

Qiushui He ja Alex-Mikael Barkoff

Hinkuuskän laboratorioseuranta: nykytilanne ja tulevaisuuden haasteet

Huolimatta laajoista rokotuksista hinkuuskä on yksi huonoimmin hallituista rokotteilla ehkäistävästä sairaudesta maailmassa. COVID-19-pandemian aikana maailmanlaajuinen ilmaantuvuus väheni voimakkaasti, mikä johtui todennäköisesti pandemiaa rajoittavista toimista, kuten eristystoimista ja maskien käytöstä. Uusia tautiepidemioita on kuitenkin käynnissä monissa maissa. Viime vuosikymmeninä hinkuuskärokotteissa ja rokotusaikatauluissa, taudin epidemiologiassa, kliinisissä ilmenemismuodoissa, laboratoriotestausmenetelmissä ja kiertävissä *Bordetella pertussis* -kannoissa on tapahtunut muutoksia, jotka kaikki vaikuttavat taudin esiintymiseen ja seurantaan.

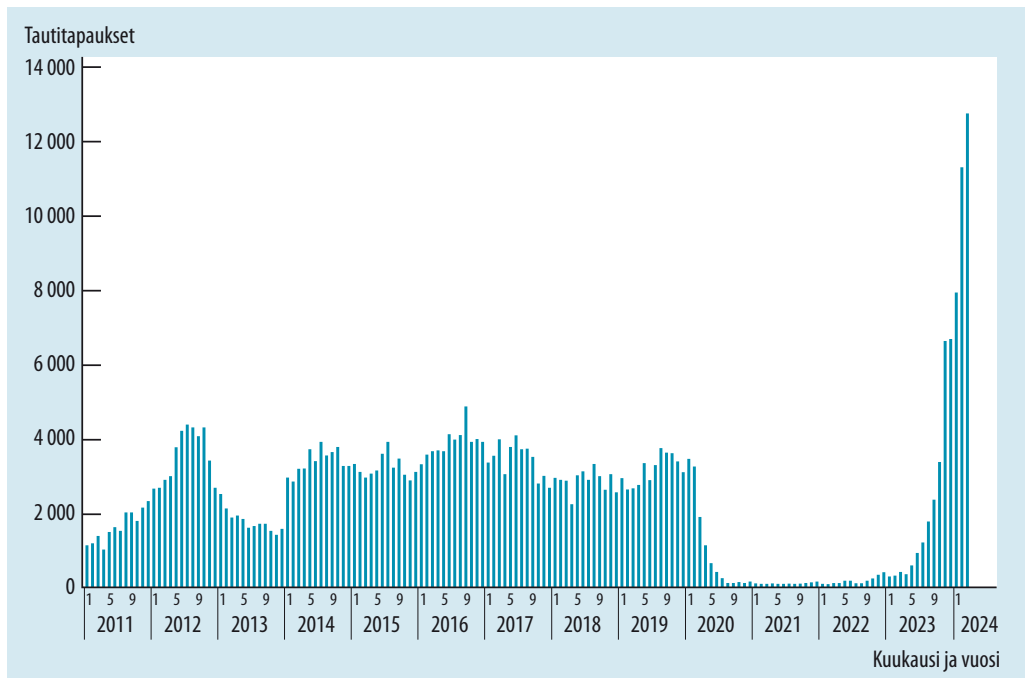
Hinkuuskä on erittäin tarttuva hengitystiesairaus, jonka aiheuttaa *Bordetella pertussis* -bakteeri. Tauti leviää potilaiden yskiessä tai aivastaessa syntyvien pisaroiden kautta. Hinkuuskä on erityisen vakava vastasyntyneille, joilla ei ole rokotteen antamaa suojaa. Taudin maailmanlaajuinen esiintyvyys vähenee ainoastaan aktiivisella rokottamisella. WHO:n mukaan hinkuuskärokotuksen pää tavoitteena on vähentää imeväisten ja pienten lasten vakavan hinkuuskän riskiä (1). Tämän vuoksi imeväisten primaarirokotus koostuu kolmen annoksen perussarjasta. Kaikki lapset tulee rokottaa tautia vastaan. Rokotteiden aikaansaama immuniteetti heikkenee ajan myötä, minkä vuoksi tehosterokotuksia suositellaan lapsille, nuorille ja aikuisille.

Vuodesta 2012 lähtien raskauden aikaisesta hinkuuskärokotuksesta on suositeltu monissa maissa imeväisten suojaamiseksi. Suomessa annetaan perussarja eli annokset kolmen, viiden ja 12 kuukauden iässä sekä tehosteannokset neljän, 14 ja 25 vuoden iässä. Hinkuuskäpaukset lisääntyivät merkittävästi vuoden 2024 aikana, minkä vuoksi THL antoi väliaikaisen suosituksen raskauden aikaisesta hinkuuskärokottamisesta elokuusta 2024 lähtien (2). Laboratoriopohjaisen seurannan tuleviin haasteisiin vastaavat Euroopassa vastikään nimetyt kurkkumätä- ja hinkuuskäreferenssilaboratoriot, joi- ta johtaa Turun yliopisto.

