100 IU/ml) са имали естествена среща с коклюшна инфекция скоро преди раждането. В настоящето изследване такива стойности са измерени при 5 от 231 жени. При 13 от 231 жени, измерените стойности са в диапазона 40-99,9 IU/ml, което е предпоставка, че тези жени са имали досег с инфекцията през последните 5-10 години. Двете групи заедно правят 7.8% от жените в проучването. Това е значително повече от докладваните случаи на жени в детеродна възраст за страната. Към 2018 година в Република България, жените в детеродна възраст (15-46 годишна възраст) са 1487603. Докладваните регистрирани и потвърдени случаи на коклюш сред жени в детеродна възраст са 8, а заболяемостта е 0.54 на 100000. Данните от настоящето изследване, отнесени към цялата популация на жените в детеродна възраст към 2018 година предполага над 2000 случая. Огромната разлика в докладваните случаи и изчислената популация на коклюшна инфекция в настоящето проучване, най-вероятно се дължи на нерегистриране и недокладване на случаите.

В настоящето проучване, за продължителна кашлица през последните години съобщават 36 жени, като само 8 са отговорили, че и те и някой член от домакинството са имали продължителна кашлица. Всички 242 жени са отговорили,

че са имунизирани редовно според имунизационния календар на Република България. Целоклетъчна коклюшна ваксина са получили 234 жени, тъй като през 2008 година се въвежда бустерна доза с ацелуларна ваксина (**DTaP** + IPV) на 6 годишна възраст, а от 2010 г се преминава изцяло на ацелуларна ваксина за всички възрастови групи. В настоящето проучване има 8 жени, които са попаднали в кохортата да получат 2008 година бустерна **aP** ваксина. При 2 от тях няма данни за anti-PT IgG. При останали 6 жени, пет са с anti-PT IgG < 10 IU/ml. Тази бройка е твърде малка за да се направи извод относно ефективността от въвеждането на aP бустерна ваксина в България. Необходимо е да се проведе подобно на настоящето проучване след 15-20 години, за да се установи ефективността на **aP** ваксината сред българската популация.

Концентрациите на anti-PT IgG и плацентарния трансфер на тези антитела бяха изследвани в две кохорти: двойки майки-доносени и майки-недоносени новородени, като резултатите са представени като anti-PT IgG UI/ml и/или GMC. GMC стойността се използва като един по-обективен подход, когато резултатите следват нормално логаритмично разпределение. van den Berg et al. (2010) съобщава, че майчините GMC на anti-PT IgG варират между 2.4–11 IU/ml. В кръвта от пъпната връв на новородените се съобщава, че GMC на anti-PT IgG варират между 4.1–16.2 IU/ml. Nealy et al. (2004) измерват IgG титри при майки и бебета (n=64 двойки) до три специфични за коклюша антитела и намират изключително ниски нива на майчините (GMC 2.4 IU/ml) и детските антитела срещу пертусис токсин (GMC 4.1 IU/ml) при раждане, с бързо понижаване на нивата на антителата на бебетата на 2-месечна възраст (GMC 1.4 IU/ml). Измерените GMC на anti-PT IgG в настоящето проучване, са 5,17 IU/ml, съответно в кръвта на майката и 6,71 IU/ml, съответно в кръвта от пъпната връв на новородените. Тези стойности не са достатъчно високи, за да осигурят защита до първата ваксинация, приложена на 2-месечна възраст, тъй като полу-живота на anti-PT IgG е около 36,6 дни (6 седмици) (Fouda et al, 2018; Van Savage et al, 1990). Това означава, че след този период, антителата в общата кохорта ще са GMC 3,55 IU/ml, което ще е под потенциално защитните стойности определени от Storsaeter et al. (1998) и Cherry et al. (1998).

Двойки майка-новородено

В групата на двойките майка-доносено се наблюдава, че от 191 двойки, плацентарният трансфер на anti-PT IgG е позитивен (> 1 за anti-PT IgG) при 69.6%

от двойките, а ефективността на трансфера е 148%, което е в унисон на данните от van den Berg et al. (2010) и Healy et al. (2004), които докладват, че съотношенията плацентарен трансфер при доносни новородени варират между 126% и 169%. Потенциално незащитени с anti-PT IgG <10 IU/ml са 57% от двойките майка-доносно. При доносените деца, anti-PT IgG под майчините нива имат 41,18% от родените през 37 г.с., 29,09% през 38 г.с., 27,59% през 39 г.с., 25,71% през 40 г.с. и 27,78% през 41-ва гестационна седмица. Не се наблюдава зависимост между теглото на доносените деца и стойностите на anti-PT IgG. В настоящето изследване, групата на двойките майка-недоносно е сравнително малка – 40 двойки. Една майка има концентрации на anti-PT IgG (191.74 IU/ml), което е показателно за скорошен контакт с *B. pertussis*, а нейното дете е със стойност 101.79 IU/ml. Потенциално незащитени с измерен anti-PT IgG <10 IU/ml са 70% от двойките майка-недоносно. Резултатите от настоящето проучване показват, че GMC на anti-PT IgG от пъпната връв на недоносените новородени е статистически значимо по-нисък от този на доносените (4.94 IU/ml за недоносени спрямо 7,21 IU/ml за доносени, $p < 0.05$). Тези данни са в унисон с проучванията на Van den Berg et al. (2010), Heininger et al. (2009) и Nomura et al. (2003). В настоящето проучване доказваме, че ефективността на трансплацентарния трансфер на майчините антитела срещу коклюш, е по-нисък при недоносни деца (78%), отколкото при доносни деца (148%) ($p < 0.05$). От 1 до 28 седмици постнатално, преждевременно родените произвеждат по-малко като количество и разнообразие IgG антитела в сравнение с родените на термин (Zemlin et al, 2007; Malek et al, 1996). При 55% от недоносените се наблюдава негативно съотношение на плацентарния трансфер, докато при доносените той е 30.4% ($p < 0.01$). Настоящото изследване потвърждава съществуващите доказателства за по-нисък трансплацентарен трансфер на коклюшни антитела в преждевременно родените новородени, особено родените преди 33-та гестационна седмица. Трансплацентарният трансфер е многофакторен процес (Fouda et al, 2018), който най-вероятно е независим от основните причини, водещи до преждевременно раждане. Тези деца имат по-висок риск от заболяемост и смъртност поради тяхната незряла имунна система, малък трансфер на майчините антитела до 28-32 седмици от бременността и по-ранно намаляване на нивата на IgG под защитното ниво от родените на термин (van den Berg et al, 2011).

Имунизация по време на бременността

Принципът на използване на трансплацентарния имунитет за защита на деца от болести, предотвратими от ваксини, не е нов. Ваксинацията на бременни жени с тетаничен токсин значително е намалила глобалната честота на неонатален тетанус. Намаление с 29% на честотата на фебрилни респираторни заболявания и 63% намаление на случаите на лабораторно потвърден грип при кърмачета, е наблюдавано при децата родени от майки, получили ваксинация срещу грип през третия триместър на бременността (Zaman et al, 2008). В Европа от 2012 година се препоръчва прилагане на **Tdap** ваксина по време на бременност (препоръчително през 27-32 гестационна седмица) (Vilajeliu et al, 2015; Eberhardt et al, 2016; Naidu et al, 2016; CDC, 2018). **Tdap** може да се приложи от 13 гестационна седмица до термин, в зависимост от индивидуалния подход към пациента. Налагането на **Tdap** по време на бременност е с цел повишаване на anti-PT IgG и тяхното пасивно предаване на новородените и защитата им до поставяне на първата имунизация. Безопасността на всяка ваксина е от първостепенно значение, но Tdap имунизацията по време на бременност не е систематично проучена, като основните данни са от малки кохортни и постмаркетингови проучвания, и от US Vaccine Adverse Event Reporting System (Petousis-Harris et al, 2016). Съществуват две потенциални опасения по отношение на употребата на **Tdap** по време на бременност. Първо, липсват доказателства, че трансплацентарните майчини антитела, индуцирани от Tdap ваксина, прилагана по време на бременност, ще предпазят бебетата от коклюш. Необходими са перспективни широкомащабни проучвания в тази насока. На второ място е загрижеността, че **Tdap**, прилаган по време на бременност и високият трансплацентарен трансфер може да повлияе неблагоприятно ваксиналния отговор като инхибира сероконверсията, явление, известно като „притъпяване“ (Siegrist, 2003; Munoz et al, 2014). Този феномен е добре известен при някои живи ваксини, като например морбили, но все още не е изяснено дали „притъпяването“ на отговора от трансферираните високи нива на антитела е проблем и за коклюшната инфекция. Поради незрялостта на детската имунна система, ваксинацията в твърде ранен стадий поражда само слаб серологичен отговор (Siegrist, 2008). Препоръчителните схеми за ваксинация срещу коклюш отразяват тези потенциални опасения, тъй като са разработени за подобряване и засилване на защитата с напредване на имунната система на кърмачетата и защитата от майчините антитела (Englund et al, 1995; Bento et al, 2017).

