



EDITORIAL

The pertussis problem: classical epidemiology and strain characterization should go hand in hand^{☆,☆☆}



O problema da coqueluche: a caracterização da epidemiologia clássica e da cepa deve ser feita por todos

Frits R. Mooi^{*}, Anne Zeddeman e Marjolein van Gent

Centro de Controle de Doenças Infecciosas, National Institute for Public Health and the Environment, Bilthoven, Países Baixos

Nesta edição do Jornal de Pediatria, Torres et al.¹ apresentam um estudo sobre a incidência, as características clínicas, a mortalidade e a situação de vacinação de pacientes com coqueluche no Estado do Paraná entre 2007 e 2013. Também fornecem dados genotípicos sobre as cepas isoladas de *B. pertussis*. O estudo mostra que os casos de coqueluche no Paraná estão aumentando e que os sintomas mais graves e óbitos ocorrem em crianças com menos de dois meses. A combinação da epidemiologia clássica, que se concentra em incidências, distribuição por idade e características clínicas, com a caracterização da cepa é um aspecto importante desse trabalho, já que somente essa combinação nos permite compreender integralmente as causas do ressurgimento da coqueluche.

Os casos de coqueluche estão aumentando em todo o mundo e, como observam os autores, parte desse aumento deve-se à maior conscientização entre médicos e à melhor detecção por meio da introdução da reação em cadeia da polimerase (PCR). Esses dois fatores resultaram em uma

avaliação mais precisa da carga de doença, que tendia a ser subestimada. O aumento da precisão do diagnóstico de coqueluche levou alguns autores a sugerirem que o ressurgimento da coqueluche é um artefato. Entretanto, o conhecimento atual confirma a suposição de que há um aumento real dos casos de coqueluche, causado principalmente por dois fatores: declínio da imunidade induzida pela vacina e adaptação do patógeno por mutações em seu DNA. Os dois fatores não são independentes, já que a adaptação do patógeno reduz o período em que as vacinas são efetivas e, assim, aumenta a velocidade com que a imunidade protetora diminui (veja abaixo). Assim, o declínio da imunidade e a adaptação do patógeno são dois lados da mesma moeda.² Estudos recentes indicam que a troca de vacinas de células inteiras (WCVs) por vacinas acelulares (ACVs) também contribuiu para o ressurgimento da coqueluche, pois a imunidade induzida por ACVs é de menor duração, em comparação com a imunidade induzida por WCVs.^{3,4} Entretanto, deve-se destacar que o ressurgimento da coqueluche também é observado em países que mantiveram as WCVs, salientando novamente que vários fatores estão envolvidos.^{5,6}

Os patógenos se tornam resistentes não só contra os antibióticos, mas também contra as vacinas. Esse último processo é, contudo, mais sutil, pois a resistência à vacina se acumula em pequenas etapas e, portanto, pode (inicialmente) passar despercebida. Além disso, a resistência à vacina não é absoluta e não implica que o *B. pertussis* seja capaz de causar doenças em um hospedeiro altamente imune. O efeito é mais sutil, de forma que as cepas

DOIs se referem aos artigos:

<http://dx.doi.org/10.1016/j.jpmed.2015.02.001>,

<http://dx.doi.org/10.1016/j.jpmedp.2015.04.005>

[☆] Como citar este artigo: Mooi FR, Zeddeman A, van Gent M. The pertussis problem: classical epidemiology and strain characterization should go hand in hand. J Pediatr (Rio J). 2015;91:315–7.

^{☆☆} Ver artigo de Torres et al. nas páginas 333–8.

^{*} Autor para correspondência.

E-mail: frits.mooi@rivm.nl (F.R. Mooi).

adaptadas conseguem infectar hospedeiros com um nível maior de imunidade (isto é, logo após a vacinação) em comparação com cepas não adaptadas. Obviamente, isso resulta em um aumento nos suscetíveis e, assim, na circulação do patógeno.