Hinkuuskän epidemiologia ennen COVID-19-pandemiaa ja sen jälkeen

Ennen rokotuksia hinkuuskä oli yksi johtavista lasten kuolleisuuden aiheuttajista. Yhdysvalloissa raportoitiin vuosittain keskimäärin 200 000 tapausta ja 4 000 hinkuuskään liittyvää kuolemaa ennen vuotta 1950 (3). Suurin ilmaantuvuus oli 1–5-vuotiaiden lasten joukossa (3,4). Suomessa hinkuuskä tappoi enemmän ihmisiä kuin isorokko vuosina 1751–1865 (5). Vaikka laajamittaiset rokotukset ovat merkittävästi vähentäneet kuolleisuutta ja sairastuvuutta, tautia on viime aikoina esiintynyt yhä enemmän monissa maissa (6). Vuonna 2014 arvioitiin maailmanlaajuisesti olleen noin 16 miljoonaa hinkuuskätapausta ja noin 195 000 lasten kuolemantapausta (7).

COVID-19-pandemian aikana vähentynyt matkailu sekä rajoitukset ja suositukset, kuten maskien käyttö, vähensivät merkittävästi taudin esiintymistä eri ikäryhmissä. Tilanteen normalisoituessa pandemian jälkeen hinkuuskäepidemioita on raportoitu laajalti, mikä osaltaan johtuu hankinnaisen immuniteetin heikkeneemisestä. Euroopassa raportoitiin yli 25 000 tapausta vuonna 2023 ja yli 32 000 tapausta tammi-maaliskuussa 2024 (**KUVA 1**) (8). Hinkuuskätapausten ikäjakauma vaihteli eri maiden välillä. Seitsemässätoista EU- tai ETA-maassa ilmaantuvuus oli suurinta vauvaikäisillä, kun



KUVA 1. ECDC:lle raportoitujen hinkuuskätapauksen lukumäärä kuukausittain vuodesta 2011 maaliskuun 2024 loppuun (EU/ETA) (8).

taas kuudessa maassa suurin ilmaantuvuus raportoitiin 10–19-vuotiailla nuorilla.

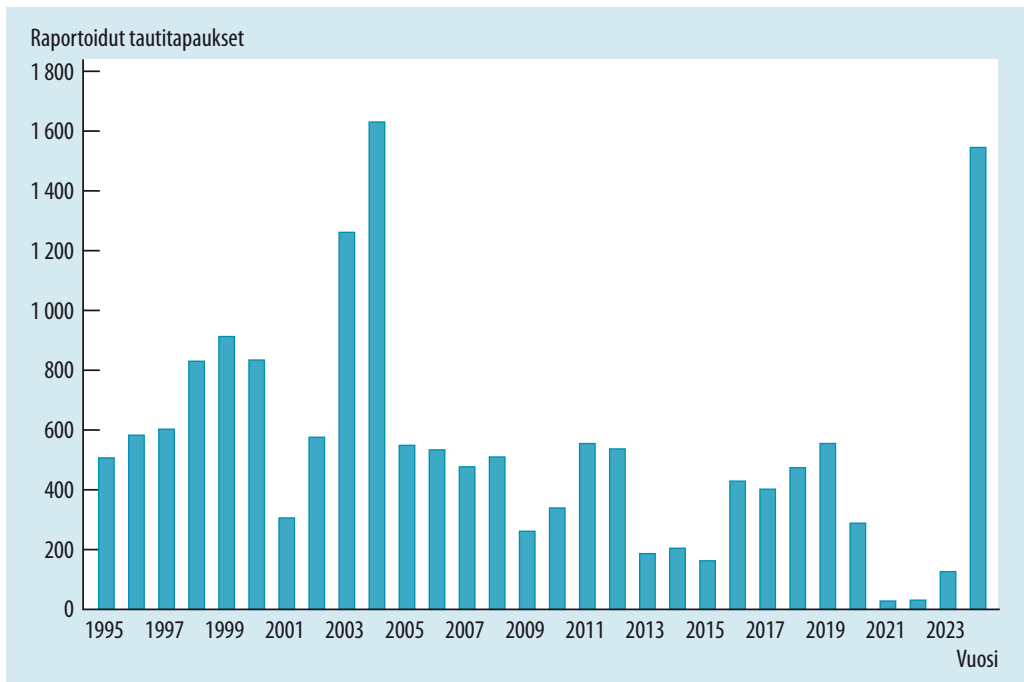
Suomessa hinkuuskätapaukset ovat viimeksi kuluneen vuoden aikana huomattavasti lisääntyneet, ja 12.9.2024 mennessä oli raportoitu 1 546 tapausta eli noin kolme kertaa enemmän kuin pandemiaa edeltäneenä vuonna 2019 (KUVA 2). Verrattaessa ikäjakaumaa pandemiaa edeltäneeseen aikaan (vuoteen 2019) merkittävä lisääntyminen havaittiin 10–14- ja 15–19-vuotiaiden ikäryhmissä. Nämä ryhmät muodostivat yhteensä 44 % kaikista tapauksista (KUVA 3). Olisi tärkeää tutkia, ovatko 10–19-vuotiaat potilaat saaneet tehosterokotukset ajallaan. Hinkuuskätapaukset ovat hieman lisääntyneet myös alle kolmen kuukauden ikäisten joukossa (16 tapausta 12.9.2024 mennessä).

Laboratoriotutkimusmenetelmät

Nykyiset laboratoriotutkimusmenetelmät hinkuuskän diagnosoimiseksi ovat viljely, nukleiinihapon osoitus ja serologia. Nukleiinihapon osoitus on suurelta osin korvannut viljelyn, joka oli aiemmin mittapuuna *B. pertussis* -bakteer-

in havaitsemiseksi. Kun laboratoriovertailussa tutkittiin viljelyn, nukleiinihapon osoituksen ja serologian herkkyyttä 545 positiivisen hinkuuskälöydöksen välillä, nukleiinihapon osoitus oli herkin, mutta testien tulokset vaihtelivat yskän keston mukaan. Kahden ensimmäisen viikon jälkeen viljelyn herkkyys pieneni noin 74 %:sta noin 10 %:iin ja nukleiinihapon osoituksen herkkyys noin 81 %:sta 21 %:iin. Pertussistoksiini (PT) -IgG-vasta-aine ELISA oli herkin diagnostinen testi kahden viikon yskän jälkeen, mutta sen herkkyys oli vain 13–24 % kahden ensimmäisen viikon aikana (9).