Най-важната констатация от нашето проучване е, че само 94 от 242 новородени (39%), са с потенциално защитни anti-PT IgG ≥ 10 IU/ml независимо от коя кохорта са. Екстраполиране на антителата на новородените показват, че само 59 от тези 94 деца (25% от цялата кохорта) ще имат anti-PT IgG ≥ 10 IU/ml на 6 седмици след раждането, когато се прави първата имунизация срещу коклюш. По този начин, около 75% (183 новородени) от децата вероятно са податливи на коклюшна инфекция до 6-седмична възраст, въпреки ефективното пренасяне на майчините антитела. От тях 110 деца са с anti-PT IgG <5 IU/ml, което означава, че приблизително половината деца нямат достатъчно трансферирани anti-PT IgG и са потенциално застрашени от *B. pertussis* инфекция в първите 6 седмици от живота си. Установено е, че бебетата, родени от майки със серологично доказателство за предходна коклюшна инфекция, е по-вероятно да имат потенциално защитни нива на антитела 6 седмици след раждането (Fouda et al, 2018). Тези данни показват, че чрез симулиране на предишна инфекция, т.е. майчина имунизация с ацелуларна ваксина срещу коклюш преди или по време на бременност, би могло да се осигури по-високи нива на anti-PT IgG и съответно ефективно трансплацентарно предаване на новородените. Това е доказано в серия от експерименти на Warfel et al. (2014) с животински модели. Трансферът на майчини антитела е есенциален за незрялата имунна система на новороденото. Трансферираните IgG антитела осигуряват кратковременен пасивен имунитет, който има регулаторна роля за развитието на хуморалния имунитет на новороденото.

Тъй като няма универсално приета серологична мярка за защита от коклюшна инфекция, предположихме, че бебетата в нашето проучване с високи нива на anti-PT IgG ≥ 40 IU/ml ($n=34$ от 242, 14%) са родени от жени, които са идентифицирани с високи нива на антитела. Майките с високи нива на anti-PT IgG ≥ 40 IU/ml в настоящето изследване са 18 от 231, 7.8%. Така се оформят само 14 двойки майка-новородено с корелация на anti-PT IgG ≥ 40 IU/ml, от които 11 двойки са при доносените деца и 3 двойки при недоносените. Тези жени вероятно са придобили нивата на антитела чрез коклюшна инфекция, тъй като никоя не е имала документирана история на имунизация срещу коклюш. Повишените титри на коклюшните антитела могат да персистират 7 до 10 години след инфекцията или до 5 години след имунизация и по-високите нива на антитела са най-съвместими с прекарана инфекция в годините преди раждането (Wendelboe et al, 2005; Edelman et al, 2007; Varreto et al, 2007; Железова, 2016).

Докладвано е, че нивата на майчините патогенно-специфични IgG при раждане влияят върху ефективността на трансплацентарния IgG транспорт и че високите нива на майчините патогенно-специфични IgG при раждане водят до по-голяма продължителност на детската защита (Ballard et al, 1991; Englund, 2007; Healy, 2012). Беше направен корелационен анализ на съотношението на anti-PT IgG новородено-майка, за да се определи ефикасността на плацентарния трансфер. Установената корелация в настоящето проучване, между нивата на anti-PT IgG на майката и доношените новородени, е от особено значение. При недоношените установихме, че няма добра корелация между нивата на anti-PT IgG на майките и недоношените новородени. Следователно, имунизацията на бременни жени е вариант за предизвикване на високи майчини нива на патогенно-специфични IgG, което от своя страна ще доведе до високи нива на трансфер на майчините антитела през плацентата. Въпреки това, за недоношените, особено за тези под 32-ра гестационна седмица, имунизацията само на майката не би била толкова ефективна поради по-малкото количество транспорт на трансплацентарни антитела. Ето защо, както се препоръчва от АСІР (Murphy et al, 2008), стратегията на „пашкула“ в комбинация с майчината имунизация би била по-добър вариант за недоношените. От друга страна, имунизацията на недоношените деца е по-добре да се прави по календарна, а не по коригирана възраст, тъй като тази група е най-рискова.

В настоящето проучване, за първи път в България, е изследвана популация от жени в детеродна възраст и техните новородени относно нивата на коклюшните антитела и трансплацентарния им трансфер. Установена е силна корелация между нивата на коклюшните антитела на майките и тези от пъпната връв на новородените и подкрепя обосновката за майчина имунизация с цел предпазване на новородените от коклюшна инфекция. Друга възможна стратегия е въвеждането на ре-имунизация на всеки 10 години. В Република България, от 2020 година се въвежда ре-имунизация на 12 годишна възраст, както се препоръчва от АСІР (Murphy et al, 2008).

Проучвания върху имунизацията с *Tdap* при юноши и възрастни показват, че в 93% от ваксинираните, над 5 IU/ml нива на пертусис токсин антителата персистират до 5 години след имунизацията (Edelman et al, 2007; Barreto et al, 2007). Тези данни налагат провеждането на бъдещи проучвания относно ефикасността и ефективността на *aP* ваксините.

VI. ИЗВОДИ

1. Заболеваемостта от коклюш при жени в детеродна възраст е 2,2% (5/231) в настоящето изследване, а със съмнение за скорошна коклюшна инфекция са 5.6% (13/231). Само 2 жени са съобщили за продължителна кашлица през последните 2 години, което означава, че заболяването може да протича безсимптомно при възрастните хора.
2. Жените в детеродна възраст (15-46 години) с anti-PT IgG над 10 IU/ml (потенциално защитени) са само 28%, а новородените с anti-PT IgG над 10 IU/ml (потенциално защитени) са 39%.
3. Плацентарният трансфер на anti-PT IgG при новородените деца е позитивен в 65% от двойките, а негативен при 35%. Това е активен процес, зависещ от много фактори.
4. Доказан е плацентарен трансфер на майчините anti-PT IgG, който е в пряка зависимост от гестационната седмица на раждането и сигнификантно се позитивира около 33 г.с.
5. Няма статистически значима корелация между антителата на новородените и възрастта на майката, теглото при раждане и пола.
6. Ефективността на плацентарния трансфер на anti-PT IgG при доносените деца е 148%, а при недоносените е само 78%.
7. При около 75% от новородените деца (71.94% при доносените и 91.31% при недоносените), титрите на anti-PT IgG, ще са недостатъчни за осигуряване на защита от коклюш на 6 седмична възраст.
8. Екстраполирането на данните от настоящето изследване, показва, че отнесено към 1487603 жени в детеродна възраст към 2018 година, фактическата заболеваемост от коклюш сред тази кохорта може да е много повече – приблизително 2000 случая.
9. Недоносените деца са по-уязвими поради ниските нива на трансфер на антитела и имунизацията при тях би следвало да се прави по календарна възраст, а не по коригирана.
10. Имунизацията преди или по време на бременността би осигурила достатъчно високи нива на anti-PT IgG през първите седмици от живота на новородените деца.

VII. ПРИНОСИ НА ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД

Приноси с оригинален характер

1. За първи път у нас е проведена серологична оценка на плацентарния трансфер на IgG антитела срещу *B. pertussis* токсин (anti-PT IgG) при 231 двойки майка-новородено в обсервационно, проспективно, популационно проучване.
2. Установяването на ниска защита при жени в детеродна възраст и новородени, особено недоносени, показва необходимостта от промяна в имунизационните стратегии при бременни и недоносени деца.
3. Доказано е, че заболяемостта от коклюш у нас при жени в детеродна възраст е много по-висока от официално регистрираните и докладвани случаи.

