

Diagnóstico laboratorial da coqueluche: freqüência do isolamento de *Bordetella pertussis* de amostras clínicas, por meio da técnica de cultura realizada nos laboratórios regionais do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, Brasil.

Pertussis diagnosis: frequency of *Bordetella pertussis* detection from clinical samples by the culture method performed at regional laboratories of the Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, Brazil.

RIALA6/1128

Rosana B. de OLIVEIRA e SILVA¹, Eneida G. LEMES-MARQUES^{2*}, Marta I. C. MEDEIROS³, Ivete A. Z. C. de ALMEIDA⁴, Maria Regina N. R. ESPER⁵, Maricene GARBELOTTI⁶, Maria LOPES⁷, Salet F. PORTO⁸, Regina R. F. e SILVA⁹, Beatriz P. PREGNOLATTO¹⁰, Jane P. dos SANTOS¹¹, Ângela Maria G. DIAS¹².

*Endereço para correspondência: ²Instituto Adolfo Lutz, Laboratório Regional de Campinas, Setor de Bacteriologia, Rua São Carlos 720 CEP 13035-420, Campinas/ SP, Brasil. Tel.: (19) 3272-7977; fax: (19) 3273-1698; e-mail: eglmarques@ial.sp.gov.br

¹Instituto Adolfo Lutz, Laboratório Regional de Rio Claro; ³Laboratório Regional de Ribeirão Preto;

⁴Laboratório Regional de São José do Rio Preto; ⁵Laboratório Regional de Presidente Prudente;

⁶Laboratório Regional de Bauru; ⁷Laboratório Regional de Taubaté; ⁸Laboratório Regional de Marília;

⁹Laboratório Regional de Santo André; ¹⁰Laboratório Regional de Santos;

¹¹Laboratório I de Araçatuba, DRS-6; ¹²Laboratório Regional de Sorocaba.

Recebido: 09/05/2007 – Aceito para publicação: 16/08/2007

RESUMO

A coqueluche é uma doença respiratória infecciosa aguda, causada por *Bordetella pertussis*, cocobacilos Gram-negativos fastidiosos com requisitos nutricionais complexos. Recentemente foi descrito em vários países o aumento do número de casos da doença - com o acometimento de populações vacinadas - e da sua incidência em adolescentes e adultos. No Brasil, a coqueluche só se tornou doença de notificação compulsória a partir de 2001. O presente trabalho avaliou o índice de positividade no diagnóstico da coqueluche por meio da técnica de cultura de secreção de nasofaringe, realizada segundo Regan e Lowe, 1997, e também a sua freqüência em diferentes faixas etárias, nas regiões de abrangência dos Laboratórios Regionais do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP, no período de 2001 a 2005. Os resultados mostraram aumento no número de amostras positivas a partir de 2004, o que pode ter ocorrido em função da maior conscientização dos profissionais envolvidos na investigação e notificação da doença. O maior número de amostras positivas deu-se na faixa etária de 0 a 6 meses (65,0%), com predomínio da faixa de 1 a 3 meses. A taxa de positividade em adolescentes e adultos foi de 19,4%. Os dados obtidos são relevantes para a melhoria do diagnóstico da coqueluche na região estudada e indicam a necessidade de informações adicionais para dar suporte às estratégias de prevenção e prover um melhor entendimento da doença no país.

Palavras-chaves. *Bordetella pertussis*, coqueluche, epidemiologia, diagnóstico laboratorial.

