

**ESCOLA BAHIANA DE MEDICINA E SAÚDE PÚBLICA**  
**CURSO BIOMEDICINA**

**CAROLINE GUIMARÃES DE SOUZA**

**RELAÇÃO ENTRE A VACINA CONTRA COQUELUCHE E A  
DEFICIÊNCIA DE PERTACTINA: EVIDÊNCIA SOBRE UMA  
POSSÍVEL PRESSÃO SELETIVA**

**SALVADOR – BA**  
**2019**

**CAROLINE GUIMARÃES DE SOUZA**

**RELAÇÃO ENTRE A VACINA CONTRA COQUELUCHE E A DEFICIÊNCIA  
DE PERTACTINA: EVIDÊNCIA DE UMA POSSÍVEL PRESSÃO SELETIVA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública, como parte dos requisitos para obtenção do título de Bacharel em Biomedicina.

Orientador: Prof<sup>ª</sup>. Msc. Viviane de Matos Ferreira

**SALVADOR – BA  
2019**

**CAROLINE GUIMARÃES DE SOUZA**

**RELAÇÃO ENTRE A VACINA CONTRA COQUELUCHE E A DEFICIÊNCIA  
DE PERTACTINA: EVIDÊNCIA DE UMA POSSÍVEL PRESSÃO SELETIVA**

Esta monografia foi julgada adequada à obtenção do grau de Bacharel em Biomedicina e aprovada em sua forma final pelo Curso de Biomedicina da Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública.

Salvador – BA, 07 de Novembro de 2019.



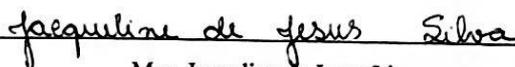
Prof. Msc. Viviane de Matos Ferreira

Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública



Prof. Dra. Suzana Ramos Ferrer

Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública



Msc. Jaqueline de Jesus Lima

Instituto Gonçalo Muniz- Fiocruz

## 1 ARTIGO CIENTÍFICO

### **Relação entre a vacina contra coqueluche e a deficiência de pertactina: evidência de uma possível pressão seletiva**

Autores: Caroline Guimarães de Souza<sup>1</sup>; Viviane de Matos Ferreira<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública. Salvador, Bahia, Brasil. ORCID:0000-0003-3500-870X.carolinesouza14.2@bahiana.edu.br

<sup>2</sup>Autora para correspondência. Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública. Salvador, Bahia, Brsil. ORCID: 0000-0003-3630-923X. vivianeferreira@bahiana.edu.br

## RESUMO

**OBJETIVO:** Avaliar a relação entre o programa de vacinação e a presença da pertactina em cepas invasivas no mundo. **MATERIAIS E MÉTODOS:** Foi conduzido um estudo de revisão sistemática utilizando artigos originais das bases de dados: MEDLINE/Pub-Med, Embase, LILACS e SciELO. Os critérios de exclusão: artigos que abordaram apenas a presença de detecção dos níveis de anticorpos presentes contra a coqueluche, artigos de revisão e que abordavam apenas a eficácia da vacina. **RESULTADOS:** Um total de 1.308 artigos foram identificados sendo selecionados 13 estudos. Entre os treze artigos analisados, três estudos foram realizados na Europa, cinco na América do Norte, dois na Ásia e dois na Oceania. A deficiência da pertactina foi encontrada em sua maioria em cepas que apresentavam o alelo *prn 2* com a inserção do IS 481. **CONCLUSÃO:** A presente revisão sistemática foi projetada para apoiar medidas de prevenção e vigilância epidemiológica com o intuito de auxiliar na formulação de estratégias destinadas a controlar a transmissão da Coqueluche.

**Palavras-chave:** Coqueluche. Pertussis. Pertactina, Vacina

**ABSTRACT**

**OBJECTIVE:** To evaluate the relationship between the vaccination program and the presence of pertactin in invasive strains worldwide. **MATERIALS AND METHODS:** It was conducted by a systematic review study using original articles from the Medline / PubMed, Embase, LILACS and SciELO databases. **Exclusion requirements:** articles that address only the presence of pertussis detection levels, review articles, and vaccine efficacy only. **RESULTS:** A total of 1,308 articles were found, but only 13 studies were selected. Among the thirteen articles analyzed, three studies were conducted in Europe, five in North America, two in Asia and two in Oceania. The pertactin deficiency was mostly found in strains containing the prn 2 or allele with the insertion of IS 481. **CONCLUSION:** This systematic review was designed to support prevention and epidemiological measures to assist in the application of pertussis control and transmission control restrictions.

**Keywords:** Whooping Cough, pertussis, pertactin, vaccine

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>ARTIGO CIENTÍFICO</b> .....	<b>4</b>
<b>2</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>8</b>
<b>3</b>	<b>METODOLOGIA</b> .....	<b>10</b>
<b>4</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	<b>11</b>
<b>5</b>	<b>DISCUSSÃO</b> .....	<b>16</b>
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	<b>18</b>
<b>7</b>	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>19</b>
	<b>FIGURA 1. FLUXOGRAMA DA SELEÇÃO DOS ESTUDOS</b> .....	<b>22</b>
	<i>Tabela 1. Características dos estudos.</i> .....	<i>23</i>
	<i>Tabela 2. Ano de introdução da vacina acelular nos países da Europa</i> .....	<i>24</i>
<b>8</b>	<b>PROPOSTA DE SUBMISSÃO</b> .....	<b>25</b>
8.1	REVISTA: REVISTA DE ENFERMAGEM CONTEMPORÂNEA .....	25
8.2	REGRAS PARA SUBMISSÃO: .....	25

## 2 INTRODUÇÃO

A Coqueluche é uma patologia considerada um grande problema de saúde pública tendo como agente etiológico a *Bordetella pertussis*, uma bactéria Gram negativa aeróbia. É uma doença altamente contagiosa, infectando indivíduos susceptíveis através da exposição de secreções respiratórias contaminadas com a *B.pertussis* (1). Indivíduos de todas as faixas etárias podem ser afetados, entretanto indivíduos com menos de um ano de idade são os mais atingidos, podendo apresentar uma clínica mais grave da doença (2) .

