

Resumo

Prevalência e caracterização de cepas de *Bordetella pertussis* deficientes em pertactina em um país com vacina de células inteiras contra coqueluche

Daniela Leite; Rosângela Siqueira de Oliveira (orientadora)

Programa de Pós-Graduação em Ciências da Coordenadoria de Controle de Doenças – Secretaria de Estado da Saúde. São Paulo, Brasil – 2019.

RESUMO

Bordetella pertussis é o agente causal da coqueluche, importante problema de saúde pública em todo o mundo, com elevada morbidade e mortalidade em crianças menores de um ano de idade. Dois tipos de vacinas contra coqueluche estão disponíveis: vacinas de célula inteira (wP) baseada em suspensões de *B. pertussis* mortos e vacinas acelulares (aP) baseada em um ou mais antígenos de *B. pertussis* altamente purificados, como a toxina, pertactina e fímbrias. Apesar de essas vacinas estarem disponíveis há mais de 50 anos, ainda hoje se observam ciclos epidêmicos da doença sugerindo que, embora a doença tenha diminuído, a transmissão de *B. pertussis* não está sendo controlada. Sabe-se que a duração da imunidade contra a coqueluche não é permanente e em comparação com a infecção natural, a duração da proteção após a vacinação parece ser menor. A proteção oferecida pelas vacinas aP parece ser menos duradoura que as wP, levantando a hipótese de que a substituição dessas vacinas pelas ap em muitos países, desde a década de 90, possa ter influenciado a reemergência da coqueluche. Diversos países relataram divergência antigênica das cepas circulantes em relação às cepas vacinais e enquanto as evoluções genéticas mais observáveis na era da vacina wP foram as variações alélicas e antigênicas, a aparição de cepas de *B. pertussis* deficientes em pertactina foi um fenômeno associado a introdução das vacinas acelulares. O objetivo do estudo foi verificar a ocorrência de deficiência

de pertactina em 555 isolados de *B. pertussis* coletados no Brasil durante 2010-2016. Todos os 555 isolados foram caracterizados por PFGE e sorotipagem para determinar a distribuição dos perfis circulantes. O ensaio de ELISA foi realizado para triar os isolados de *B. pertussis* que não produzem pertactina. Todos os isolados identificados como deficientes em pertactina foram confirmados por PCR e immunoblotting e possíveis alvos genéticos para a deficiência foram determinadas pelo sequenciamento por Sanger. O sorotipo predominante, Fim3, vem sendo gradativamente substituído por Fim2 e Fim2,3, perfazendo 75% dos isolados em 2016. A tipagem por PFGE apresentou 110 perfis distintos, com seis perfis representando a maioria dos isolados testados. A triagem por ELISA identificou oito isolados deficientes em pertactina, mas apenas três foram confirmados por immunoblotting. A PCR indicou que um isolado tinha uma mutação na região promotora do gene *prn*, enquanto os outros dois não apresentaram uma explicação genética óbvia para a sua deficiência. O sequenciamento revelou que os oito isolados carregavam o alelo *prn2*, o tipo mais prevalente em isolados recentes. Embora a deficiência de pertactina tenha sido identificada em alguns isolados, este estudo não detectou uma ocorrência relevante de deficiência de pertactina, confirmando observações prévias de que essa deficiência é provavelmente impulsionada pelas vacinas acelulares.

Palavras chave: *Bordetella pertussis*, coqueluche, pertactina, vacinação, sorotipagem, tipagem molecular.

Prevalence and characterization of pertactin-deficient *Bordetella pertussis* strains in a country with whole-cell pertussis vaccine

Daniela Leite; Rosângela Siqueira de Oliveira (orientadora)

Programa de Pós-Graduação em Ciências da Coordenadoria de Controle de Doenças – Secretaria de Estado da Saúde. São Paulo, Brasil – 2019.

ABSTRACT

Bordetella pertussis is the causative agent of pertussis, an important public health concern worldwide, with high morbidity and mortality in infants. Two types of pertussis vaccines are available: whole-cell (wP) vaccines based on killed *B. pertussis* organisms, and acellular (aP) vaccines based on one or more highly purified individual pertussis antigens like pertussis toxin, pertactin and fimbriae. Despite the availability of these safe and effective vaccines for more 50 years old, there are still epidemic cycles of the disease suggesting that although disease was decreased, transmission of *B. pertussis* is not being controlled. It is known that the duration of immunity against pertussis is not permanent and compared to a natural infection, the duration of protection after vaccination appears to be shorter. The protection provided by aP is less enduring raising the possibility that the switch from wP vaccines to aP vaccines in many countries since the 1990s may have aggravated the pertussis resurgence. Several countries reported antigenic divergence between circulating strains and vaccine strains and while the most observable genetic evolutions in the wP vaccine were allelic and antigenic variations, the emergence of pertactin deficient strains was a phenomenon associated with the introduction of acellular vaccines. The aim of this study was to determine the occurrence of pertactin deficiency in 555 isolates of

B. pertussis collected in Brazil during 2010-2016. All isolates were characterized by PFGE and serotyping to determine the distribution of circulating profiles. ELISA screening was done to detect pertussis isolates not producing pertactin. All pertactin deficient isolates identified were confirmed by immunoblotting and PCR, and possible genetic sources for the deficiency were determined by Sanger sequencing. The predominant serotype, Fim3, has been gradually replaced by Fim2 and Fim2,3, making up 75% of the isolates in 2016. PFGE typing showed 110 profiles, with six profiles representing most of the isolates tested. ELISA screening identified eight pertactin deficient isolates, but only three were confirmed by immunoblotting. PCR indicated that one isolate had a promoter mutation in *prn*, while the other two did not have an obvious genetic explanation for their deficiency. Sequencing revealed that the eight strains carried the *prn2* allele, the most prevalent type in modern isolates. While pertactin deficiency was identified in a few isolates, this study did not detect a relevant occurrence of pertactin deficiency, confirming previous observations that pertactin deficiency is likely aP driven.

KEYWORDS: *Bordetella pertussis*, whooping cough, pertactin, vaccination, serotyping, molecular typing.