VIII. ПУБЛИКАЦИИ И НАУЧНИ СЪОБЩЕНИЯ СВЪРЗАНИ С ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД

Публикации

- **Мангъров И.** Актуални проблеми на коклюш инфекцията при новородени деца и малки кърмачета. Практическа педиатрия 2019;6.
- Влахова Д, Георгиева Р, Дянкова Д, Симеонова С, Томова В, Данкова В, **Мангъров И**, Николова Е. Късна неонатална инфекция. Практическа педиатрия 2019;6.
- Velev V, Vutova K, Pavlova M, **Mangarov I.** A Case of Fasciolosis in a 11-Year-Old Syrian Immigrant Boy. J Trop Pediatr 2019; Jul 13. pii: fmz043 (**IF 1.289**) <https://doi.org/10.1093/tropej/fmz043>

Участия в научни форуми

- **Mangarov IA**, Velikova TV, Ivanova IP, Georgieva RV. Pertussis toxin (PT) IgG antibodies in postpartum women and their newborns в XVth International Scientific Conference for Students and Young Doctors, 9-14 Oct. 2017, Pleven, Bulgaria (постер)
- **Мангъров ИА**, Великова ЦВ, Георгиева РВ. IgG антитела срещу бордетела пертусис у родилки и техните новородени. IV–та Научно-педиатрична конференция “Социално значими заболявания в детската възраст” 16-17 март 2018, гр. Велико Търново, България (постер)
- **Мангъров ИА**, Великова ЦВ, Георгиева Р. IgG антитела срещу бордетела пертусис токсин (anti-PT) у родилки и техните новородени. XIX-та Национална конференция за ОПЛ и педиатри с международно участие, Слънчев бряг, България 18-20 май 2018 (постер)
- **Мангъров И.** IgG антитела срещу бордетела пертусис токсин (anti-PT) у родилки и техните новородени (резултати). VI Национална Конференция по Неонатология с международно участие „Инфекциозна патология на новороденото” 12-14. 10. 2018г. гр. Трявна (презентация)
- **Мангъров И.** Актуални проблеми на пертусис профилактиката при недоносени деца. IV Национална педиатрична конференция профилактика, диагностика и терапия в детско-юношеската възраст клинични и терапевтични предизвикателства в педиатричната практика 11–14 април 2019, гр. Несебър (презентация)

Участия в обучителни форуми

- Независимо медицинско обучение „Инхалаторна терапия в детска възраст“ 28 януари 2017, гр. София
- Независимо медицинско обучение „Съвременна ваксинапрофилактика“, 10 март 2018, гр. София

IX. Литература

1. Владимирова Н. Контрол на коклюшната инфекция в България: Промени произтичащи от съвременната епидемиология на коклюша. *Мединфо* 2010, 8 <https://www.medinfor.bg/spisanie/2010/8/statii/kontrol-na-koklushnata-infekcijata-v-bylgarija-promeni-proiztichashti-ot-syvremennata-epidemiologija-na-koklusha-955>
2. Гачева Н, Кожухарова М, Владимирова Н и др. Остри инфекциозни болести в България през 2000 г. *Инф. журнал на НЦЗПБ*, 2002 12, 5-40.
3. Гачева Н. Коклюш не е само детска инфекция - необходими са периодични реимунизации. *Мединфо* 2008, VIII, 10.
4. Железова Г. Ваксини за профилактика на респираторни бактериални инфекции. Изд. УИ „Св. Климент Охридски“ 2016.
5. Наредба № 15 от 12 май 2005 Г. за имунизациите в Република България с доп. ДВ. бр.38 от 12 Май 2017г. <https://www.lex.bg/laws/ldoc/2135504228>
6. ACIP (1992) Pertussis vaccination: acellular pertussis vaccine for reinforcing and booster use – Supplementary ACIP statement recommendations of the immunization practices advisory committee. *MMRW Rec Rep* Feb. 07, 1992/41 (RR-1); 1–10. Available from: <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/00041801.htm>. Accessed on 5 Feb 2016
7. ACOG Committee opinion: Committee on Obstetric Practice. Immunization and Emerging Infections Expert Work Group. Number 718, September 2017. Accessed by September, 2019. Available at <https://www.acog.org/Clinical-Guidance-and-Publications/Committee-Opinions/Committee-on-Obstetric-Practice/Update-on-Immunization-and-Pregnancy-Tetanus-Diphtheria-and-Pertussis-Vaccination?IsMobileSet=false>
8. Acosta AM, DeBolt C, Tasslimi A, et al. Tdap vaccine effectiveness in adolescents during the 2012 Washington State pertussis epidemic. *Pediatrics* 2015;135:981–9.
9. Advani A, Gustafsson L, Ahren C, Mooi FR, Hallander HO. Appearance of Fim3 and ptxP3-Bordetella pertussis strains, in two regions of Sweden with different vaccination programs. *Vaccine*. 2011;29(18):3438–42.
10. Allen AC, Mills KH. Improved pertussis vaccines based on adjuvants that induce cell-mediated immunity. *Expert Rev Vaccines* 2014;13:1253–64.
11. Althouse BM, Scarpino SV. Asymptomatic transmission and the resurgence of Bordetella pertussis. *BMC Med*. 2015;13:146.
12. Alvarez Hayes J, Erben E, Lamberti Y, et al. Identification of a new protective antigen of Bordetella pertussis. *Vaccine* 2011;29:8731–9.
13. Amirthalingam G, Andrews N, Campbell H, et al. Effectiveness of maternal pertussis vaccination in England: an observational study. *Lancet*. 2014 Oct 25;384(9953):1521-8.
14. Anonymous. Placebo-controlled trial of two acellular pertussis vaccines in Sweden—protective efficacy and adverse events. Ad Hoc Group for the Study of Pertussis Vaccines. *Lancet* 1988;1(8592): 955–60.

15. Aronsson B, Florén CC, Greve-Isdahl M, et al. Vaccination of preterm infants against pertussis and pneumococci. Immunogenicity, effectiveness and safety. Immunogenisitet, effekt og sikkerhet]. Report 2018. Oslo: Norwegian Institute of Public Health, 2018. <https://www.fhi.no/en/publ/2018/vaccination-of-preterm-infants-against-pertussis-and-pneumococci/>
16. Aslanabadi A, Ghabili K, Shad K, et al. Emergence of whooping cough: notes from three early epidemics in Persia. *Lancet Infect Dis.* 2015 Dec;15(12):1480-4.
17. Asokanathan C, Corbel M, Xing D. A CpG-containing oligodeoxynucleotide adjuvant for acellular pertussis vaccine improves the protective response against *Bordetella pertussis*. *Hum Vaccin Immunother* 2013;9:325–31.
18. Ballard JL, Khoury JC, Wedig K, et al. New ballard score, expanded to include extremely premature infants. *J Pediatr* 1991;119:417–23.
19. Barkoff AM, Mertsola J, Guillot S, et al. Appearance of *Bordetella pertussis* strains not expressing the vaccine antigen pertactin in Finland. *Clin Vaccine Immunol.* 2012;19(10):1703–4.
20. Barreto L, Guasparini R, Meekison W, et al. Humoral immunity 5 years after booster immunization with an adolescent and adult formulation combined tetanus, diphtheria, and 5-component acellular pertussis vaccine. *Vaccine.* 2007;25(48):8172–9.
21. Bart MJ, Harris SR, Advani A, et al. Global population structure and evolution of *Bordetella pertussis* and their relationship with vaccination. *MBio.* 2014;5(2):e01074.
22. Bart MJ, van Gent M, van der Heide HG, et al. Comparative genomics of prevaccination and modern *Bordetella pertussis* strains. *BMC Genomics.* 2010; 11: 627.
23. Belcher T, Preston A. *Bordetella pertussis* evolution in the (functional) genomics era. *Pathog Dis.* 2015;73(8):ftv064.
24. Belloni C, De Silvestri A, Tinelli C, et al. Immunogenicity of a threecomponent acellular pertussis vaccine administered at birth. *Pediatrics.* 2003;111:1042–1045.
25. Bento AI, King AA, Rohani P. Maternal pertussis immunisation: clinical gains and epidemiological legacy. *Euro Surveill.* 2017 Apr 13;22(15). pii: 30510.
26. Bollman A, Chernak E, Fekete T et al. Guillaume De Baillou, the history of vaccines. Sturgis Collections, Philadelphia, PA.; 2. (2017) *The History of Vaccines.* The College of Physicians of Philadelphia. Retrieved September 21, 2018 from: <https://www.historyofvaccines.org/content/guillaume-de-baillou>
27. Broder KR, Cortese MM, Iskander JK, et al. Preventing tetanus, diphtheria, and pertussis among adolescents: use of tetanus toxoid, reduced diphtheria toxoid and acellular pertussis vaccines recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR Recomm Rep* 2006;55:1–34.
28. Brummelman J, Helm K, Hamstra HJ, et al. Modulation of the CD4(+) T cell response after acellular pertussis vaccination in the presence of TLR4 ligation. *Vaccine* 2015;33:1483–91.