A Organização Mundial da Saúde estima aproximadamente 2,4 milhões de casos da coqueluche com aproximadamente 300 mil óbitos anuais em todo o mundo(3). No Brasil, foi observado um decréscimo da incidência da Coqueluche a partir de 1990, que apresentou uma incidência de 10,6/100.000 habitantes e depois, em 2018 , foi relatado a incidência 1,0/100.000 habitantes (5). Este fato pode estar relacionado a implantação do Programa Nacional de Imunização (PNI) na década de 90 e, também pela implementação da Vacina Tríplice Bacteriana Acelular (DTpa) no calendário nacional de vacinação para gestantes a partir de 2014 (5).

No Brasil, são licenciadas dois tipos de vacina: a DTpa que é uma vacina adsorvida, contendo toxóides diftéricos, tetânicos e componentes proteicos da bactéria *B. pertussis* (pertactina, toxoide pertussis, hemaglutinina filamentosa), com intensidade e frequência de efeitos adversos menor do que os outros tipos de vacina para coqueluche (6). E a vacina Tríplice de Célula Inteira (DTpw) formulada com a estrutura bacteriana completa (6). Entretanto, apesar da boa eficácia, a DTpw proporciona uma alta frequência de efeitos adversos. Comumente, a DTpw é utilizada em indivíduos a partir de sete anos de idade.(6) Apesar da coqueluche ter uma alta cobertura vacinal, a incidência da doença tem aumentado mundialmente, sendo registrados aproximadamente 24,1 milhão de casos por ano. Existem algumas hipóteses propostas para explicar a re-emergência da Coqueluche como: diminuição da imunidade após a vacinação ou infecção, melhorias no diagnóstico da doença e a redução da eficácia da vacina devido a mutações das cepas circulantes de *B. pertussis*. Dentre as hipóteses, a mutação pode ter uma associação direta com a eficácia da vacina. Mutações relacionadas com a deleção/ não expressão da Pertactina (PRN) podem ser uma consequência dessa redução da eficácia, já que a pertactina é um dos fatores de virulência expresso na superfície bacteriana da *B. pertussis* que auxilia na adesão ao epitélio respiratório do hospedeiro e conseqüentemente, invasão bacteriana (2)(7)(8).

Portanto, o presente estudo tem como objetivo descrever a relação entre o programa de vacinação e a presença da pertactina em cepas invasivas de *B. pertussis*.

### 3 METODOLOGIA

#### DESENHO DE ESTUDO

Trata-se de uma revisão sistemática conduzida para identificar a relação da vacinação contra coqueluche e a deficiência da pertactina. A pergunta proposta foi: A vacina contra coqueluche tem relação com a deficiência da pertactina? Este estudo foi realizado segundo as recomendações do Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses – PRISMA(9). Para a realização do estudo, foram consultadas três bases de dados: Medline/PubMed, Literatura Latino-Americano e do Caribe em ciências da Saúde (Lilacs) e Embase, além da base de dados suplementar: Scientific Electronic Library Online (SciELO). Os descritores utilizados para a pesquisa foram *Pertussis*, whooping cough, *Bordetella Pertussis* e pertactin previamente verificados na plataforma Descritores em Ciências da saúde (DeCS) e Medical Subject Headings (MeSH).

Os critérios de inclusão foram artigos originais abordando a presença ou ausência da pertactina, programa vacinal e o estado vacinal dos participantes, sendo excluídos os artigos que abordaram apenas a presença de detecção dos níveis de anticorpos presentes contra a coqueluche, artigos de revisão e que abordavam apenas a eficácia da vacina.

#### ANÁLISE DOS DADOS

Após busca, os artigos foram organizados no programa Excel versão Student 2010 para a identificação de duplicatas. A extração dos dados incluiu informações sobre: ano, país de estudo, critério de confirmação do caso, faixa etária acometida, tipo de estudo, e estado vacinal (número de doses aplicadas) e/ou programa vacinal da localidade.

#### CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

O estudo em questão utilizou dados secundários, disponíveis em plataformas de artigos, as quais são de acesso público, portanto, não se fez necessária a submissão do projeto a um Comitê de Ética em Pesquisa.

## 4 RESULTADOS

A estratégia da pesquisa identificou inicialmente 1.308 registros, dos quais 1.307 registros de bancos de dados e um de uma fonte suplementar. A duplicidade dos registros foram avaliados resultando na exclusão de 637 artigos. Dos 670 registros restantes, 657 artigos foram excluídos devido aos critérios de inclusão e exclusão, resultando em 13 artigos. Desses 13 artigos incluídos, 11 (84,6%) foram identificados no Pubmed/ Medline com duplicidade no Lilacs e 2 (15,4%) no Embase. Entre os treze artigos analisados, três estudos foram realizados na Europa, cinco na América do Norte, dois na Ásia e dois na Oceania.

### Europa

Foram identificados três estudos realizados na Europa, dos quais abrangeram os países: Reino Unido, Holanda, Bélgica, Dinamarca, Finlândia, França, Itália, Noruega, Suécia, Eslovênia e Polônia.(Tabela 1)

O estudo de Barkoff et. al (10) utilizou o teste de ELISA para a detecção de pertactina em cepas isoladas. Os isolados foram coletados de indivíduos <1 ano a 55 anos, não fornecendo o status vacinal de cada indivíduo, informando a vacina utilizada nos países de coleta, (Finlândia, França, Alemanha, Holanda, Suécia, Dinamarca, Polônia, Reino unido, Bélgica e Itália) a vacina acelular (DTpa). Entretanto, os países tiveram a introdução da vacina em anos diferentes, como pode se observar na Tabela 2.