Apesar de estudos com ratos terem mostrado que a adaptação de patógenos afeta a eficácia da vacina, é difícil estabelecer esses efeitos em populações humanas, já que exigem estudos de longo prazo com grandes populações. Portanto, é importante analisar a natureza das adaptações genéticas a fim de avaliar se devem afetar a eficácia das vacinas. Em geral, esse é o caso com *B. pertussis*. As primeiras adaptações do *B. pertussis* envolveram mudanças relativamente pequenas nas proteínas de superfície que conhecidamente induzem a imunidade protetora: toxina pertussis (Ptx), pertactina (Prn) e fímbrias.² Posteriormente, foram encontradas alterações na regulação gênica, o que resultou em um aumento na produção de diversos fatores virulentos, incluindo Ptx e proteínas envolvidas na resistência ao complemento.^{7,8} Essas alterações poderão resultar no aumento da supressão e da evasão imunológica. As estirpes que mostram aumento na produção de fatores virulentos pertencem à linhagem chamada P3 (ou *ptxP3*), que recentemente foi difundida no mundo e predomina em muitas populações vacinadas.^{9,10} Aumentos na prevalência de estirpes P3 foram associados ao aumento da notificação nos Países Baixos e na Austrália.^{7,11} Um estudo, com Eletroforese em Gel de Campo Pulsado (PFGE) para tipificar estirpes brasileiras identificou dois perfis encontrados em estirpes P3 que circulam nos EUA^{12,13} e sugeriu que as estirpes P3 também estão presentes no Brasil. De fato, a sequência do genoma de uma estirpe P3 brasileira foi recentemente publicada.¹⁴

A adaptação mais recente do *B. pertussis* envolve a perda da produção de Prn, componente da maioria das ACVs. Estirpes deficientes de Prn predominam em vários países nos quais as ACVs foram usadas por muitos anos.^{15,16} Curiosamente, as estirpes deficientes de Prn não foram observadas na Polônia, que usa uma WCV.¹⁷ Isso sugere que a introdução de ACVs selecionou as estirpes deficientes de Prn e que seu surgimento pode ser impedido pelo uso de vacinas que proporcionem uma ampla imunidade. Seria interessante determinar se as estirpes deficientes de Prn circulam no Brasil.

Como o estudo feito por Torres et al.¹ poderia ser melhorado? Deve-se perceber que sempre haverá restrições locais, como ausência de recursos, equipamentos e experiência. Assim, isso não é uma crítica, mas uma tentativa de estabelecer o cenário ideal. Uma sugestão é usar um método de tipagem que permita comparações internacionais. Ao sequenciar regiões polimórficas nos genes da subunidade Ptx A, do promotor de Ptx (*ptxP*), Prn e Fim3, importantes características das estirpes atuais podem ser determinadas.¹⁸ Obviamente, a estirpe da vacina deve ser incluída para determinar a extensão da divergência quanto às cepas circulantes. A PFGE também é útil para tipificar estirpes, porém exige uma padronização cautelosa e nem sempre revela verdadeiras relações genéticas.¹⁹ A tipagem de polimorfismo de nucleotídeo simples (SNP) tem o poder discriminatório da PFGE, é inequívoca e revela verdadeiras relações genéticas. Recentemente, desenvolvemos um método de tipagem de SNP de alto rendimento e econômico.²⁰

Para resolver o problema da coqueluche, devem-se distinguir as abordagens de curto e de longo prazo. No longo prazo, precisamos desenvolver vacinas contra a coqueluche que induzam maior imunidade. Em curto prazo, a introdução da vacina materna pode reduzir substancialmente a morbidez e mortalidade. Estudos no Reino Unido demonstraram que a vacinação materna é muito eficaz (eficácia estimada da vacina: 90%) e segura para a mãe e o filho.^{21,22} Como muitos estudos demonstraram, incluindo o estudo de Torres et al., a coqueluche mais grave e a mortalidade ocorrem em neonatos menores de 2-3 meses. Caso essa categoria possa ser protegida pela vacinação materna até que a série principal seja iniciada, a parte mais significativa do problema da coqueluche poderá ter sido resolvida. A pergunta a ser respondida é se a carga da coqueluche em adolescentes, adultos e idosos é grave o suficiente para usar recursos limitados a fim de desenvolver melhores vacinas contra a coqueluche.