29. Carollo M, Pandolfi E, Tozzi AE, et al. Humoral and B-cell memory responses in children 5 years after pertussis acellular vaccine priming. *Vaccine* 2014; 32:2093-9.
30. CDC: Updated recommendations for use of tetanus toxoid, reduced diphtheria toxoid and acellular pertussis vaccine (Tdap) in pregnant women and persons who have or anticipate having close contact with an infant aged <12 months — Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2011a;60:1424–6.
31. CDC: Updated recommendations for use of tetanus toxoid, reduced diphtheria toxoid and acellular pertussis (Tdap) vaccine from the Advisory Committee on Immunization Practices, 2010. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2011b;60:13–5.
32. CDC: Adult vaccination coverage--United States, 2010. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2012; 61(4): 66–72
33. CDC Centers for Disease Control and Prevention: Childhood Diphtheria toxoid, Tetanus toxoid, acellular Pertussis (DTaP) Vaccination Coverage 2017. Accessed 13 March, 2019. Retrieved from <https://www.cdc.gov/vaccines/imz-managers/coverage/childvaxview/data-reports/dtap/reports/2017.html>
34. CDC Centers for Disease Control and Prevention: Pertussis (Whooping cough) Surveillance and Reporting, 2018 Available at: <http://www.cdc.gov/pertussis/surv-reporting.html>, Accessed 5 Sep 2019.
35. Chen Z, He Q. (2017). Immune persistence after pertussis vaccination. *Human Vaccines & Immunotherapeutics*, 13(4), 744–756.
36. Cherry JD, Brunnel PA, Golden GS, et al. (1988) Report of the task force on pertussis and pertussis immunization – 1988. *Pediatrics* 81:933–984
37. Cherry JD, Gornbein J, Heininger U, et al. A search for serologic correlates of immunity to *Bordetella pertussis* cough illnesses. *Vaccine* 1998;16(20):1901–1906.
38. Cherry JD. Pertussis: challenges today and for the future. *PLoS Pathog.* 2013;9(7):e1003418.
39. Cherry JD. The present and future control of pertussis. *Clin Infect Dis.* 2010;51(6):663–7.
40. Cua DJ, Tato CM. Innate IL-17-producing cells: the sentinels of the immune system. *Nat Rev Immunol.* 2010;10(7):479–89.
41. de Gouw D, Hermans PW, Bootsma HJ, et al. Differentially expressed genes in *Bordetella pertussis* strains belonging to a lineage which recently spread globally. *PLoS One.* 2014;9(1):e84523.
42. Dias WO, van der Ark AA, Sakauchi MA, et al. An improved whole cell pertussis vaccine with reduced content of endotoxin. *Hum Vaccin Immunother* 2013;9:339–48.
43. Dunne A, Mielke LA, Allen AC, et al. A novel TLR2 agonist from *Bordetella pertussis* is a potent adjuvant that promotes protective immunity with an acellular pertussis vaccine. *Mucosal Immunol* 2015;8:607–17.
44. ECDPC Vaccine Scheduler: Vaccine schedules in all countries of the European Union Available at <http://vaccine-schedule.ecdc.europa.eu/Pages/Scheduler.aspx>). Accessed by September, 2019.

45. ECDC European Center for Disease Prevention and Control. Annual epidemiological report 2015. Country reports: Pertussis. Stockholm: ECDC, 2016. https://ecdc.europa.eu/sites/portal/files/documents/AER_for_2017-pertussis.pdf
46. Edelman K, He Q, Mäkinen J, et al. Immunity to pertussis 5 years after booster immunization during adolescence. *Clin Infect Dis* 2007; 44(10): 1271–1277.
47. Edwards KM. Overview of pertussis: focus on epidemiology, sources of infection, and long term protection after infant vaccination. *Pediatr Infect Dis J* 2005; 24(6 suppl):S104-8.
48. Ehrlich P. *Studies in immunity, the bacillus of whooping cough*. J Wiley & Sons, New York, NY) 1910.
49. Englund JA. The influence of maternal immunization on infant immune responses. *J Comp Pathol* 2007;137(suppl 1):S16–9.
50. Englund JA, Anderson EL, Reed GF, et al. The effect of maternal antibody on the serologic response and the incidence of adverse reactions after primary immunization with acellular and whole-cell pertussis vaccines combined with diphtheria and tetanus toxoids. *Pediatrics* 1995; 96(3 Pt 2): 580–584.
51. Ercan TE, Sonmez C, Vural M, et al. Seroprevalance of pertussis antibodies in maternal and cord blood of preterm and term infants. *Vaccine* 2013;31(38), 4172–4176.
52. EU Special Eurobarometer 488 Report on Europeans’ attitudes towards vaccination. April 2019. Survey requested by the European Commission, Directorate-General for Health and Food Safety and co-ordinated by the Directorate-General for Communication
53. Fabricius G, Bergero PE, Ormazabal ME, et al. Modelling pertussis transmission to evaluate the effectiveness of an adolescent booster in Argentina. *Epidemiol Infect* 2013;141: 718–34.
54. Feunou PF, Kammoun H, Debie AS, et al. Long-term immunity against pertussis induced by a single nasal administration of live attenuated *B. pertussis* BPZE1. *Vaccine* 2010;28:7047–53.
55. Feunou PF, Bertout J, Loch C. T- and B-cell-mediated protection induced by novel, live attenuated pertussis vaccine in mice. Cross protection against parapertussis. *PLoS One* 2010a;5:e10178.
56. Feunou PF, Kammoun H, Debie AS, et al. Heterologous primeboost immunization with live attenuated *B. pertussis* BPZE1 followed by acellular pertussis vaccine in mice. *Vaccine* 2014;32:4281–8.
57. Fine PE, Clarkson JA. Reflections on the efficacy of pertussis vaccines. *Rev Infect Dis*. 1987;9(5):866–83.
58. Forsyth K, Plotkin S, Tan T, et al. Strategies to decrease pertussis transmission to infants. *Pediatrics* 2015;135:e1475–82.
59. Fouda GG, Martinez DR, Swamy GK. The Impact of IgG transplacental transfer on early life immunity. *Immunohorizons*. 2018 January 1; 2(1): 14–25.
60. Gaillard ME, Bottero D, Moreno G, et al. Strategies and new developments to control pertussis, an actual health problem: Graphical Abstract Figure. *Pathogens and Disease* 2015;73(8), ftv059.