ABSTRACT

Pertussis or whooping cough is an acute respiratory infectious disease caused by *Bordetella pertussis*, a small Gram-negative coccobacillus which has complex nutritional requirements. Several countries have recently reported an increase in pertussis in immunized populations, accompanied by a significant increase among adolescents and adults. In Brazil, pertussis had its epidemiological surveillance established only in 2001. This study evaluated the indices of positivity on culture method performed according to Regan & Lowe, 1997, for pertussis diagnosis in the regions enclosed by the regional laboratories of the Instituto

Adolfo Lutz - São Paulo state, Brazil, from 2001 to 2005. An increase in the number of positive samples was observed since 2004, which could be due to a better identification of the disease by health workers involved on its investigation, diagnosis, and notification. According to these results, the young infants presented the highest positivity rate (age 0-6 months, 65.0%). The older age groups (adolescents and adults) showed 19.4% of positivity. These data are relevant for monitoring pertussis diagnosis and for conducting epidemiological studies in the studied regions, and also to provide support to prevention programs.

Key words. *Bordetella pertussis*, epidemiology, whooping cough, pertussis, laboratory diagnosis.

INTRODUÇÃO

A coqueluche é uma doença respiratória aguda, infecciosa, causada por *Bordetella pertussis*, cocobacilos ou bacilos curtos Gram-negativos, aeróbios estritos, metabolicamente inativos, com crescimento ótimo em temperatura que varia entre 35° e 37° C¹. *B. pertussis* produz múltiplos produtos antigênicos e biologicamente ativos que são responsáveis pelas características clínicas da coqueluche. O período de incubação é comumente de 7 a 10 dias, podendo variar de 4 a 21 dias. A doença pode ser dividida em três fases, a primeira, chamada fase catarral (período de maior infectividade), onde ocorre a infecção ou colonização da bactéria no revestimento epitelial respiratório, e que está presente nas crianças e em 6% dos adultos. Tem quadro típico de tosse seca, especialmente noturna, que evolui em uma a duas semanas para a segunda fase, quando ocorre a doença propriamente dita - fase paroxística - com tosse constante e repetitiva, concluindo cada episódio com um estridor respiratório característico, seguido por vômitos. Por fim, a fase de convalescença, com diminuição em frequência e intensidade da tosse e dos vômitos. O único reservatório de *B. pertussis* conhecido é o homem e a transmissão se dá por contato direto com os indivíduos sintomáticos, através das secreções do trato respiratório e, raramente, por contato indireto com fômites. A doença é altamente contagiosa, e apresenta significativa morbidade, particularmente em crianças^{2,3}. Crianças menores de um ano que ainda não completaram o esquema básico de imunização, e adolescentes/adultos compreendem hospedeiros suscetíveis de importância para a doença, com sintomas brandos e atípicos. A imunidade que se segue à infecção parece não ser permanente. A coqueluche não confere imunidade transplacentária e a lactação materna também não protege contra a doença⁴. A antibioticoterapia de escolha são os macrolídeos que eliminam a presença da bactéria nas secreções, o que diminui os riscos de contaminação. É preconizada para todas as pessoas próximas do doente, qualquer que seja sua idade ou seu estado de imunização⁵. A letalidade se deve em geral à pneumonia e, nas crianças menores, à encefalopatia hipóxica. A OMS estima que nos países em desenvolvimento esta letalidade seja de 1% e nos países desenvolvidos de 0,04%⁶. A principal dificuldade na vigilância dessa doença está na confirmação etiológica, pois outras doenças respiratórias agudas, virais ou bacterianas podem provocar a “síndrome

pertussis” ou “doenças coqueluchóides”, podendo então ser confundidas e classificadas como coqueluche⁴.

A imunização tem reduzido a prevalência de *B. pertussis* em muitos países, no entanto, a vacina não confere imunidade completa e permanente, caindo gradualmente com o passar do tempo, não havendo nenhuma proteção evidente após 12 anos⁴. Desta forma, a circulação da bactéria permanece mesmo em países com elevada cobertura vacinal, acometendo crianças não imunizadas (menores de seis meses), adolescentes e adultos que já perderam a imunidade conferida por meio de vacinação prévia ou infecção natural^{7,8,9,10}.