Os isolados foram coletados no período de 1999 a 2015. Na Suécia, em 1999 foi encontrado um único isolado com pertactina negativa. Entretanto, entre 2004 a2005 foram encontradas três cepas com PRN negativa na França ( $n=1$ ), Alemanha ( $n=1$ ) e Holanda ( $n=1$ ), e nenhum isolado deficiente em PRN foi encontrado na Polônia, Suécia, Dinamarca, Finlândia e Reino unido nesse período. No período entre 2007 a2009 foram encontrados nove PRN negativo na França( $n=5$ ), Noruega( $n=3$ ) e Suécia( $n=1$ ). Todavia, houve um aumento de isolados PRN negativa encontrados no último período do estudo de Barkoff et al (10) ( 2012-2015), exibindo 66 isolados PRN negativo identificadas na Suécia( $n=20$ ), Itália( $n=11$ ), Noruega( $n=10$ ), Reino unido( $n=8$ ) e França( $n=5$ ). Dos 66 isolados no período de 2012-2015, 46,9% ( $n=31$ ) tinham a inserção do elemento IS 481. Em outro estudo realizado na Europa (11), foram isoladas cepas na Dinamarca, Finlândia, Holanda, Noruega, Suécia e Reino unido no período de 1996 a 2012. Nesses países a vacina utilizada é a acelular.

Nesse estudo foi utilizado o imunoensaio multiplexado e imunotransferência, método de detecção da expressão da pertactina. No período de 2007 a 2012 os únicos países que disponibilizaram cepas foram a Noruega ( $n=20$ ), onde 25% ( $n=5$ ) eram isolados PRN negativo e a Suécia ( $n=99$ ), onde foi encontrado apenas 4,04% ( $n=4$ ) PRN negativa. As amostras foram coletadas de pacientes ou recebidas de centros de referência. Em 2004-2015 foram isoladas cepas de 15 pacientes da Finlândia( $n=1$ ), Suécia( $n=5$ ), Holanda( $n=4$ ) e Noruega( $n=5$ ), e apenas um tinha um (da Finlândia) histórico de vacinação, o resto era desconhecido. As cepas que apresentaram deficiência em PRN tinham a inserção do elemento IS 481.

Na Eslovênia(12) a vacina acelular foi introduzida no ano de 1999 contendo PRN. Desde 2008 até a data do estudo (2017) o país utiliza vacina ACV (acelular) sem a presença de PRN na sua composição. Para a pesquisa, o método de detecção da PRN foi realizado por meio de sequenciamento de gene.

Neste estudo realizado por Kastrin et. al (12), foram analisados 27 isolados, dos quais 96,2% ( $n=26$ ) continham o alelo *prn 2*. Entre o período de 2006 a 2011, oito isolados não produziram PRN, entretanto, entre o período de 2014 a 2017, de 19 isolados coletados, 17 também não expressaram, dos quais 16 apresentaram inserção do IS 481.

Os indivíduos avaliados no estudo de Kastrin et al.(12) foram classificados nas faixas etárias de 5 a 16 anos( $n=9$ ), de 16 a 78 anos ( $n=16$ ), um indivíduo apresentou dois meses de idade e outros três isolados não tinham informações sobre a faixa etária. Dos 17 indivíduos coletados que apresentaram o resultado negativo para a expressão de pertactina, 15 apresentaram o esquema vacinal completo e dois participantes não forneceram dados vacinais. É importante salientar que alguns indivíduos que forneceram a informação, haviam sido imunizados há mais de dez anos.

### **América do Norte**

Foram identificados seis estudos no continente da América do Norte, os quais cinco foram conduzidos nos EUA e um no Canadá. O estudo de Vodzak et. al (8) foi conduzido entre os estados do EUA entre o período de 2007 a 2014, em indivíduos  $<4$  meses a  $\leq 2$  anos de idade. O *status* vacinal de cada participante do estudo não foi fornecido, entretanto a imunização do país é realizada com a vacina acelular. Os autores identificaram 60 isolados, dentre esses, 68,3% ( $n=41$ ) foram *B. pertussis* deficientes em PRN, sendo 2008 o ano do aparecimento do primeiro isolado.

A maioria dos casos ( $n= 32$ ; 53,3%) ocorreram entre 2011 e 2012. Entretanto, o ano de 2013 não apresentou casos confirmados da doença em laboratório.

Dos 60 isolados, 59 exibiam o alelo *prn 2* e apenas um, encontrado em 2009 apresentava o alelo *prn 1*. Todas as cepas ( $n= 41$ ) que não expressaram a pertactina apresentaram mutações delineadas e com inserção do elemento IS 481. Nesse estudo, para a detecção da expressão da pertactina foram utilizados o Western Blot e o sequenciamento genético.

O estudo de Martin et. al (13) utilizou como método de detecção o ELISA e Western blot em 753 amostras de indivíduos de  $<6$  meses a  $\geq 18$  anos. O *status* vacinal dos indivíduos foi relatado como “vacinados e  $> 1$  ano ( $n=248$ ) e não vacinados e com idade  $>1$  ano ( $n=52$ ). Os outros participantes não apresentaram a informação. Das 753 amostras coletadas, 84,9% ( $n= 640$ ) eram deficientes em pertactina.

No estudo de Theofiles et.al (14) foram utilizados sequenciamento do gene e o PCR para a detecção da pertactina. A faixa etária dos participantes variou de  $<1$  ano a 17 anos de idade. O *status* vacinal de cada participante também não foi informado, mas 76,2% ( $n=160$  casos confirmados de coqueluche) foram considerados atualizados se os participantes tivessem recebido o número de doses corretamente. Foram encontrados 9 isolados que apresentaram o alelo *prn 1* e três apresentaram o *prn2*. Os isolados que apresentaram o alelo *prn 2* também exibiam a inserção do elemento IS 481. O estudo diz que a maioria dos participantes infectados tinham a probabilidade de não ter recebido a vacina de célula inteira.