61. Garty BZ, Ludomirsky A, Danon YL, et al. Placental transfer of immunoglobulin G subclasses. *Clin Diagn Lab Immunol.* 1994;1(6):667–9.
62. Gill C, Rohani P and Thea DM. The relationship between mucosal immunity, nasopharyngeal carriage, asymptomatic transmission and the resurgence of *Bordetella pertussis*. *F1000Research* 2017, 6(F1000 Faculty Rev):1568
63. Glanz JM, McClure DL, Magid DJ, et al. Parental refusal of pertussis vaccination is associated with an increased risk of pertussis infection in children. *Pediatrics.* 2009; 123(6): 1446–51.
64. Gregory D. Lynchburg Family Medicine Residency, Lynchburg, Virginia. *Am Fam Physician.* 2006 Aug 1;74(3):420-426.
65. Gustafsson L, Hessel L, Storsaeter J, et al. Long-term follow-up of Swedish children vaccinated with acellular pertussis vaccines at 3, 5, and 12 months of age indicates the need for a booster dose at 5 to 7 years of age. *Pediatrics.* 2006;118(3):978–84.
66. Halasa N, O’Shea A, Shi J, et al. Poor immune responses to a birth dose of diphtheria, tetanus and acellular pertussis vaccine. *J Pediatr.* 2008;153: 327–332.
67. Haller S, Dehnert M, Karagiannis I, et al. Effectiveness of routine and booster pertussis vaccination in children and adolescents, federal state of brandenburg, Germany, 2002–2012. *Pediatr Infect Dis J* 2015;34:513–9.
68. Halperin BA, Halperin SA. The reemergence of pertussis and infant deaths: is it time to immunize pregnant women? *Future Microbiology* 2011;6(4):367–369.
69. Halperin BA, Morris A, MacKinnon-Cameron D, et al. (2011). Kinetics of the Antibody Response to Tetanus-Diphtheria-Acellular Pertussis Vaccine in Women of Childbearing Age and Postpartum Women. *Clinical Infectious Diseases*, 53(9), 885–892
70. Hardwick TH, Cassiday P, Weyant RS, et al. Changes in predominance and diversity of genomic subtypes of *Bordetella pertussis* isolated in the United States, 1935 to 1999. *Emerg Infect Dis.* 2002;8(1):44–9.
71. Healy CM. Vaccines in pregnant women and research initiatives. *Clin Obstet Gynecol* 2012;55:474–86.
72. Healy CM, Munoz FM, Rench MA, et al. Prevalence of pertussis antibodies in maternal delivery, cord, and infant serum. *J Infect Dis* 2004; 190(2): 335–340.
73. Healy CM, Rench MA, Baker CJ. (2012). Importance of Timing of Maternal Combined Tetanus, Diphtheria, and Acellular Pertussis (Tdap) Immunization and Protection of Young Infants. *Clinical Infectious Diseases*, 56(4), 539–544.
74. Hegerle N, Paris AS, Brun D, et al. Evolution of French *Bordetella pertussis* and *Bordetella parapertussis* isolates: increase of *Bordetellae* not expressing pertactin. *Clin Microbiol Infect.* 2012;18(9):E340–6.
75. Heininger U, André P, Chlibek R, et al. Comparative Epidemiologic Characteristics of Pertussis in 10 Central and Eastern European Countries, 2000–2013. *PLoS ONE* 2016;11(6): e0155949.
76. Heininger U, Riffelmann M, Leineweber B, et al. Maternally derived antibodies against *Bordetella pertussis* antigens pertussis toxin and filamentous hemagglutinin in preterm and full term newborns. *Pediatr Infect Dis J.* 2009 May;28(5):443-5.

77. Hopkins RS, Jajosky RA, Hall PA, et al. Centers for Disease Control and Prevention. Summary of notifiable diseases—United States, 2003. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2005; 52:1-85.
78. Hurley WL, Theil PK. Perspectives on immunoglobulins in colostrum and milk. *Nutrients*. 2011;3(4):442–74.
79. Jackson DW, Rohani P. Perplexities of pertussis: recent global epidemiological trends and their potential causes. *Epidemiol Infect*. 2014;142(4):672–84.
80. Jahnmatz M, Amu S, Ljungman M, et al. B-cell responses after intranasal vaccination with the novel attenuated *Bordetella pertussis* vaccine strain BPZE1 in a randomized phase I clinical trial. *Vaccine* 2014;32:3350–6.
81. Jefferson T, Rudin M, DiPietrantonj C. Systematic review of the effects of pertussis vaccines in children. *Vaccine* 2003; 21:2003-14
82. Kilgore, P. E., Salim, A. M., Zervos, M. J., & Schmitt, H. J. (2016). Pertussis: Microbiology, Disease, Treatment, and Prevention. *Clinical microbiology reviews*, 29(3), 449–486.
83. Kim J, Mohanty S, Ganesan LP, et al. FcRn in the yolk sac endoderm of mouse is required for IgG transport to fetus. *J Immunol*. 2009;182(5):2583–9.
84. King AJ, van Gorkom T, van der Heide HG, et al. Changes in the genomic content of circulating *Bordetella pertussis* strains isolated from the Netherlands, Sweden, Japan and Australia: adaptive evolution or drift? *BMC Genomics*. 2010;11:64.
85. Klein NP. Licensed pertussis vaccines in the United States. History and current state. *Hum Vaccin Immunother* 2014;10:2684–2690.
86. Klein NP, Bartlett J, Fireman B, Rowhani-Rahbar A, Baxter R. Comparative effectiveness of acellular versus whole-cell pertussis vaccines in teenagers. *Pediatrics*. 2013;131(6):e1716–22.
87. Klein NP, Bartlett J, Rowhani-Rahbar A, et al. Waning protection after fifth dose of acellular pertussis vaccine in children. *N Engl J Med*. 2012;367(11):1012–9.
88. Knuf M, Schmitt HJ, Wolter J, et al. Neonatal vaccination with an acellular pertussis vaccine accelerates the acquisition of pertussis antibodies in infants. *J Pediatr*. 2008;152:655–660.
89. Kolls JK, Khader SA. The role of Th17 cytokines in primary mucosal immunity. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2010;21(6):443–8.
90. Kuchar E, Karlikowska-Skwarnik M, Han S, et al, A. (2016). Pertussis: History of the Disease and Current Prevention Failure. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 77–82.
91. Kulenkampff M, Schwartzman JS, Wilson J. Neurological complications of pertussis inoculation. *Arch Dis Child*. 1974;49(1):46–49.
92. Lapidot R, Gill CJ. (2016). The Pertussis resurgence: putting together the pieces of the puzzle. *Tropical diseases, travel medicine and vaccines*, 2, 26.
93. Liang Y, Salim AM, Wu W, et al. 2016. Chao Yuanfang: Imperial Physician of the Sui Dynasty and an early pertussis observer? *Open Forum Infect Dis*. 2016 Jan 29;3(1):ofw017.
94. Libster R, Edwards KM. How Can We Best Prevent Pertussis in Infants? *Clin Infect Dis* 2011;54(1), 85–87.

95. Liko J, Robison SG, Cieslak PR. Priming with whole-cell versus acellular pertussis vaccine. *N Engl J Med*. 2013;368(6):581–2.
96. Lim A, Ng JK, Loch C, et al. Protective role of adenylate cyclase in the context of a live pertussis vaccine candidate. *Microbes Infect* 2014;16:51–60.
97. Loch C, Antoine R, Jacob-Dubuisson F. *Bordetella pertussis*, molecular pathogenesis under multiple aspects. *Curr Opin Microbiol*. 2001 Feb;4(1):82–9.
98. Makela PH. Conjugate vaccines--a breakthrough in vaccine development. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*. 2003;34(2):249–53.
99. Malek A, Sager R, Kuhn P, et al. Evolution of maternofetal transport of immunoglobulins during human pregnancy. *Am J Reprod Immunol*. 1996;36(5):248–55.
100. Martin SW, Pawloski L, Williams M, Weening K, DeBolt C, Qin X, Reynolds L, Kenyon C, Giambone G, Kudish K, et al. Pertactin-negative *Bordetella pertussis* strains: evidence for a possible selective advantage. *Clin Infect Dis*. 2015;60(2):223–7.
101. Mattoo S, Cherry JD. Molecular pathogenesis, epidemiology, and clinical manifestations of respiratory infections due to *Bordetella pertussis* and other *Bordetella* subspecies. *Clin Microbiol Rev*. 2005;18(2):326–82.
102. McGirr A, Fisman DN. Duration of pertussis immunity after DTaP immunization: a meta-analysis. *Pediatrics*. 2015; 135(2): 331–43.
103. McIntyre PB, Clark TA. (2014). Pertussis vaccine in pregnancy—first dose for every infant? *The Lancet*, 384(9953), 1484–1486.
104. Meynell GG. John Locke and the preface to Thomas Sydenham's *Observationes medicae*. *Med Hist*. 2006;50 (1): 93–110.
105. Mielcarek N, Debie AS, Raze D, et al. Live attenuated B. *Pertussis* as a single-dose nasal vaccine against whooping cough. *PloS Pathog* 2006;2:e65.
106. Miller DL, Ross EM, Alderslade R, et al. Pertussis immunisation and serious acute neurological illness in children. *Br Med J (Clin Res Ed)*. 1981 May 16;282(6276):1595–9.
107. Mills KH, Ross PJ, Allen AC, et al. Do we need a new vaccine to control the re-emergence of pertussis? *Trends Microbiol* 2014;22:49–52.
108. Mooi FR, de Greeff SC. The case for maternal vaccination against pertussis. *Lancet Infect Dis* 2007;7(9), 614–624.
109. Mooi FR, van Loo IH, van Gent M, et al. *Bordetella pertussis* strains with increased toxin production associated with pertussis resurgence. *Emerg Infect Dis*. 2009;15(8):1206–13.
110. Morgan LG. Pertussis immunization: an update. *J Can Chiropr Assoc* 1997;41(2):86–90
111. Moulton LH, Chung S, Croll J, et al. Estimation of the indirect effect of *Haemophilus influenzae* type b conjugate vaccine in an American Indian population. *Int J Epidemiol*. 2000;29(4):753–6.
112. Munoz FM. (2007). Vaccination during Pregnancy. *Women's Health*, 3(2), 227–241.
113. Munoz FM, Bond NH, Maccato M, et al. Safety and immunogenicity of tetanus diphtheria and acellular pertussis (Tdap) immunization during pregnancy