Nos anos 80, um aumento no número de casos de coqueluche - com o acometimento de populações vacinadas - e da incidência da doença em adolescentes e adultos foi descrito por vários países como os EUA, Canadá, Reino Unido, França, Finlândia, Alemanha, Suécia, Espanha, Holanda, Rússia, Austrália e Japão^{11,12,13,14,15,16}. As razões para este aumento não estão completamente esclarecidas e, além da perda progressiva da imunidade induzida pelas vacinas, entre as possíveis hipóteses surgidas para explicar o aparente ressurgimento da doença, incluem-se:

- Possíveis mudanças genéticas em *B. pertussis*, tornando as vacinas menos efetivas;
- Vacinas com potência diminuída;
- Melhor conhecimento da bactéria;
- Disponibilidade de melhores testes diagnósticos;
- Maior reconhecimento pelos médicos da tosse convulsiva em adolescentes e adultos;
- Melhorias dos sistemas de vigilância epidemiológica, com uma maior capacidade de detecção de casos e conseqüente aumento nas notificações (pseudo-epidemia por aumento de diagnóstico e notificações)^{3,6,9,10,17,18,19}.

Como resposta a este aumento, vários países introduziram o uso da vacina acelular para coqueluche em adolescentes e adultos²⁰. A vacina celular aplicada em crianças pequenas tornou-se contra-indicada em crianças maiores de 7 anos e adultos pelas graves e freqüentes reações adversas observadas. As vacinas acelulares demonstraram ser significativamente menos reatogênicas em lactentes, o que estimulou a idéia de testá-las também em adultos e adolescentes. No entanto, até onde se sabe, a resposta sorológica às vacinas acelulares se esvai em poucos anos e se ignora o que se sucede com a imunidade celular. Além disso, se desconhece se há algum impacto benéfico da vacina acelular no transporte faríngeo

transitório de *B. pertussis*. Se não houver nenhum, a circulação da bactéria continuará tanto entre vacinados como não vacinados. Estes fatores necessitam ser conhecidos, pois são primordiais para se poder adaptar ao futuro as estratégias vacinais adequadas^{8,18}.

No Brasil, a vacinação sistemática das crianças foi iniciada em 1983, aproximadamente trinta anos após o início da vacinação nos países de economia central. A partir desta data o número de casos notificados caiu abruptamente, mantendo desde então uma tendência decrescente. Com base nos dados de notificação compulsória, não existem ainda sinais de reemergência da coqueluche no país¹⁰. No entanto, com o uso da vacina que não permite reforços acima dos 7 anos, também no Brasil adolescentes e adultos que perderam a imunidade e crianças menores de um ano, que ainda não completaram o esquema básico passam a ser dois reservatórios de suscetíveis com grande importância para o controle da doença⁴. Embora muitos países já tenham abolido a utilização da vacina DTPw, o Brasil ainda a utiliza⁹.

O diagnóstico precoce da coqueluche e o tratamento dos casos com antibióticos podem diminuir a severidade dos sintomas e limitar o período de transmissão. Nos casos em que a suspeita clínica para a doença é baixa (caso esporádico, sem vínculo epidemiológico com um caso confirmado, ausência de paroxismo, etc.), o diagnóstico laboratorial é necessário antes do início do tratamento, da investigação e intervenção³. Este diagnóstico pode ser realizado por exames imunológicos, moleculares e microbiológicos, sendo o isolamento de *B. pertussis* a partir de cultura de secreção nasofaríngea em ágar carvão (ágar Regan-Lowe) a técnica recomendada para o diagnóstico da coqueluche, devido à sua elevada especificidade²¹. Tem valor especial em surtos e epidemias, quando o diagnóstico é mais precoce, visto que a maior positividade (80 a 90%) nesta técnica se dá na fase inicial da doença (primeira semana) e antes da introdução da antibioticoterapia^{3,4}. Entretanto, exigentes requisitos de crescimento tornam *B. pertussis* difícil de cultivar. O cultivo requer a neutralização de produtos tóxicos emanados de seu metabolismo e seu crescimento é lento, mais lento que o da flora microbiana acompanhante. Daí o emprego de meios com carvão (que é absorvente) para este cultivo, adicionados de antimicrobianos. Além destes fatores, há outros que dificultam o isolamento do microrganismo, como o início da antibioticoterapia antes da coleta da amostra (até 4 dias após o uso de macrólidos ainda se pode detectar *B. pertussis* em 56% dos pacientes, com 7 dias a cultura se negativa completamente) e a demora nesta coleta (após as primeiras 2 semanas do início da doença); o tipo de “swab” utilizado; as condições de coleta e transporte e o tempo decorrido entre a coleta e a semeadura^{2,18,22,23}. Sob condições ótimas, 80% dos casos suspeitos podem ser confirmados pela cultura. A caracterização de *B. pertussis* é importante também para se entender a dinâmica da doença, determinar se há relação entre os isolados e a sua sensibilidade aos antibióticos e também prover informações