Bowden et. al (15) utilizou o PCR para a identificação da pertactina. O estudo foi conduzido em participantes de  $<1$  ano a  $\geq 20$  anos de idade. Foram incluídos na análise 4.427 casos classificados como confirmados para a Coqueluche. Os participantes de 3 meses a 10 anos ( $n= 2.020$  casos confirmados; 71,2%) estavam atualizados para a vacina; os de 11 a 12 anos ( $n= 367$  casos confirmados; 74,6%) também estavam atualizados e os de 13 a 19 anos, ( $n=1.038$  casos confirmados; 77%) relataram ter recebido uma dose de reforço da vacina.

No total foram isoladas 240 cepas de *B pertussis*, as quais 183 amostras foram deficientes em PRN. Das cepas deficientes, 20,2% ( $n=37$ ) apresentaram a inserção do elemento IS 481 no gene *prn*.

O quinto estudo avaliado dos EUA, conduzido por Pawloski et.al(16), utilizou Western Blot para a detecção da pertactina. Entretanto, não foi informado a faixa etária dos participantes e o *status* vacinal. Foram avaliados 1.300 isolados, dos quais 23,5% ( $n=306$ ) eram deficientes em pertactina, sendo que 276 apresentavam a inserção do IS 481 e não

expressavam a pertactina, outros exibiam mutações no alelo *prn 2*, como inserção de algum outro stop códon, além disso, dos 1.300 apenas 0,23% ( $n=3$ ) apresentavam o *prn 1*.

No estudo conduzido no Canadá, (17) as cepas de *B. pertussis* foram verificadas por ELISA e Western Blot. No total de 224 bactérias identificadas, 12 eram negativas para a expressão de pertactina e tinha no genótipo o alelo *prn 2*. Desses, 10 apresentaram inserção do IS 481 e em seis isolados essa inserção foi encontrada no alelo *prn 2*.

## Ásia

Os dois estudos(18)(19) encontrados na Ásia foram conduzidos no Japão, o qual utiliza a vacina ACV introduzida no ano de 1981.

O primeiro estudo foi realizado entre o período de 1990 a 2009. Foram coletados 121 isolados de centros de referência laboratorial do país, onde informações como *status* vacinal e faixa etária dos indivíduos coletados não foram fornecidas no estudo. Foi realizado nas 121 amostras imunotransferência com anti-soro anti-*prn1* e desse resultado, 33 isolados apresentaram ausência do *prn* .(18). Também foi realizado o sequenciamento do gene dos 33 isolados onde foram identificados alelos *prn 1* em todas as amostras. Duas mutações independentes que causaram a perda da expressão da pertactina foram identificadas: uma deleção de uma sequência de sinal do *prn 1* e uma inserção IS 481 no *prn 1*.

A mutação da deleção de sequência de sinal no *prn1* foi detectada em 24 isolados e 37,5% ( $n=9$ ) dos isolados apresentaram a inserção do IS 481. As cepas deficientes de pertactina foram encontradas a partir do período de estudo de 1995 a 1999 com 5% ( $n=1/19$ ) e foi aumentando ao longo do tempo, 2000-2004 com 38% ( $n=14/38$ ) e 2005-2009 foram encontrados 32% ( $n=18/57$ ).

O segundo estudo identificado na Ásia foi conduzido por Miyaji et. al(19) que realizou o estudo no período de 2002 a 2012, que abrangeu cepas coletadas durante a epidemia que ocorreu no Japão no ano 2008-2010. As amostras foram coletadas em diferentes regiões do país, não fornecendo informações sobre os pacientes, apenas classificou todos os isolados como casos epidemiologicamente não relacionados de coqueluche.

Ao todo foram coletados 134 isolados, dos quais 33 foram durante a epidemia (2008-2010), 23 em 2002-2004, 39 em 2005-2007 e 39 em 2011-2012. Métodos como sequenciamento baseado em PCR, imunotransferência e ELISA foram realizados para expressão de detecção da pertactina, sendo identificados 4 alelos de *prn*: *prn 1*, *prn 2*, *prn 3* e *prn 9*. A frequência do *prn 2* aumentou ao longo do período do estudo de 2002 a 2012.

As *prn* negativas foram encontradas a partir de 2002-2004 (n= 10; 43,5%), 2005-2007(n= 16; 41%) 2008-2010 (n=8; 21,2%) 2011-2012 (n=10; 25,6%). Todas as cepas *prn* negativa apresentavam o alelo *prn* 1. Todos os isolados que apresentavam o alelo *prn* 2 expressavam a pertactina.

## **Oceania**

Os estudos realizados nesse continente abrangeram somente a Austrália em diferentes estados. Os estudos foram conduzidos por Lam et al (20) e Clarke et al (21).

Lam et.al (20) utilizou Western Blot, genotipagem e sequenciamento de genes para a detecção da pertactina.O estudo foi realizado entre o período de 1997 a 2012, obtendo um total de 453 isolados. Entre 2008 a 2012 obteve-se 320 isolados de *B. pertussis*, os quais 30%(n=96) não expressavam pertactina por Wester blot e 133 isolados foram obtidos antes de 2008( 1997 a 2008) e expressavam a pertactina.Todos os 96 isolados negativos para a expressão de pertactina apresentavam o alelo *prn* 2, exceto um, que apresentava o alelo *prn*1. Não foi fornecido informação sobre o *status* vacinal e faixa etária dos participantes.

O sequenciamento da região do *prn* que foi realizado nos 96 isolados que não expressavam a pertactina, dos quais 77apresentavam elementos IS inseridos em PRN. Apenas um exibiu o IS 481.