- in mothers and infants: a randomized clinical trial. *JAMA*. 2014 May 7;311(17):1760-9.
114. Murphy TV, Slade BA, Broder KR, et al. Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP) Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Prevention of pertussis, tetanus, and diphtheria among pregnant and postpartum women and their infants recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP) *MMWR Recomm Rep*. 2008;57(RR-4):1–51
 115. Nobel Media AB 2019. The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1919. NobelPrize.org. Wed. 25 Sep 2019.
<<https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1919/summary/>>
 116. Nomura M, Kuno-Sakai H, Kimura M, et al. Dynamics of transplacental transmission of pertussis antibodies in premature and full-term infants. *Tokai J Exp Clin Med* 2003;28:21–6.
 117. Oakley C. 1962. Jules Jean Baptiste Vincent Bordet. 1870-1961. *Biograph Memoirs Fellows R Soc* 8:19 –25. <http://dx.doi.org/10.1098/rsbm.1962.0002>;
 118. O'Brien KL, Dagan R. The potential indirect effect of conjugate pneumococcal vaccines. *Vaccine*. 2003;21(17–18):1815–25.
 119. Octavia S, Sintchenko V, Gilbert GL, et al. Newly emerging clones of *Bordetella pertussis* carrying prn2 and ptxP3 alleles implicated in Australian pertussis epidemic in 2008–2010. *J Infect Dis*. 2012;205(8):1220–4.
 120. Onorato IM, Wassilak SG, Meade B. Efficacy of whole-cell pertussis vaccine in preschool children in the United States. *JAMA*. 1992;267(20):2745–9.
 121. Palazzo R, Carollo M, Bianco M, et al. Persistence of T-cell immune response induced by 2 acellular pertussis vaccines in children 5 years after primary vaccination. *New Microbiol* 2016; 39:35-47.
 122. Palmeira P, Quinello C, Silveira-Lessa AL, et al. IgG placental transfer in healthy and pathological pregnancies. *Clin Dev Immunol*. 2012;2012:985646.
 123. Petousis-Harris H, Walls T, Watson D, et al. Safety of Tdap vaccine in pregnant women: an observational study. *BMJ Open*. 2016 Apr 18;6(4):e010911.
 124. Phadke VK, Bednarczyk RA, Salmon DA, et al. Association Between Vaccine Refusal and Vaccine-Preventable Diseases in the United States: A Review of Measles and Pertussis. *JAMA*. 2016; 315(11): 1149–58.
 125. PHE Public Health England: Laboratory confirmed cases of pertussis (England): annual report for 2018a Health Protection Report Volume 13 Number 14
https://assets.publishing.service.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/797712/hpr1419_ptss-ann.pdf
 126. PHE Public Health England: Laboratory confirmed cases of pertussis in England annual report 2018. Retrieved on September 21, 2019 at <https://www.gov.uk/government/publications/whooping-cough-pertussis-statistics>

127. Pichichero ME, Deloria MA, Rennels MB, et al. A safety and immunogenicity comparison of 12 acellular pertussis vaccines and one whole-cell pertussis vaccine given as a fourth dose in 15- to 20-month-old children. *Pediatrics*. 1997;100(5):772–88.
128. Polewicz M, Gracia A, Garlapati S, et al. Novel vaccine formulations against pertussis offer earlier onset of immunity and provide protection in the presence of maternal antibodies. *Vaccine* 2013;31:3148–55.
129. Pollard AJ. Global epidemiology of meningococcal disease and vaccine efficacy. *Pediatr Infect Dis J*. 2004;23(12 Suppl):S274–9.
130. Préziosi MP, Halloran ME. Effects of pertussis vaccination on transmission: vaccine efficacy for infectiousness. *Vaccine*. 2003; 21(17–18): 1853–61.
131. Prince HE, Lieberman JM, Cherry JD. Age-related differences in patterns of increased *Bordetella pertussis* antibodies. *Clin Vaccine Immunol*. 2012;19(4):545–50.
132. Qin X, Galanakis E, Martin ET, et al. Multitarget PCR for diagnosis of pertussis and its clinical implications. *J Clin Microbiol*. 2007;45(2):506–11.
133. Quinlan T, Musser KA, Currenti SA, et al. Pertactin-negative variants of *Bordetella pertussis* in New York State: a retrospective analysis, 2004–2013. *Mol Cell Probes*. 2014;28(4):138–40.
134. Queenan AM, Dowling DJ, Cheng WK et al. Increasing FIM2/3 antigen-content improves efficacy of *Bordetella pertussis* vaccines in mice in vivo without altering vaccine-induced human reactivity biomarkers in vitro. *Vaccine*. 2019 Jan 3;37(1):80-89.
135. Riffelmann M, Littmann M, Hellenbrand W, et al. (2008) Pertussis: Not Only a Disease of Childhood. *Dtsch Arztebl*; 105(37): 623-628.
136. RKI-Ratgeber für Ärzte: Pertussis (Keuchhusten). Robert Koch-Institut, 2010.
137. Robbins JB, Schneerson R, Kubler-Kielb J, et al. Toward a new vaccine for pertussis. *P Natl Acad Sci USA* 2014;111:3213–6.
138. Rohani P, Drake JM. The decline and resurgence of pertussis in the US. *Epidemics*. 2011; 3(3–4): 183–8.
139. Romanus V, Jonsell R, Bergquist SO. Pertussis in Sweden after the cessation of general immunization in 1979. *Pediatr Infect Dis J*. 1987;6(4):364–71.
140. Ross PJ, Sutton CE, Higgins S, et al. Relative contribution of Th1 and Th17 cells in adaptive immunity to *Bordetella pertussis*: towards the rational design of an improved acellular pertussis vaccine. *PLoS Pathog*. 2013;9(4):e1003264.
141. Saari TN. Immunization of Preterm and Low Birth Weight Infants. *Pediatrics* 2003;112(1),193-198
142. Sato Y, Sato H. Development of acellular pertussis vaccines. *Biologicals* 1999;27:61–69