relacionadas à composição apropriada da vacina a ser usada em cada região^{19,24}.

A reação de PCR (“polymerase chain reaction”) é um método rápido, sensível e específico para o diagnóstico da coqueluche. Tem maior sensibilidade que a cultura e continua positiva mesmo com o uso de antimicrobianos, desde 89% até 4 dias até 56% aos 7 dias. Entretanto, resultados falso-positivos podem acontecer por contaminação no laboratório ou durante a coleta da amostra, ou ainda, dependendo da especificidade do segmento amplificado, por similitude genética com outras bordetelas¹⁸. Além disso, sua performance diminui ao longo da evolução da doença²⁵ e, embora seja um método já disponível em alguns laboratórios, a técnica utilizada varia entre eles por não haver ainda uma padronização. Desta forma, a PCR pode ser realizada desde que se acompanhe da cultura, não devendo substituí-la^{2,6,18,26,27}.

A vigilância epidemiológica da coqueluche no Brasil foi implantada no final do ano 2000, passando a ser considerada doença de notificação compulsória em 2001²⁸. Nesse mesmo ano houve a implantação de um sistema de vigilância para a coqueluche no Estado de São Paulo e o Instituto Adolfo Lutz (IAL) com suas unidades, central e regionais, é parte integrante do sistema, realizando o diagnóstico pela cultura da secreção de nasofaringe, método preconizado pelo Ministério da Saúde do Brasil²⁹. Até então, os dados disponíveis eram decorrentes do diagnóstico clínico e/ou por métodos laboratoriais não específicos. A técnica de PCR ainda não está implantada como rotina no Brasil⁴.

Este trabalho teve por objetivo avaliar o índice de positividade no diagnóstico da coqueluche pelo método de cultura de casos suspeitos e comunicantes, com a frequência em diferentes faixas etárias, nas regiões de abrangência dos Laboratórios Regionais do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP, Brasil, no período de 2001 a 2005.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisadas 1912 amostras clínicas de casos e comunicantes com sintomas sugestivos de coqueluche, de pacientes atendidos na área de abrangência dos Laboratórios Regionais do IAL de Campinas, Ribeirão Preto, Sorocaba, Presidente Prudente, São José do Rio Preto, Bauru, Santos, Taubaté, Santo André, Marília, Rio Claro e Laboratório I Araçatuba – DRS-6, no período de janeiro de 2001 a dezembro de 2005.

Coleta de amostras: o Centro de Vigilância Epidemiológica do Estado de São Paulo (CVE) preconiza a coleta do material de casos suspeitos de coqueluche preferencialmente no início dos sintomas característicos da doença (período catarral), antes da antibioticoterapia ou com no máximo 2 ou 3 dias de seu início. Os espécimes nasofaríngeos devem ser obtidos com “swab” de algodão agnatado ou de Dracon⁴. A coleta de material de garganta não

é recomendada, pois *B. pertussis* exibe um tropismo pelo epitélio respiratório ciliado, o qual não é encontrado na faringe²¹.