Tämä tutkimus vahvistaa, että hinkuuskän serologinen diagnosointi on tehokkainta potilaille, jotka ovat yskineet vähintään 2–3 viikon ajan, kun taas nukleiinihapon osoitusta ja viljelymenetelmää tulisi käyttää ensimmäisten 2–3 viikon aikana oireiden alkamisesta. Serologista diagnostiikkaa ei tulisi käyttää, jos viimeisimmästä rokotuksesta on aikaa alle vuosi (rokotustiedot tulisi ilmoittaa pyydettyessä serologista diagnoosia). Serologia on kuitenkin erittäin hyödyllinen yli kaksivuotiaiden lasten, nuorten ja aikuisten diagnostiikassa.



KUVA 2. Raportoitujen hinkuuskätapausten määrä Suomessa vuosina 1995–2024 (syyskuun 12. päivään 2024 mennessä). Haettu THL:n tartuntatautirekisteristä (<https://www.thl.fi/ttr/gen/rpt/tilastot.html>).

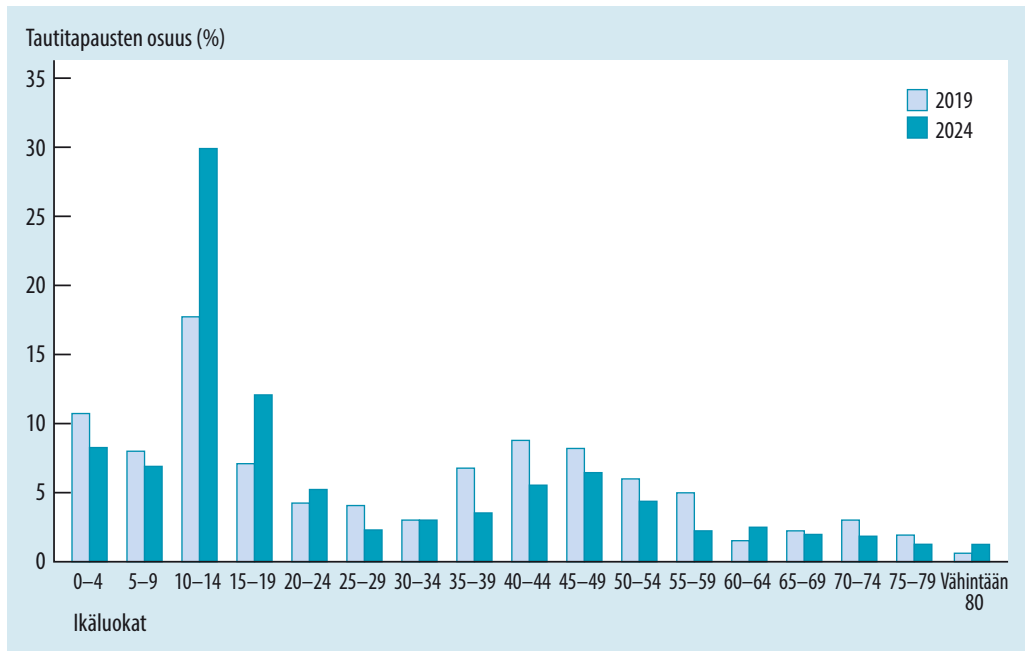
PT-IgG-vasta-ainearvo yli 100 IU/ml kertoo meneillään olevasta infektiosta. Pariseerumeita kannattaa pyytää, jos vasta-ainepitoisuudet ovat selkeästi suurentuneet mutta eivät vielä ylitä raja-arvoja. Tässä vaiheessa bakteeri on jo hyvin todennäköisesti tapettu elimistöstä, mutta tulos on tärkeä taudin jäljityksessä ja uusien lähipiiritapausten diagnosoinnissa. Toistaiseksi ei ole olemassa antigeneitä, joka erottaisi rokotusimmunitetin tauti-immuniteetista. Imeväiset ja pienet lapset tuodaan hoitoon todennäköisemmin hinkuuskän varhaisessa vaiheessa, jolloin nukleiinihapon osoitus ja viljely ovat suositeltavia menetelmiä.

Jos nukleiinihapon osoitusta ei ole saatavilla, viljely on hyödyllinen vaihtoehto. Viljely myös mahdollistaa *B. pertussis* -bakteerikantojen fenotyyppien, genotyyppien ja tarkkojen mikrobilääkeherkkyyksien (E-testi- sekä kiekkoherkkyyksimenetelmä) tutkimuksen. Optimaalinen näyte viljelyyn tai nukleiinihapon osoitukseen on nenänielun aspiraatio tai nenänielun tikkunäyte (10). Yksityiskohtaiset viljely- ja nukleiinihaponosoitusprotokollat kuvataan Euroopan tautikeskuksen (ECDC)

viimeisimmässä teknisessä raportissa (11).