143. Sealey KL, Harris SR, Fry NK, et al. Genomic analysis of isolates from the United Kingdom 2012 pertussis outbreak reveals that vaccine antigen genes are unusually fast evolving. *J Infect Dis.* 2015;212(2):294–301.
144. Sebo P, Osicka R, Masin J. Adenylate cyclase toxin-hemolysin relevance for pertussis vaccines. *Expert Rev Vaccines* 2014;13:1215–27.
145. Seubert A, D’Oro U, Scarselli M, et al. Genetically detoxified pertussis toxin (PT-9K/129G): implications for immunization and vaccines. *Expert Rev Vaccines* 2014;13:1191–204.
146. Shakib JH, Ralston S, Raissy HH, et al. Pertussis antibodies in postpartum women and their newborns. *J Perinatol* 2010;30:93–7.
147. Shapiro-Shapin CG. Pearl Kendrick, Grace Eldering, and the Pertussis Vaccine. *Emerging Infectious Diseases* Vol. 16, No. 8, August 2010:1273-78.
148. Siegrist CA. Mechanisms by which maternal antibodies influence infant vaccine responses: review of hypotheses and definition of main determinants. *Vaccine.* 2003 Jul 28;21(24):3406-12.
149. Siegrist CA. Blame Vaccine Interference, Not Neonatal Immunization, for Suboptimal Responses after Neonatal Diphtheria, Tetanus, and Acellular Pertussis Immunization. *J Pediatr.* 2008;153(3):305–7.
150. Simister NE. Placental transport of immunoglobulin G. *Vaccine* 2003;21:3365–9.
151. Solans L, Loch C. The Role of Mucosal Immunity in Pertussis. *Front Immunol.* 2019 Jan 14;9:3068.
152. Stein-Zamir C, Shoob H, Abramson N, et al. The impact of additional pertussis vaccine doses on disease incidence in children and infants. *Vaccine* 2010;29:207–11.
153. Storsaeter J, Hallander HO, Gustafsson L, et al. (1998). Levels of anti-pertussis antibodies related to protection after household exposure to *Bordetella pertussis*. *Vaccine*, 16(20), 1907–1916.
154. Sydenham T. *Opera Universa Medica*. London: Sydenham Society, 1741
155. Tanaka M, Vitek CR, Pascual FB, et al. Trends in pertussis among infants in the United States, 1980-1999. *JAMA* 2003;290:2968-75 3.
156. Tartof SY, Lewis M, Kenyon C, et al. Waning immunity to pertussis following 5 doses of DTaP. *Pediatrics.* 2013;131(4):e1047–52.
157. Tatti KM, Tondella ML. Utilization of multiple real-time PCR assays for the diagnosis of *Bordetella* spp. in clinical specimens. *Methods Mol Biol.* 2013; 943:135–47.
158. Thorstensson R, Trollfors B, Al-Tawil N, et al. A phase I clinical study of a live attenuated *Bordetella pertussis* vaccine– BPZE1; a single centre, double-blind, placebo-controlled, dose-escalating study of BPZE1 given intranasally to healthy adult male volunteers. *PLoS One* 2014;9:e83449.
159. Tiwari T, Murphy TV, Moran J, for the National Immunization Program, Centers for Disease Control and Prevention. Recommended antimicrobial agents for the treatment and postexposure prophylaxis of pertussis. *MMWR Recomm Rep* 2005;54(RR-14):1-16.

160. van den Berg JP, Westerbeek EA, van der Klis FR, et al. Transplacental transport of IgG antibodies to preterm infants: a review of the literature. *Early Hum Dev.* 2011;87(2):67–72. doi: 10.1016/j.earlhumdev.2010.11.003.
161. van den Berg JP, Westerbeek EA, Berbers GA, et al. Transplacental transport of IgG antibodies specific for pertussis, diphtheria, tetanus, haemophilus influenzae type b, and Neisseria meningitidis serogroup C is lower in preterm compared with term infants. *Pediatr Infect Dis J* 2010;29:801–5.
162. van Gent M, Bart MJ, van der Heide HG, et al. Small mutations in Bordetella pertussis are associated with selective sweeps. *PLoS One.* 2012;7(9):e46407.
163. Vandermeulen C, Theeten H, Rathi N, et al. Decennial administration in young adults of a reduced-antigen content diphtheria, tetanus, acellular pertussis vaccine containing two different concentrations of aluminium. *Vaccine* 2015;33:3026–34.
164. Van Rie A, Wendelboe AM, Englund JA. Role of Maternal Pertussis Antibodies in Infants. *Pediatr Infect Dis J* 2005;24(Suppl), S62–S65.
165. Van Savage J, Decker MD, Edwards KM, et al. Natural history of pertussis antibody in the infant and effect on vaccine response. *J Infect Dis* 1990; 161(3): 473–479.
166. VKP: Vaccine Knowledge Project. Pertussis (Whooping cough). University of Oxford, Oxford vaccine group 2019. Retrieved on September 17, 2019 from <http://vk.ovg.ox.ac.uk/vk/pertussis-whooping-cough>
167. Warfel JM, Beren J, Merkel TJ. Airborne transmission of Bordetella pertussis. *J Infect Dis.* 2012;206(6):902–6.
168. Warfel JM, Beren J, Kelly VK, et al. Nonhuman primate model of pertussis. *Infect Immun.* 2012a;80(4):1530–6.
169. Warfel JM, Merkel TJ. Bordetella pertussis infection induces a mucosal IL-17 response and long-lived Th17 and Th1 immune memory cells in nonhuman primates. *Mucosal Immunol.* 2013;6(4):787–96.
170. Warfel JM, Merkel TJ. The baboon model of pertussis: effective use and lessons for pertussis vaccines. *Expert Rev Vaccines.* 2014; 13(10): 1241–52.
171. Warfel JM, Zimmerman LI, Merkel TJ. Acellular pertussis vaccines protect against disease but fail to prevent infection and transmission in a nonhuman primate model. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2014;111(2):787–92.
172. Warfel JM, Papin JF, Wolf RF, et al. Maternal and neonatal vaccination protects newborn baboons from pertussis infection. *J Infect Dis.* 2014a; 210(4): 604–10.
173. Warfel JM, Edwards KM. Pertussis vaccines and the challenge of inducing durable immunity. *Curr Opin Immunol.* 2015;35:48–54.
174. Warfel JM, Zimmerman LI, Merkel TJ. Comparison of three whole-cell pertussis vaccines in the baboon model of Pertussis. *Clin Vaccine Immunol.* 2015;23(1):47–54.
175. Wendelboe AM, Van Rie A, Salmaso S, et al. Duration of immunity against pertussis after natural infection or vaccination. *Pediatr Infect Dis J.* 2005;24(5 Suppl):S58–61.

176. Weston W, Messier M, Friedland LR, et al. Persistence of antibodies 3 years after booster vaccination of adults with combined acellular pertussis, diphtheria and tetanus toxoids vaccine. *Vaccine*. 2011;29(47):8483–6.
177. WHO Expert Committee on Biological Standardization WHO Technical Report Series, No. 941 - Fifty-sixth report, Annex 6: Recommendations for whole-cell pertussis vaccine, 301–33. WHO HQ, Geneva, 2007. Available at: <http://apps.who.int/medicinedocs/en/cl/CL7.13/clmd,50.html>
178. WHO. Pertussis vaccines: WHO position paper. *Weekly Epidemiol Rec*. 2010;85:385–400.
179. WHO Expert Committee on Biological Standardization WHO Technical Report Series, No. 979 - Sixty-second report, Annex 4: Recommendations to assure the quality, safety and efficacy of acellular pertussis vaccines, pages 187–260. WHO HQ, Geneva, 2013. Available at: <http://apps.who.int/medicinedocs/en/m/abstract/Js21093en/>
180. WHO SAGE Pertussis working group. Pertussis background paper SAGE April 2014; 2014. Available at: http://www.who.int/immunization/sage/meetings/2014/april/1_Pertussis_background_FINAL4_web.pdf. Accessed 5 Dec 2016. [Ref list].
181. WHO Pertussis. Vaccine-Preventable Diseases. Surveillance Standards 2018:1-16. Accessed by September 2019. Available at https://www.who.int/immunization/monitoring_surveillance/burden/vpd/WHO_SurveillanceVaccinePreventable_16_Pertussis_R2.pdf?ua=1
182. Witt MA, Arias L, Katz PH, et al. Reduced risk of pertussis among persons ever vaccinated with whole cell pertussis vaccine compared to recipients of acellular pertussis vaccines in a large US cohort. *Clin Infect Dis* 2013;56:1248–54.
183. Witt MA, Katz PH, Witt DJ. Unexpectedly limited durability of immunity following acellular pertussis vaccination in preadolescents in a North American outbreak. *Clin Infect Dis*. 2012;54(12):1730–5.
184. Wood N, McIntyre P, Marshall H, et al. (2010). Acellular Pertussis Vaccine at Birth and One Month Induces Antibody Responses By Two Months of Age. *The Pediatric Infectious Disease Journal*, 29(3), 209–215.
185. Zaman K, Roy E, Arifeen SE, et al. Effectiveness of maternal influenza immunization in mothers and infants. *N Engl J Med* 2008;359(15): 1555–1564.
186. Zemlin M, Hoersch G, Zemlin C, et al. The postnatal maturation of the immunoglobulin heavy chain IgG repertoire in human preterm neonates is slower than in term neonates. *J Immunol*. 2007 Jan 15;178(2):1180-8.
187. Zhang Q, Finn A. Mucosal immunology of vaccines against pathogenic nasopharyngeal bacteria. *J Clin Pathol*. 2004;57(10):1015–21.
188. Zhang Q, Pettitt E, Burkinshaw R, et al. Mucosal immune responses to meningococcal conjugate polysaccharide vaccines in infants. *Pediatr Infect Dis J*. 2002;21(3):209–13.