Em 2008 a 2012, Clarke et. al(21) conduziu um estudo em crianças menores que 56 dias e menores que 18 anos . As crianças que eram menores que 56 dias foram classificadas como não vacinadas e os outros participantes não apresentavam dados sobre o *status* vacinal. Foram avaliados 199 isolados de crianças infectadas, onde 71 foram classificadas como deficientes em pertactina.

## 5 DISCUSSÃO

Foram encontrados um total de 43 isolados deficientes de pertactina em diferentes regiões da Noruega e da Suécia no período de 2007 a 2015. Se compararmos com os demais países europeus que participaram dos estudos (10)(11), esses dois países foram os que mais apresentaram cepas deficientes em pertactina, porém, eles eram os únicos países que estavam disponíveis durante o período dos dois estudos dos quais foram relatados.

Os resultados mostraram que a inserção do elemento IS 481 tem sido relatada em 69,23% ( $n=9/13$ ) dos estudos que apresentaram a não expressão da pertactina. Na Europa e na América do norte foram encontrados 100% ( $n=3/3$ ) e 50% ( $n=3/6$ ) respectivamente, e na Oceania e na Ásia apenas um de cada continente foi relatado. A inserção do IS 481 encontrado *prn 2* foi relatado por dois estudos na América do Norte, em um isolado no Canadá ( $n=1/6$ ; 16,7%) e um no EUA com 3 isolados detectados. Nos estudos da Ásia que abrangeu o Japão, a inserção do elemento IS 481 estava associado ao alelo *prn 1*. De acordo estudos realizados no Japão e EUA(18)(13), a inserção desse elemento ao alelo tende a não expressar a pertactina.

O mecanismo primário para essa mutação na sequência do gene *prn*, pode ser uma hipótese que reflete adaptações das bactérias às condições de pressão exercida pelos programas de vacinação. Entretanto, a vacina acelular contém em sua composição apenas o alelo *prn1*. Como foi observado, 61,5( $n=8/13$ ) dos resultados não detectaram a presença do alelo *prn1*, apenas do *prn 2*. Qiushui et.al,(22) afirma que cepas infectantes que possuem o alelo *prn 2* não induzem anticorpos contra epítomos antigênicos induzidos por cepas de vacinas sugerindo uma adaptação da bactéria em relação a vacina.

Esse contexto apresentou-se diferente nos estudos realizados no Japão. No Japão são licenciadas duas vacinas que contém pertactina em sua composição e duas que não possuem. (18). Em contraste com os achados dos outros estudos realizados no mundo, as cepas que apresentaram pertactina negativa exibiam o alelo *prn 1*, sugerindo a hipótese de adaptação à vacina ACV que contém o alelo *prn 1*, deixando de expressar a pertactina com mutações nesse alelo, sem realizar a deleção completa, o que pode ter auxiliado no número reduzido de alelo *prn 2*.

O Japão passou por um período epidêmico no ano de 2008-2010 e foi observado que nesse período houve uma redução das cepas pertactina negativa, foram encontradas apenas 21,2% ( $n=33$ ), enquanto que no período seguinte foram encontradas 25,6% ( $n=39$ ) e no anterior 41% ( $n=39$ ). De acordo com o autor,(19) isso indica que as cepas *prn* negativa

não estavam envolvidas na epidemia, o que pode sugerir que a vacina que não contém *prn* utilizada no país pode não causar uma pressão seletiva na bactéria, porém, também pode não ter uma alta eficácia na prevenção da doença.

O estudo da Eslovênia(12), conduzido no período de 2014-2017, revelou cepas deficientes em pertactina em pacientes vacinados, entretanto muitos desses indivíduos haviam sido imunizados há mais de dez anos. O autor complementa que a diminuição da imunidade das vacinas contra coqueluche acelular parece ser um fator significativo que leva ao aumento da incidência. Entretanto, Bouchez et.al (23) questiona a eficácia da vacina acelular em relação a vacina de célula inteira, sugerindo que a mudança da vacina de célula inteira para a acelular pode ter contribuído para a deficiência da expressão da pertactina. Essa hipótese pode ser corroborada pelos resultados encontrados por Barkoff et.al (10) que não identificou cepas deficientes em pertactina durante 2004 a 2005, sendo que até 2015 a vacina de célula inteira era a preconizada na Polônia (10). De acordo com esses estudos e com a observação da incidência, pode-se associar uma maior eficácia da vacina de célula inteira em relação a vacina acelular. Entretanto, mais estudos são necessários para consolidar essa hipótese.

A não expressão da pertactina vem sendo relatada nos anos mais recentes. Estudos como o de Barkoff et.al (10) comparam a relação entre o aparecimento de cepas deficientes em pertactina e a introdução da ACV. Na comparação, os países que introduziram a vacinação primária contra ACV mais cedo obteve uma proporção maior de isolados deficientes em *prn* do que aqueles que introduziram a vacina ACV mais tarde. A Finlândia e a Holanda mudaram para o ACV em 2005, e obtiveram 1 ( $n=28$ ) e 3 ( $n=32$ ) amostras *prn* negativas, respectivamente no período de 2012 a 2015. Porém, a Finlândia usou o primeiro ACV contendo PRN a partir de 2009, o que pode sugerir uma pressão seletiva da bactéria com a vacina acelular.

## 6 CONCLUSÃO

Em conclusão, apesar dos estudos terem relatado uma maior prevalência do alelo *prn 2*, os dados apresentados sugerem uma adaptação da *Bordetella pertussis* em relação a vacina acelular, já que diversos estudos observaram que algumas cepas deixaram de expressar o alelo *prn 1* presente na produção da vacina. Entretanto, também foi observado outro mecanismo de adaptação como o IS 481 em cepas que exibiam o alelo *prn 2*. Existem muitos questionamentos em relação a vacina acelular e a de célula inteira, sendo necessária a vigilância epidemiológica contínua das cepas de *Bordetella pertussis* na comunidade para o auxílio nas informações úteis para apoiar a vacinação apropriada.