Serologisessa diagnostiikassa tutkitaan PT-vasta-aineet, koska *B. pertussis* on ainoa bakteeri, joka tuottaa PT:tä. Seerumin PT-IgG-vasta-aineet määritetään ELISA- tai multiplex-immuunimäärityksillä (MIA). Ainoastaan puhdistettua natiivia PT:tä suositellaan testiantigeeniksi. Tulokset ilmaistaan kansainvälisinä yksikköinä (IU/ml) käyttämällä kalibroituja standardeja, kuten WHO:n standardihinkuuskäseerumia 06/140 tai 06/142 (NIBSC, Potters Bar, UK) (11,12).

Nykyään on saatavilla kaupallisia diagnostisia testejä, joissa on oikea antigeeni ja oikeat standardit (13). Testisarjat, jotka käyttävät muita kuin PT:tä tai sekoitettuja antigenejä tai jotka ilmaisevat tulokset mielivaltaisina arvoina, eivät ole suositeltavia (11,14). Tulosten tulkinta on ratkaisevaa. Universaalisti hyväksyttyä yhtä viitearvoa ei ole. Yleisesti käytetään viitearvoa 100 IU/ml tai 125 IU/ml osoituksena tuoreesta infektiosta tai tartunnasta viimeksi kuluneen vuoden aikana, ja arvoja 50 – < 100 IU/ml osoituksena tartunnasta muutaman edeltävän vuoden aikana (11,15).



KUVA 3. Ilmoitettujen tapausten osuus ikäryhmittäin Suomessa vuonna 2019 (n = 557) ja vuonna 2024 (1 546 tapausta syyskuun 12. päivään 2024 mennessä) (<https://www.thl.fi/ttr/gen/rpt/tilastot.html>).

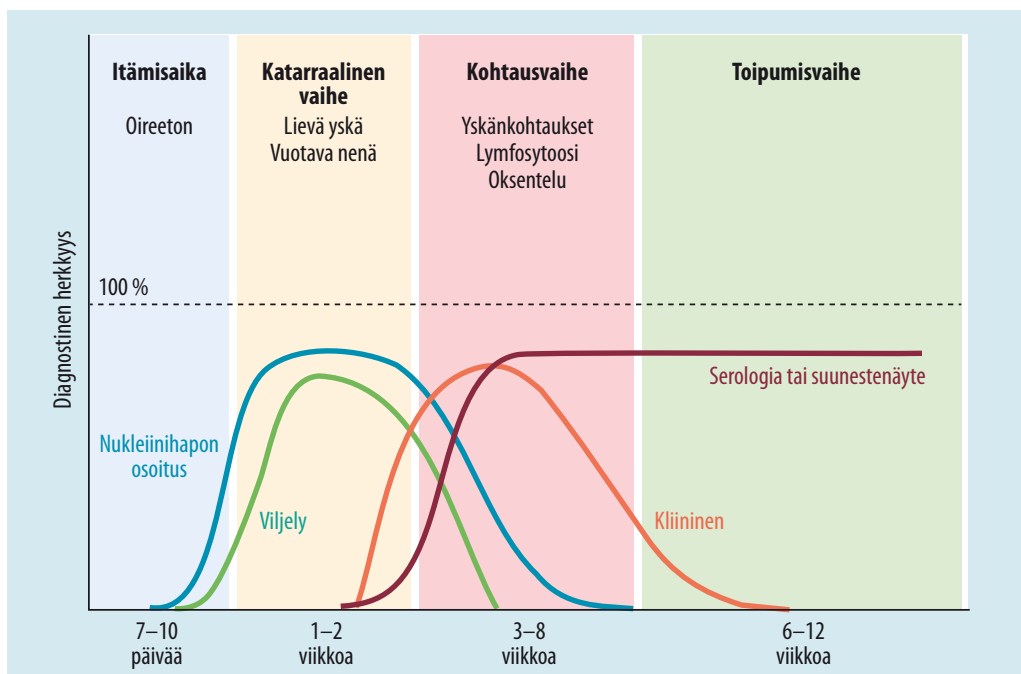
Taudin vaiheet ja oireet sekä diagnostiset menetelmät ja niiden käyttö eri taudin vaiheissa on tiivistetty **KUVAAN 4**. Isossa-Britanniassa käytetään pienten lasten diagnostiikassa PT-IgG-vasta-aineiden tutkimista suun limakalvoilta ja ikenistä kerätystä ”suunesteestä”. Jälkimmäisen näytteen otossa ienrajaa hangataan 1–2 minuuttia näytepuikolla, johon imeytyneet vasta-aineet liuotetaan näytepuikosta, minkä jälkeen niiden pitoisuus voidaan mitata (11,16).

Bordetella pertussis -bakteerin evoluutio

Kiertävien *B. pertussis* -kantojen muuntuminen erilaisiksi kuin rokotteissa käytetyt kannat alkoi kokosolurokotusten aikana. Tällöin geneettisiä muutoksia tapahtui PT:n, pertaktiinin ja fimbriin geenien alleleissa sekä PT-geenin (*ptxP*) promootorissa, joka säätelee bakteerin PT-tuotantoa (17,18). Useita *ptxP*-alleleja on tunnistettu, mutta *ptxP1* ja *ptxP3* ovat vallitsevia. Maailmanlaajuisesti *ptxP3* on suurelta osin korvannut *ptxP1*-alleelin, ja tämän alleelin on osoitettu olevan yhteydessä 1,6 kertaa suurempaan PT:n tuotantoon (19). Tähän mennessä on

tunnistettu 18 pertaktiinin geenialleelia (*prn1–18*). Nämä polymorfismit johtuvat pääasiassa viiden aminohapon GGXXP-toistojaksojen insertioista tai deleetioista (11,19). Euroopassa ja Yhdysvalloissa, joissa molemmissa käytetään pääasiassa soluttomia hinkuyskärokotteita (aP), kiertävät *B. pertussis* -kannat eroavat rokoteantigeenien osalta rokotekannoista (17,20).