Conflitos de interesse

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

Referências

1. Torres RS, Santos TZ, Torres RA, Pereira VV, Fávero LA, Filho OR, et al. Resurgence of pertussis at the age of vaccination: clinical, epidemiological, and molecular aspects. *J Pediatr (Rio J)*. 2015;91:333–8.
2. Mooi FR, Van Der Maas NA, De Melker HE. Pertussis resurgence: waning immunity and pathogen adaptation - two sides of the same coin. *Epidemiol Infect*. 2014;142:685–94.
3. Sheridan SL, Ware RS, Grimwood K, Lambert SB. Number and order of whole cell pertussis vaccines in infancy and disease protection. *JAMA*. 2012;308:454–6.
4. Witt MA, Arias L, Katz PH, Truong ET, Witt DJ. 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.
5. Gzyl A, Augustynowicz E, Rabczenko D, Gniadek G, Slusarczyk J. Pertussis in Poland. *Int J Epidemiol*. 2004;33:358–65.
6. Hozbor D, Mooi F, Flores D, Weltman G, Bottero D, Fossati S, et al. Pertussis epidemiology in Argentina: trends over 2004–2007. *J Infect*. 2009;59:225–31.
7. Mooi FR, van Loo IH, van Gent M, He Q, Bart MJ, Heuvelman KJ, et al. *Bordetella pertussis* strains with increased toxin production associated with pertussis resurgence. *Emerg Infect Dis*. 2009;15:1206–13.
8. de Gouw D, Hermans PW, Bootsma HJ, Zomer A, Heuvelman K, Diavatopoulos DA, et al. Differentially expressed genes in *Bordetella pertussis* strains belonging to a lineage which recently spread globally. *PLoS One*. 2014;9:e84523.
9. van Gent M, Bart MJ, van der Heide HG, Heuvelman KJ, Mooi FR. Small mutations in *Bordetella pertussis* are associated with selective sweeps. *PLoS One*. 2012;7:e46407.
10. Bart MJ, Harris SR, Advani A, Arakawa Y, Bottero D, Bouchez V, et al. Global population structure and evolution of *Bordetella pertussis* and their relationship with vaccination. *MBio*. 2014;5:e01074.
11. Octavia S, Sintchenko V, Gilbert GL, Lawrence A, Keil AD, Hogg G, 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;205:1220–4.

12. Leite D, Cassiday PK, Tatti KM, Vaz TM, Tondella ML. Serotypes and genetic profiles of *Bordetella pertussis* strains isolated in the city of São Paulo, 2006-2008. *J Pediatr (Rio J)*. 2012;88:357-60.
13. Bowden KE, Williams MM, Cassiday PK, Milton A, Pawloski L, Harrison M, et al. Molecular epidemiology of the pertussis epidemic in Washington State in 2012. *J Clin Microbiol*. 2014;52:3549-57.
14. Andrade BG, Marin MF, Cambuy DD, Fonseca EL, Souza NF, Vicente AC. Complete genome sequence of a clinical *Bordetella pertussis* isolate from Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2014;109:972-4.
15. Pawloski LC, Queenan AM, Cassiday PK, Lynch AS, Harrison MJ, Shang W, et al. Prevalence and molecular characterization of pertactin-deficient *Bordetella pertussis* in the United States. *Clin Vaccine Immunol*. 2014;21:119-25.
16. Lam C, Octavia S, Ricafort L, Sintchenko V, Gilbert GL, Wood N, et al. Rapid increase in pertactin-deficient *Bordetella pertussis* isolates. *Australia Emerg Infect Dis*. 2014;20:626-33.
17. Zeddeman A, van Gent M, Heuvelman CJ, van der Heide HG, Bart MJ, Advani A, et al. Investigations into the emergence of pertactin-deficient *Bordetella pertussis* isolates in six European countries, 1996 to 2012. *Euro Surveill*. 2014;19, 20881.
18. van Gent M, Bart MJ, van der Heide HG, Heuvelman KJ, Kallonen T, He Q, et al. SNP-based typing: a useful tool to study *Bordetella pertussis* populations. *PLoS One*. 2011;6:e20340.
19. Advani A, Donnelly D, Hallander H. Reference system for characterization of *Bordetella pertussis* pulsed-field gel electrophoresis profiles. *J Clin Microbiol*. 2004;42:2890-7.
20. Zeddeman A, Witteveen S, Bart MJ, van Gent M, van der Heide HG, Heuvelman KJ, et al. Studying *Bordetella pertussis* populations using SNPeX, a simple high throughput SNP typing method. *Clin Microbiol*. 2015 Jan 7. pii: JCM. 02995-14.[Epub ahead of print].
21. Amirthalingam G, Andrews N, Campbell H, Ribeiro S, Kara E, Donegan K, et al. Effectiveness of maternal pertussis vaccination in England: an observational study. *Lancet*. 2014;384:1521-8.
22. Donegan K, King B, Bryan P. Safety of pertussis vaccination in pregnant women in UK: observational study. *BMJ*. 2014;349:g4219.