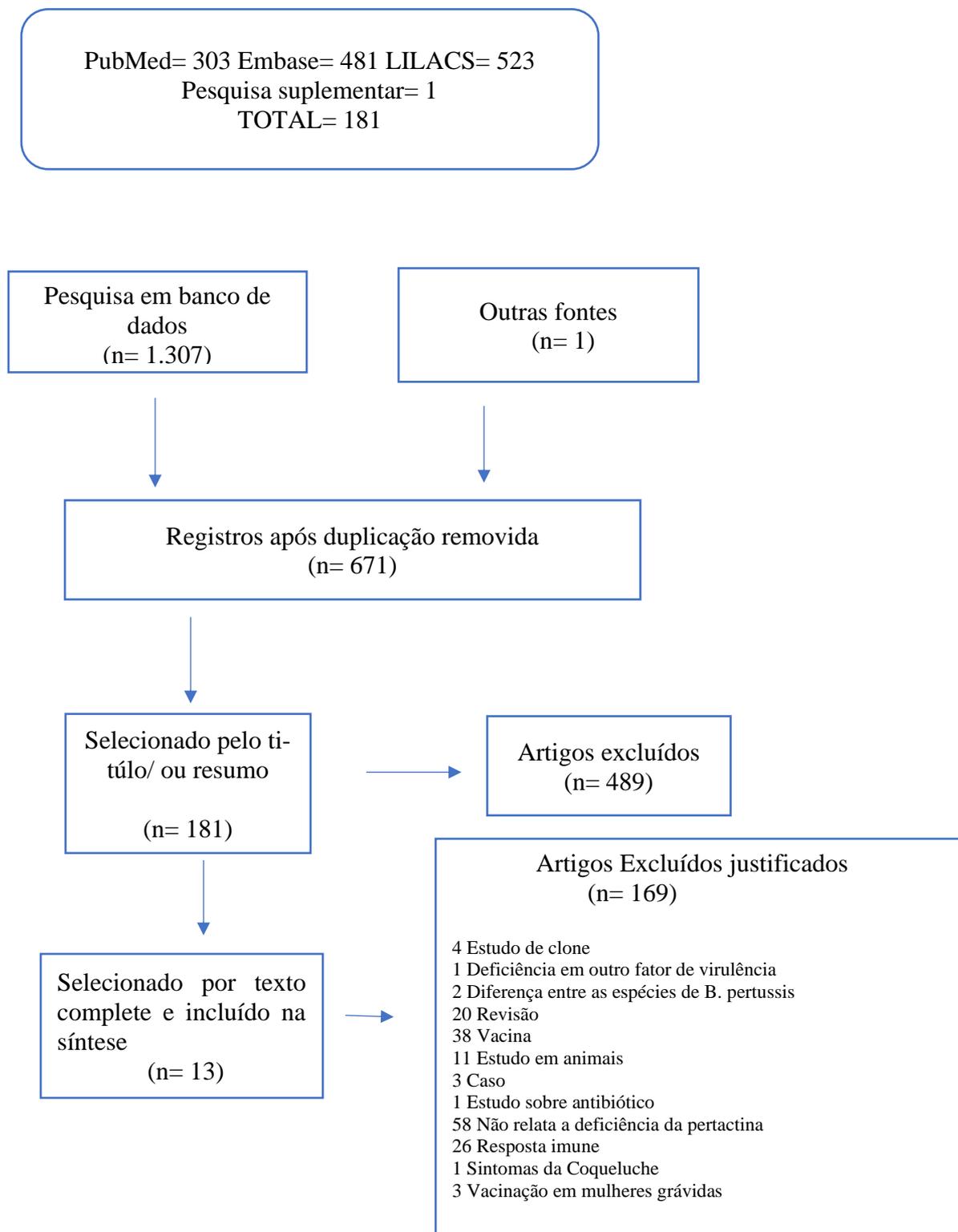
## 7 REFERÊNCIAS

1. Gabutti G, Azzari C, Bonanni P, Prato R, Tozzi AE, Zanetti A, et al. Pertussis. *Hum Vaccin Immunother* [Internet]. 2015 [cited 2019 Apr 13];11(1):108–17. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25483523>
2. Randi BA, Sejas ONE, Miyaji KT, Infante V, Lara AN, Ibrahim KY, et al. A systematic review of adult tetanus-diphtheria-acellular (Tdap) coverage among healthcare workers. *Vaccine* [Internet]. 2019 Feb 14 [cited 2019 May 1];37(8):1030–7. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0264410X19300027?via%3Dihub>
3. World Health Organization (WHO). Pertussis Vaccine-Preventable Diseases [Internet]. 2018 [cited 2019 Mar 8]. 16 p. Available from: [https://www.who.int/immunization/monitoring\\_surveillance/burden/vpd/WHO\\_SurveillanceVaccinePreventable\\_16\\_Pertussis\\_R1.pdf?ua=1](https://www.who.int/immunization/monitoring_surveillance/burden/vpd/WHO_SurveillanceVaccinePreventable_16_Pertussis_R1.pdf?ua=1)
4. Tan T, Trindade E, Skowronski D. Epidemiology of pertussis. *Pediatr Infect Dis J* [Internet]. 2005 May 1 [cited 2019 Apr 13];24(5 Suppl):S10-8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15876918>
5. Brasil. Coqueluche: causas, sintomas, tratamento, diagnóstico e prevenção. Ministério da Saúde-Brasil. 2019 [Internet]. 2019 [cited 2019 Apr 13]; Available from: <http://portalms.saude.gov.br/saude-de-a-z/coqueluche>
6. BALLALAI-, Sociedade Brasileira de Imunizações 2016. Imunização: Tudo o que você sempre quis saber. Soc Bras imunizações [Internet]. 2016 [cited 2019 Aug 30]; Available from: <https://sbim.org.br/images/books/imunizacao-tudo-o-que-voce-sempre-quis-saber.pdf>
7. Torres RSLA, Santos TZ, Torres RAA, Pereira VVG, Fávero LAF, Filho ORM, et al. Resurgence of pertussis at the age of vaccination: clinical, epidemiological, and molecular aspects. *J Pediatr (Rio J)* [Internet]. 2015 Jul [cited 2019 Mar 8];91(4):333–8. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021755715000066>
8. Vodzak J, Queenan AM, Souder E, Evangelista AT, Long SS. Clinical Manifestations and Molecular Characterization of Pertactin-Deficient and Pertactin-Producing *Bordetella pertussis* in Children, Philadelphia 2007–2014. *Clin Infect Dis* [Internet]. 2017 Jan 1 [cited 2019 Aug 28];64(1):60–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27624959>