Soluttomien rokotteiden käyttöönoton alettua 1990-luvun lopulla on monissa maissa ilmennyt kantoja, jotka eivät tuota pertaktiinia (21–25). Euroopassa analysoitiin 661 *B. pertussis* -kanta, jotka oli kerätty eri maista vuosien 1998–2015 aikana (24). Niiden bakteerikantojen määrä, jotka eivät tuottaneet pertaktiinia (PRN-neg), suureni 1 %:sta 25 %:iin vuosien 1998–2001 ja 2012–2015 välillä. Tutkimuksessa havaittiin, että mitä pidempi aika on kulunut pertaktiinia sisältävien aP-rokotteiden käyttöönotosta, sitä suurempi on kiertävien PRN-neg-kantojen määrä. PRN-neg-kantojen ei ole havaittu aiheuttavan imeväisille tavallisesta poikkeavaa hinkuyskää (26). Lisäksi tutkimukset ovat osoittaneet, että PRN-neg- *B. pertussis* -kannat säilyttävät virulenssinsa myös hiirimalissa (27,28). PRN-neg-kantojen lisäksi myös muita rokoteantigenejä



KUVA 4. Hinkuyskän taudinkuva, diagnostiset menetelmät ja niiden käyttö (11,16).

(esimerkiksi PT, filamenttihemagglutiniini tai fimbria) tuottamattomia kantoja on löydetty, joskin niitä esiintyy harvoin (11).

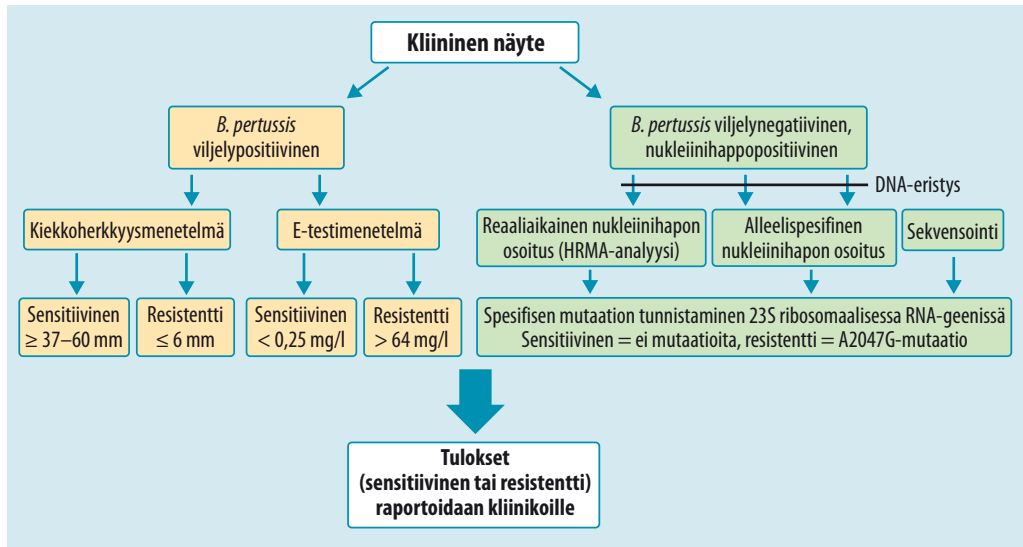
PRN-neg-kannat näyttävät hävinneen Euroopasta COVID-19-pandemian jälkeen. Ranskassa analysoiduista 67 *B. pertussis*-kannasta, jotka oli kerätty tammikuun ja toukokuun 2024 välillä, 66 tuotti pertaktiinia (29). Samanlaisesti tämän muutoksen kanssa on havaittu myös hinkuyskätapausten huomattava lisääntyminen koko Ranskan alueella. Samanlainen ilmiö on havaittu Suomessa ja Belgiassakin (30,31). Havainnot korostavat tarvetta maailmanlaajuiselle tutkimukselle pertaktiinia tuottavien ja PRN-neg-kantojen ja niiden evoluution seuraamiseksi COVID-19-pandemian jälkeen. Etenkin on syytä tutkia, mikä on niiden mahdollinen vaikutus taudin esiintyvyyteen ja rokotusstrategioihin.

Makrolidiresistentit *Bordetella pertussis*-bakteerit ja niiden yleistyminen

Makrolidit (kuten atsitromysiini ja klaritromysiini) ovat ensisijaisia lääkkeitä hinkuyskän

hoitoon. EUCAST ei ole julkaissut hinkuyskää koskevia mikrobilääkeherkkyys suosituksia. Käytetyt raja-arvot perustuvat tehtyihin kliinisiin löydöksiin ja niistä kerättyyn dataan. Ensimmäinen makrolidiresistentti *B. pertussis*-kanta eristettiin kahden kuukauden ikäiseltä imeväiseltä vuonna 1994 Arizonassa Yhdysvalloissa (32). Kyseinen kanta oli erittäin resistentti erytromysiinille MIC (minimum inhibitory concentration) -arvolla alle 64 mg/l. Sen alkuperä jäi kuitenkin tuntemattomaksi.