Х. ПРИЛОЖЕНИЯ

1. Приложение 1 – Информирано съгласие



МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ, СОФИЯ

УНИВЕРСИТЕТСКА КЛИНИКА ПО НЕОНАТОЛОГИЯ,

при "СБАЛ по детски болести - проф. д-р Иван Митев" ЕАД - София

НАЧАЛНИК КЛИНИКА: Доц. Ралица Георгиева, д.м.

София, бул. "Акад. Иван Гешов" №11 тел. 02/ 954 13 97

ИНФОРМАЦИЯ ЗА РОДИТЕЛЯ (НАСТОЙНИКА) НА ПАЦИЕНТ ПОД 18 ГОДИШНА ВЪЗРАСТ

**Изследване на антитела срещу коклюш (*Bordetella pertussis*) у родилки и
техните новородени в серум.**

Описание

Коклюшът е остро инфекциозно заболяване, което се причинява от *Bordetella pertussis*. Характеризира се с катарални промени на ларинкса, трахеята и бронхите и протича с пароксизмални калцични пристъпи. Най-тежко протича при новородени и малки деца. Заболяването не създава траен имунитет. След прекаран коклюш защитните антитела се задържат 7-10 години, а след имунизация за 3-5 години.

В доваксиналната ера от коклюш са боледували предимно деца, тъй като възрастните са имали имунитет в резултат на периодично прекарвани инфекции, всяка от които протичаща по-леко от предишната. Децата непосредствено след раждането са били защитавани от трансплацентарните антитела получавани от майките им, задържащи се от един до три месеца.

Може да се предполага, че раждащите жени като част от общата популация, в повечето случаи нямат антитела срещу *B. Pertussis* и съответно техните новородени не получават антитела, което ги прави уязвими до момента, когато получават имунитет от ваксината за коклюш. В същото време, възрастното население е изложено на опасност от заболяване от коклюш, поради липса на ваксинални антитела. Поради това в съвременния свят, възрастните са тези които боледуват и разпространяват коклюша, но заболяването протича най-тежко и с най-много усложнения при новородени и непълно ваксинираните деца. Причината е липсата на трансплацентарно предадени антитела срещу коклюш. Това обуславя приетата в някои страни стратегия за имунизирание на бременни срещу коклюш с цел осигуряване на антитела за техните новородени и предпазването им до момента на първата имунизация за коклюш. За

целта на изследването ще бъде взето малко количество венозна кръв от Вас и Вашето новородено. Освен това, в рамките на проучването, ще бъдете помолени да попълните анкетна карта, с въпроси, относно здравното Ви състояние в последните 5 години..

Цел

Целта на изследването е да се установи какво е нивото на антитела срещу *B. pertussis* у здрави родилки и техните новородени, за да се види до колко новородените са защитени по естествен път и до колко въвеждането на нова стратегия за превенция на коклюш би била оправдана за страна като нашата.

Процедура

В рамките на първите 2-3 дена след раждането, част от вземаната за рутинни клинично-лабораторни изследвания на Вас и на Вашето дете венозна кръв ще бъде използвана за настоящото изследване (антитела за *B. pertussis*, чрез ELISA метод). При възможност, с Ваше съгласие, същото изследване ще бъде направено на двумесечна възраст на Вашето дете, преди първата ваксина за коклюш.

Рискове

Изследването не създава допълнителни рискове, тъй като кръвта се взема при рутинните изследвания на детето и майката.

Ползи

Да се установи какво е нивото на антителата сред родилките и техните новородени с оглед въвеждане на нова превантивна стратегия за борбата с коклюш.

Поверителност

Имате право на анонимност и цялата информация, получена във връзка с това проучване, която може да идентифицира Вас и детето Ви, ще бъде запазена в тайна в съответствие с българското законодателството. Изследователският екип поема задължението да съхранява и пази в тайна документацията по това проучване. Специфична изследователска информация ще бъде предоставена на лекари от СБАЛДБ „Проф. д-р Иван Митев” ЕАД, гр. София. Вие няма да бъдете идентифицирана по име. Ако информацията относно нивата на антитела за *B. pertussis* бъде публикувана като част от данните получени от това проучване, имената и идентифициращата информация няма да бъдат разкрити..

Права

При съгласие за участие в проучването, Вие давате права за ползване, обработка и анализ на събраната информация на изследователския екип. Имате право да получите резултатите от направените изследвания.

Доброволно участие

Участието на Вас и Вашето дете в това клинично проучване е доброволно. Отказът от участие няма да бъде свързан със загуба на ползи или намеса в грижите за здравето Ви.

Човешки права в медицинските изследвания

Законодателството изисква да бъдете информиран(а) относно:

1. Същността и целта на проучването.
2. Процедурите и методите, които следва да бъдат приложени.
3. Неразположенията и рисковете, които биха могли да бъдат очаквани при провеждането на проучването.
4. Ползите, които биха могли да бъдат очаквани от проучването.
5. Възможността да се задават всякакви въпроси относно проучването.
6. Възможността да откажете участие или да се оттеглите във всеки един от етапите на проучването без това да повлияе на грижата за здравето на Вашето дете.
7. Да получите копие от писменото информирано съгласие за това проучване.
8. Възможността да дадете съгласие за участие - свободно, без принуда.

9. Отговорност при евентуални усложнения, възникнали във връзка с проучването.

Ако имате някакви въпроси относно тези права или характера на проучването, можете да ги обсъдите с лице, провеждащо изследването на тел. **+359 885 727 063** /д-р Илия Ат. Мангъргов/

ИНФОРМИРАНО СЪГЛАСИЕ

Бях изчерпателно информиран(а) и беше възможно да задам всички възникнали въпроси относно настоящото проучване, на които получих задоволителен отговор.

След обмисляне на предоставената ми информация, съм съгласен(на) детето ми да участва доброволно в настоящото проучване.

2. Приложение 2 – Анкетна карта

Анкетна карта за майката.

Към изследване на антитела срещу коклюш (*Bordetella pertussis*) у родилки и техните новородени в серум.

1. Възраст на майката
2. Местоживеене?
3. Образование:.....
4. Етническа принадлежност:
5. Коя по ред е бременността Ви?
6. Коя гестационна седмица е родено детето Ви?
7. С какво тегло и ръст?гр.....см
8. Пол на детето
9. Колко души има в семейството, в което живеете?
10. Имали ли сте продължителна кашлица през последните 2 години?
ДА НЕ НЕ ЗНАМ
11. Някои от хората, с които живеете, имали ли са продължителна кашлица през последните 2 години?
ДА НЕ НЕ ЗНАМ
12. Редовно ли сте ваксинирана като дете по имунизационния календар на Република България?
ДА НЕ НЕ ЗНАМ
13. Ваксинирали ли сте се за коклюш допълнително по време на бременността или през последните 5 години?
ДА НЕ НЕ ЗНАМ

Благодаря Ви за участието!

Ако имате някакви въпроси относно анкетната карта или характера на проучването, можете да ги обсъдите с лице, провеждащо изследването на тел. +359 885 727 063, д-р Илия Ат. Мангъров.