9. Moher D, Liberati A, Tetzlaff J, Altman DG, PRISMA Group. Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses: The PRISMA Statement. *PLoS Med* [Internet]. 2009 Jul 21 [cited 2019 Mar 4];6(7):e1000097. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19621072>
10. Barkoff AM, Mertsola J, Pierard D, Dalby T, Hoegh SV, Guillot S, et al. Pertactin-deficient *Bordetella pertussis* isolates: Evidence of increased circulation in Europe, 1998 to 2015. *Eurosurveillance*. 2019 Feb 14;24(7).
11. 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. *Eurosurveillance*. 2014 Aug 21;19(33).
12. Kastrin T, Barkoff A-M, Paragi M, Vitek MG, Mertsola J, He Q. High prevalence of currently circulating *Bordetella pertussis* isolates not producing vaccine antigen pertactin in Slovenia. *Clin Microbiol Infect* [Internet]. 2019 Feb [cited 2019 Oct 28];25(2):258–60. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30691616>
13. Martin SW, Pawloski L, Williams M, Weening K, DeBolt C, Qin X, et al. Pertactin-Negative *Bordetella pertussis* Strains: Evidence for a Possible Selective Advantage. *Clin Infect Dis* [Internet]. 2015 Jan 15 [cited 2019 Aug 28];60(2):223–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25301209>
14. Theofiles AG, Cunningham SA, Chia N, Jeraldo PR, Quest DJ, Mandrekar JN, et al. Pertussis outbreak, Southeastern Minnesota, 2012. *Mayo Clin Proc*. 2014 Oct 1;89(10):1378–88.
15. 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 Oct 1;52(10):3549–57.
16. 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 Feb;21(2):119–25.
17. Tsang RSW, Shuel M, Jamieson FB, Drews S, Hoang L, Horsman G, et al. 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 Aug 2;28:65–9.
18. Otsuka N, Han HJ, Toyozumi-Ajisaka H, Nakamura Y, Arakawa Y, Shibayama K, et al. Prevalence and genetic characterization of pertactin-deficient *Bordetella*

- pertussis in Japan. PLoS One. 2012 Feb 14;7(2).
19. Miyaji Y, Otsuka N, Toyozumi-Ajisaka H, Shibayama K, Kamachi K. Genetic Analysis of *Bordetella pertussis* Isolates from the 2008-2010 Pertussis Epidemic in Japan. PLoS One. 2013 Oct 4;8(10).
  20. 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(4):626–33.
  21. Clarke M, McIntyre PB, Blyth CC, Wood N, Octavia S, Sintchenko V, et al. The relationship between *Bordetella pertussis* genotype and clinical severity in Australian children with pertussis. *J Infect* [Internet]. 2016 Feb [cited 2019 Oct 28];72(2):171–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26675318>
  22. He Q, Mäkinen J, Berbers G, Mooi FR, Viljanen MK, Arvilommi H, et al. *Bordetella pertussis* Protein Pertactin Induces Type-Specific Antibodies: One Possible Explanation for the Emergence of Antigenic Variants? . *J Infect Dis*. 2003 Apr 15;187(8):1200–5.
  23. Bouchez V, Brun D, Cantinelli T, Dore G, Njamkepo E, Guiso N. First report and detailed characterization of *B. pertussis* isolates not expressing pertussis toxin or pertactin. *Vaccine*. 2009 Oct 9;27(43):6034–41.

**FIGURA 1. FLUXOGRAMA DA SELEÇÃO DOS ESTUDOS**



**Tabela 1. Características dos estudos.**

<b>Estudo</b>	<b>País</b>	<b>Ano da coleta</b>	<b>População do estudo</b>	<b>Tipo de estudo</b>	<b>Tipo de vacina</b>	<b>Presença da Pertactina</b>
<b>Barkoff et. al</b>	Europa <sup>a</sup>	1998-2015	NI	Longitudinal	Dtpa/Dtpw	Negativa
<b>Vodzak et. Al</b>	EUA	2014	< 4 meses ou $\leq 2$ anos	Transversal	Dtpa	Prn 1 e 2
<b>Pawloski et.al</b>	EUA	2013	< 6 meses a $\geq 18$ anos	Transversal	Dtpa	Negativa
<b>Theofiles et.al</b>	EUA	2012	<1ano a $\geq 17$ anos	Transversal	Dtpa/Dtpw	Prn 1 e 2
<b>Zeddeman et.al</b>	Europa <sup>b</sup>	2012	NI	Longitudinal	Acelular	Prn 1 e 2
<b>Lam et. Al</b>	Austrália	2012	NI	Longitudinal	Dtpa	Prn 2 e negativa
<b>Pawloski et. Al</b>	EUA	2012	NI	Transversal	Dtpa	Prn 2
<b>Otsuka et. al</b>	Japão	2009	NI	Transversal	Dtpa	Prn 1
<b>Tsang et.al</b>	Canadá	2013	NI	Transversal	Dtpa	Prn 2
<b>Bowden et.al</b>	EUA	2013	3 meses a 19 anos	Transversal	Dtpa	Prn 2
<b>Miyaji et.al</b>	Japão	2010	$\leq 15$ anos	Longitudinal	Dtpa	Prn 1,2,3 e 9
<b>Kastrin et.al</b>	Eslovênia	2006-2017	1 a 2 meses 5-17 anos 17 a 78 anos	Transversal	Dtpa	Prn 2
<b>Clarke et.al</b>	Austrália	2008-2012	>18 anos	Transversal	Dtpa	Negativa