Tämän jälkeen makrolidiresistenttejä *B. pertussis*-kantoja havaittiin useissa maissa, vaikka löydökset olivatkin harvinaisia. Kiinassa kaksi ensimmäistä makrolidiresistenttiä kantaa eristettiin kahdelta oireettomalta koululaiselta Shandongissa vuonna 2011 (33). Tämän jälkeen makrolidiresistenssi *B. pertussis*-kantojen keskuudessa on lisääntynyt ja ollut eri puolilla Kiinaa 49–100 % (34). Huoli näiden kantojen leviämisestä uusille alueille on noussut esille. Tutkimuksissa Kambodžasta, Japanista, Taiwanista ja Vietnamista on löydetty joitakin makrolidiresistenttejä kantoja, jotka näyttävät olevan yhteydessä Kiinan mantereelta löydettyihin resistentteihin kantoihin (35–37). Resistent-



KUVA 5. Näytteen käsittely makrolidiresistenttien *Bordetella pertussis* -kantojen havaitsemiseksi (34). A2047G-mutaatio voidaan testata myös viljelypositiivisista kliinisistä näytteistä DNA-eristuksen avulla ja noudattamalla *B. pertussis* -viljelynegatiivisten mutta nukleinihapon osoituksen osalta positiivisten näytteiden vuokaaviota. Viitteelliset raja-arvot makrolidien herkkyydelle tai resistenttyydelle perustuvat kliinisiin löydöksiin. HRMA-analyysi perustuu PCR-tuotteiden sulamislämpötilaeroihin.

tiyttä aiheuttava mekanismi on tähän mennessä ollut A2047G-mutaatio 23S rRNA -geenissä. Resistenssi perustuu muutokseen, joka estää makrolidien sitoutumisen ribosomiin. Näin olleen makrolidit eivät pysty häiritsemään proteiinisynteesiä (38).

Makrolidiresistentit *B. pertussis* (MRBP) -kannat ilmaantuivat Ranskaan vuonna 2024 (29). Siellä todettiin neljältä alueelta yhdeksän MRBP-kantaa tammikuun ja elokuun 2024 välillä (39). Kaikki kannat olivat resistenttejä atsitromysiinille ja klaritromysiinille (MIC-arvo yli 256 mg/l). Viisi koko genomin sekvensoinnilla tutkittua kantaa voitiin yhdistää genotyyppien mukaan Kiinasta peräisin oleviin *B. pertussis* -kantoihin. Nämä kuuluivat samaan genotyyppiryhmään kuin makrolideille herkkät kannat, joita oli löydetty Ranskasta ennen vuotta 2019. Neljä viimeistä kantaa puolestaan kuului MT28 MRBP -tyypin kantoihin, jotka ovat lisääntyneet COVID-19-pandemian jälkeen Kiinassa. Huolestuttavasti tutkimusryhmämme löysi äskettäin ensimmäisen MRBP-kannan myös Suomesta (40).

KUVASSA 5 esitetään menetelmiä, joilla voidaan tunnistaa makrolidiresistentit *B. pertussis* -kannat viljely- tai nukleinihaponosoituspo-

sitiivisista näytteistä (34). Tuloksen saaminen vie aikaa, koska ensimmäinen vaihe on oikean bakteerilajin tunnistaminen, josta voidaan jatkaa joko mikrobilääkeherkkyys- tai nukleinihappotesteillä. Vaihtoehtoinen hoitomuoto makrolideille on trimetopriimi-sulfametoksatsoli tai piperasilliini-tatsobaktaami (34,40).

Euroopan kurkkumätä- ja hinkuyskäreferenssilaboratorion toiminta

EU käynnisti ”Call for Application for the Designation of an EU Reference Laboratory for Public Health in the field of Diphtheria and Pertussis (EURL-PH-2023-06)” -haku-kutsun, joka perustui asetukseen 2022/2371 vakavista rajat ylittävistä terveysuhkista. Konsortio, johon kuuluu viisi kumppania neljästä EU:n jäsenvaltiosta (Suomi, Saksa, Belgia ja Ranska), haki ja nimitettiin menestyksekkäästi Euroopan kurkkumätä- ja hinkuyskäreferenssilaboratorioksi (EURL-PH-DIPE). Toimintaa johtaa Turun yliopistossa toimiva Suomen kurkkumätä- ja hinkuyskäreferenssilaboratorio. EURL-PH-DIPE:n päätavoitteena on tukea ECDC:tä sekä kansallisia referenssilaborato-

rioita eri osa-alueilla, joita ovat muun muassa laboratoriokapasiteetin, tautiseurannan ja epidemiatilanteiden hallinnan parantaminen, laboratoriomenetelmien harmonisointi sekä kokonaisvaltaisen asiantuntemuksen ja referenssimateriaalin vaihdon tehostaminen Euroopassa. Projekti toteutetaan tiiviissä yhteistyössä ECDC:n kanssa seuraavien seitsemän vuoden ajan (2025–2031).

Referenssilaboratorion toimintaan sisältyy kolme verkostokokousta, kymmenen laadunvarmistuskierrosta (seitsemän hinkuyskälle ja kolme kurkkumädälle), EU:n ja ETA:n serologinen väestötutkimus PT-, difteriatoksiini- ja tetanustoksiinivasta-aineista, kaksi kurkkumädän diagnostiikkaan ja laboratorioseurantaan liittyvää puuteanalyysia, neljä käytännön laboratoriokoulutusta, 14 koulutusvierailua ja seitsemän tieteellistä seminaaria (verkkokoulutus). Näillä toimilla on suora vaikutus laboriopohjaisen hinkuyskän valvonnan parantamiseen Euroopassa ja suuri kansainvälinen merkitys hinkuyskän hallinnassa ja ehkäisyssä.

Lopuksi

Tehokkaampien kansallisten rokotusohjelmien aikaansaamiseksi hinkuyskän ehkäisyssä on tärkeää käyttää standardoituja diagnosointimenetelmiä, jotka tehostavat tautiseurantaa ja mahdollistavat raportoitujen hinkuyskätapausten vertailun eri maiden välillä Euroopassa. Laadunvarmistustutkimuksia, jotka keskittyvät hinkuyskän diagnosointi- ja seurantamenetel-

QIUSHUI HE, professori, LT, dosentti, kliininen mikrobiologia, lastentautioppi
Biolääketieteen laitos, Turun yliopisto

ALEX-MIKAEL BARKOFF, projektitutkija, FM, kliininen mikrobiologia, lastentautioppi
Biolääketieteen laitos, Turun yliopisto

VASTUUTOIMITTAJA
Seppo Meri

Ydinasiat

- ▶ Hinkuyskä on rokotteella ehkäistävissä oleva tauti, joka aiheuttaa toistuvia epidemioita myös rokotetuissa väestöissä.
- ▶ Nykyiset diagnostiset laboratoriomenetelmät ovat nukleiinihapon osoitus, ELISA-serologia ja viljely, joiden käyttöä tulisi harkita potilaan iän ja oireiden alkamisen mukaan.
- ▶ Makrolidiresistentejä *Bordetella pertussis* -kantoja on havaittu yhä enemmän Euroopassa, joten niiden nopea tunnistaminen on tärkeää.
- ▶ Pitkäaikainen *Bordetella pertussis* -bakteerikantojen seuranta on tärkeää, jotta kansallista rokotusohjelmaa pystytään tarvittaessa muuttamaan.

miin, tulisi tehdä säännöllisesti sekä Euroopassa että kansallisesti. Tärkeää on seurata bakteerikantojen muutoksia ja tutkia niiden vaikutuksia taudin ehkäisyyn ja esiintyvyyteen. Kliinistä työtä tekevien lääkäreiden, varsinkin lastenlääkäreiden, tulisi olla tietoisia MRBP-kantojen lisääntymisestä Euroopassa, ja hinkuyskää diagnosoivien mikrobiologisten laboratorioden tulisi kyetä tunnistamaan nämä kannat ajoissa. *Bordetella pertussis* -makrolidiresistenssistä ja sen aiheuttamista muutoksista hoitosuositukseen on vastikään julkaistu katsaus (34). ■

SIDONNAISUDET

Qiushui He: Apuraha (GSK, Sanofi Pasteur, Moderna, ILIAD Biotechnologies), luottamustoimet (Head of Finnish Reference Laboratory for Diphtheria and Pertussis)

Alex-Mikael Barkoff: Apuraha (Orion, GSK, Sanofi Pasteur, Instrumentarium, Sohlbergin säätiö), luottamustoimet (avustava koordinaattori, Suomen kansallinen hinkuyskän ja kurkkumädän referenssilaboratorio)