Legenda: a= Bélgica, Dinamarca, Finlândia, França, Itália, Holanda, Noruega, Suécia, Polônia e Reino Unido; b= Finlândia, Dinamarca, Holanda, Noruega, Suécia e Reino Unido; DTpa = difteria, tétano e pertussis(quantidade reduzida de antígenos difteria, tétano e pertussis); Dtpw= difteria,tétano e pertussis( formulada com a estrutura bacteriana completa) ; NI= Não informado.

**Tabela 2. Ano de introdução da vacina acelular nos países da Europa**

<b>País</b>	<b>Ano</b>
<b>Suécia</b>	1996
<b>Itália</b>	1995
<b>Noruega</b>	1998
<b>Reino Unido</b>	2004
<b>França</b>	2004
<b>Dinamarca</b>	1997
<b>Bélgica</b>	1997 <sup>c</sup>
<b>Holanda</b>	2005
<b>Finlândia</b>	2005 <sup>d</sup>

Fonte: Adaptado Barkoff et.al,2019

Legenda: c= apenas com PT( Toxina pertussis) pertussis; d= ACV( vacina acelular) com PRN em 2009.

## 8 PROPOSTA DE SUBMISSÃO

### 8.1 REVISTA: REVISTA DE ENFERMAGEM CONTEMPORÂNEA

### 8.2 REGRAS PARA SUBMISSÃO:

Como parte do processo de submissão, os autores são obrigados a verificar a conformidade da submissão em relação a todos os itens listados a seguir. As submissões que não estiverem de acordo com as normas serão devolvidas aos autores.

1. **Formatação:** Utilize fonte tamanho 12pt, com 1,5 de espaçamento entre linhas, em coluna única, tamanho A4. As margens esquerda e direita devem ter 3 centímetros cada uma e as margens superior e inferior devem ter 2 centímetros cada uma. Para citações diretas, utilize fonte tamanho 10pt. Evite citações diretas sempre que possível e empregue o sistema métrico.
2. **Tabelas, figuras, quadros, gráficos, bancos de dados etc:** Questionários, entrevistas, tabelas, figuras, gráficos, quadros e bancos de dados devem ser enviados como arquivos suplementares, devidamente identificados. Tabelas, figuras, quadros e gráficos também devem constar no manuscrito nos seus devidos lugares.
3. **Identificação dos autores:** Qualquer informação que permita aos avaliadores a identificação dos autores deve ser suprimida antes do envio dos arquivos através do Sistema de Editoração Eletrônica. Acesse este [link](#) para aprender a remover dados de identificação ocultos nos arquivos do Microsoft Word.
4. **Extensões de arquivos:** Arquivos de textos devem ser enviados com extensão **.doc**. Tabelas devem ser enviadas com extensão **.xls** ou **.doc**. Os bancos de dados devem ser enviados com extensão **.xls**. Arquivos de imagem, como figuras e gráficos devem ser enviados com extensão **.jpg**, **.png** ou **.tiff** e 300dpi de resolução. Nenhum arquivo deve exceder 4Mb.
5. **Título, resumo e descritores:** O manuscrito deve conter título, resumo e descritores em português e inglês (a versão em inglês desses elementos, embora obrigatória, pode ser enviada após o aceite do artigo com tradução certificada). Adicionalmente, o sistema solicitará a inclusão do título, resumo e descritores

durante a submissão. Esses dados devem ser inseridos conforme solicitado para que o artigo possa ser encaminhado para avaliação. O título deve ser objetivo e conter de 5 a 15 palavras. Os descritores, no mínimo 3 e no máximo 5, devem ser selecionadas no [Medical Subject Headings](#) (MeSH) ou na Biblioteca Virtual em Saúde (BVS).

Os resumos devem ser estruturados e conter no máximo 200 palavras, contendo as seções: Objetivos, Métodos e Materiais, Resultados e Conclusão/Considerações Finais.

6. **Autoria:** Cada manuscrito poderá ter até seis autores, exceto em caso de estudos multicêntricos.

Os seguintes dados referentes a autoria são obrigatórios e devem ser informados nos campos adequados do formulário de submissão: a) nome de todos autores conforme o currículo Lattes, b) [ORCID](#), c) afiliação profissional com departamento e faculdade, d) cidade, estado, país e) e e-mail. Exemplo: *Maria da Silva. Departamento de Ciências da Vida, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Acre. Rio Branco, Acre, Brasil. [mariadasilva@bahiana.edu.br](mailto:mariadasilva@bahiana.edu.br) (ORCID XXXX-0000-XX00-X1X5).*

As contribuições individuais de cada autor devem ser listadas em um documento separado, que deve ser incluído no sistema como arquivo suplementar conforme exemplo: *Oliveira LD participou da concepção, delineamento, busca e análise estatística dos dados da pesquisa, interpretação dos resultados, redação do artigo científico. Schneider J participou da coleta de dados da pesquisa, interpretação dos dados. Winkelmann ER participou da concepção, delineamento, análise estatística dos dados da pesquisa, interpretação dos resultados, redação e encaminhamento do artigo científico.*