KIRJALLISUUTTA

1. Pertussis vaccines: WHO position paper – September 2015. *Wkly Epidemiol Rec* 2015;90:433–58.
2. Heinonen S, Nohynek H, Melin M, ym. Hinkuyskärökötöet raskaana oleville. Työpaperi 40/2024. Helsinki: THL 2024.
3. Annual summary 1979: reported morbidity and mortality in the United States. Center for Disease Control. *Morb Mortal Wkly Rep* 1980;28:12–7.
4. Halperin SA, Bortolussi R, MacLean D, ym. Persistence of pertussis in an immunized population: results of the Nova Scotia enhanced pertussis surveillance program. *J Pediatr* 1989;115:686–93.
5. Kallioinen M. Rutto ja rukous: tartuntataudit esiteollisen ajan Suomessa. Jyväskylä: Atena kustannus Oy 2005.
6. Kline JM, Lewis WD, Smith EA, ym. Pertussis: a reemerging infection. *Am Fam Physician* 2013;88:507–14.
7. Yeung KHT, Duclos P, Nelson EAS, ym. An update of the global burden of pertussis in children younger than 5 years: a modelling study. *Lancet Infect Dis* 2017;17:974–80.
8. Increase of pertussis cases in EU/EEA. Tukholma: ECDC 2024. www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/increase-pertussis-cases-eueea.
9. Lee AD, Cassidy PK, Pawloski LC, ym. Clinical evaluation and validation of laboratory methods for the diagnosis of *Bordetella pertussis* infection: culture, polymerase chain reaction (PCR) and anti-pertussis toxin IgG serology (IgG-PT). *PLoS One* 2018;13:e0195979.
10. Bejuk D, Begovac J, Bace A, ym. Culture of *Bordetella pertussis* from three upper respiratory tract specimens. *Pediatr Infect Dis J* 1995;14:64–65.
11. Laboratory diagnosis and molecular surveillance of *Bordetella pertussis*: recommendations from ECDC. Tukholma: ECDC 2022. www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/bordetella-pertussis-laboratory-diagnosis-and-molecular-surveillance.
12. Markey K, Douglas-Bardsley A, Asokanathan C, ym. Improvement in serological diagnosis of pertussis by external quality assessment. *J Med Microbiol* 2019;68:741–7.
13. Fedele G, Leone P, Bellino S, ym. Diagnostic performance of commercial serological assays measuring *Bordetella pertussis* IgG antibodies. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2018;90:157–62.
14. Xing D, Markey K, Newland P, ym. EUVAC. NET collaborative study: evaluation and standardisation of serology for diagnosis of pertussis. *J Immunol Methods* 2011;372:137–45.
15. Guiso N, Berbers G, Fry NK, ym. What to do and what not to do in serological diagnosis of pertussis: recommendations from EU reference laboratories. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2011;30:307–12.
16. Fry NK, Campbell H, Amirthalingam G. JMM Profile: *Bordetella pertussis* and whooping cough (pertussis): still a significant cause of infant morbidity and mortality, but vaccine-preventable. *J Med Microbiol* 2021;70:001442.
17. van Gent M, Heuvelman CI, van der Heide HG, ym. Analysis of *Bordetella pertussis* clinical isolates circulating in European countries during the period 1998–2012. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2015;34:821–30.
18. Pawloski LC, Queenan AM, Cassidy PK, ym. Prevalence and molecular characterization of pertactin-deficient *Bordetella pertussis* in the United States. *Clin Vaccine Immunol* 2014;21:119–25.
19. Mooi FR, van Loo IH, van Gent M, ym. *Bordetella pertussis* strains with increased toxin production associated with pertussis resurgence. *Emerg Infect Dis* 2009;15:1206–13.
20. Schmidtke AJ, Boney KO, Martin SW, ym. Population diversity among *Bordetella pertussis* isolates, United States, 1935–2009. *Emerg Infect Dis* 2012;18:1248–55.
21. Bouchez V, Brun D, Cantinelli T, ym. First report and detailed characterization of *B. pertussis* isolates not expressing pertussis toxin or pertactin. *Vaccine* 2009;27:6034–41.
22. Lam C, Octavio S, Ricafort L, ym. Rapid increase in pertactin-deficient *Bordetella pertussis* isolates, Australia. *Emerg Infect Dis* 2014;20:626–33.
23. Tsang RSW, Shuel M, Jamieson FB, ym. Pertactin-negative *Bordetella pertussis* strains in Canada: characterization of a dozen isolates based on a survey of 224 samples collected in different parts of the country over the last 20 years. *Int J Infect Dis* 2014;28:65–9.
24. Barkoff AM, Mertsola J, Pierard D, ym. Pertactin-deficient *Bordetella pertussis* isolates: evidence of increased circulation in Europe. *Euro Surveill* 2019;24:1700832.
25. Otsuka N, Han HJ, Toyozumi-Ajisaka H, ym. Prevalence and genetic characterization of pertactin-deficient *Bordetella pertussis* in Japan. *PLoS One* 2012;7:e31985.
26. Bodilis H, Guiso N. Virulence of pertactin-negative *Bordetella pertussis* isolates from infants, France. *Emerg Infect Dis* 2013;19:471–4.
27. Hegerle N, Dore G, Guiso N. Pertactin-deficient *Bordetella pertussis* present a better fitness in mice immunized with an acellular pertussis vaccine. *Vaccine* 2014;32:6597–600.
28. Inatsuka CS, Xu Q, Vuikovc-Cvijin I, ym. Pertactin is required for *Bordetella* species to resist neutrophil-mediated clearance. *Infect Immun* 2010;78:2901–9.
29. Rodrigues C, Bouchez V, Soares A, ym. Resurgence of *Bordetella pertussis*, including one macrolide-resistant isolate, France, 2024. *Euro Surveill* 2024;29:2400459.
30. Barkoff AM, Mertsola J, He Q. Variation in *Bordetella pertussis* isolates before, during and after COVID-19 pandemic in Finland. 24th EUpertstrain meeting, Lontoo 2.–3.10.2024.
31. Martini H, Niinikoski V, Soetens O, ym. Evolution of pertactin expression in Belgian circulating *B. pertussis* strains pre- and post-COVID. 24th EUpertstrain meeting, Lontoo 2.–3.10.2024.
32. Lewis K, Saubolle M, Tenover F, ym. Pertussis caused by an erythromycin-resistant strain of *Bordetella pertussis*. *Pediatr Infect Dis J* 1995;14:388–91.
33. Zhang Q, Li M, Wang L, ym. High-resolution melting analysis for the detection of two erythromycin-resistant *Bordetella pertussis* strains carried by healthy schoolchildren in China. *Clin Microbiol Infect* 2013;19:E260–2.
34. Ivaska L, Barkoff AM, Mertsola J, ym. Macrolide resistance in *Bordetella pertussis*: current situation and future challenges. *Antibiotics* 2022;11:1570.
35. Yamaguchi T, Kawasaki Y, Katsukawa C, ym. The first report of macrolide-resistant *Bordetella pertussis* isolation in Japan. *Jpn J Infect Dis* 2020;73:361–2.
36. Kamachi K, Duong HT, Dang AD, ym. Macrolide-resistant *Bordetella pertussis*, Vietnam, 2016–2017. *Emerg Infect Dis* 2020;26:2511–3.
37. Koide K, Yao S, Chiang CS, ym. Genotyping and macrolide-resistant mutation of *Bordetella pertussis* in East and South-East Asia. *J Glob Antimicrob Resist* 2022;31:263–9.
38. Bartkus J, Juni B, Ehresmann K, ym. Identification of a mutation associated with erythromycin resistance in *Bordetella pertussis*: implications for surveillance of antimicrobial resistance. *J Clin Microbiol* 2003;41:1167–72.
39. Bouchez V, Rodrigues C, Armatys N, ym. Emergence of *B. pertussis* macrolide-resistant isolates in France in 2024: out of China? 24th EUpertstrain meeting, Lontoo 2.–3.10.2024.
40. Miettinen M, Barkoff AM, Nyqvist A, ym. Macrolide-resistant *Bordetella pertussis* strain identified during an ongoing epidemic, Finland, January to October 2024. *Euro Surveill* 2024;29:2400765.