Transporte de amostras: o meio de transporte de Regan-Lowe³⁰ suplementado com 10% de sangue desfibrinado estéril de cavalo, e cefalexina na concentração final de 40µg/mL é um meio nutritivo e inibe o crescimento da flora de nasofaringe normal, melhorando deste modo a sobrevivência das bordetelas, sendo o meio de transporte de escolha²¹. Os meios devem ser mantidos em geladeira até a data da coleta. Após a semeadura o meio deve ser enviado ao laboratório o mais rápido possível podendo ser mantido em estufa 35-37°C por um período máximo de 48 horas. O transporte deve ser feito em temperatura ambiente.

Cultura: as amostras recebidas foram semeadas em placas de ágar carvão (Oxoid Ltd., Columbia, Md.) suplementado com 10% de sangue de carneiro ou cavalo, e 40µg/mL de cefalexina, como descrito por Regan e Lowe³⁰. As placas foram então incubadas a 35°C em atmosfera úmida, sendo examinadas diariamente por 10 dias consecutivos. As bordetelas são presumivelmente identificadas pela morfologia típica das colônias que aparecem em 3 a 4 dias. As colônias suspeitas foram identificadas segundo Sanden e Weyant³¹ e Hoppe e Weiss²³.

- Projeto aprovado pela CEPIAL (Comitê de Ética em Pesquisa do IAL) - processo CCD-LR n° 31/05.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste estudo, no período estudado foram recebidas 1912 amostras para pesquisa de *B. pertussis*. As regiões cobertas pelos laboratórios regionais de Ribeirão Preto e Campinas foram responsáveis por 60,0% e 12,4% do total de amostras, respectivamente. No total de amostras do laboratório regional

de Campinas estão incluídas também as amostras da região de abrangência do IAL de Rio Claro.

A positividade encontrada dentre as amostras analisadas foi de 9,4%, predominando em todas as regiões estudadas a faixa etária de 0 a 6 meses com 65,0% das amostras positivas, o que está de acordo com a literatura existente^{3,4,19}, com maior agrupamento na faixa de 1 a 3 meses (Tabela 1).

A taxa de positividade em adolescentes e adultos foi de 19,4%, o que também está de acordo com a literatura existente^{2,6,19,32}. No entanto, é possível que este número seja ainda maior, pois houve um grande número de amostras (109) sem informação da idade do paciente, devido a falhas no preenchimento correto da solicitação do exame, instrumento utilizado para o levantamento de dados neste estudo (Tabela 1). Este fato prejudica a correta distribuição dos casos positivos (15) contidos neste total, nas diversas faixas etárias. É importante lembrar que a dificuldade diagnóstica da coqueluche em adolescentes e adultos, devida à sua apresentação clínica atípica, potencia a disseminação da doença e contribui para a subnotificação^{5,6}. Além disso, uma vez que estes freqüentemente têm tosse por várias semanas antes de procurar por atendimento médico, geralmente quando isto acontece é muito tarde para que a cultura seja útil. A melhora no reconhecimento e diagnóstico da doença nos grupos de maior idade em alguns países certamente contribuiu para o aumento recentemente encontrado no número de casos em adolescentes e adultos².

A relação entre a positividade e o número de amostras, em cada regional, foi a seguinte: 2/15 (13,3%) para Marília; 133/1148 (11,6%) para Ribeirão Preto; 23/237 (9,7%) para Campinas; 10/120 (8,3%) para Sorocaba; 6/86 (7,0%) para Santo André; 2/34 (5,9%) para Bauru; 3/92 (3,3%) para

Tabela 1. Distribuição numérica de casos e comunicantes^a de coqueluche, segundo faixa etária, com resultado de cultura para *Bordetella pertussis* realizada nos Laboratórios Regionais do Instituto Adolfo Lutz, no período de 2001 a 2005.

Faixa Etária	Positivos			Negativos		
	Caso	Comunicante	Total	Caso	Comunicante	Total
0-30d	16	1	17	73	2	75
1-3m	78	2	80	355	1	356
3-6m	17	3	20	214	5	219
6-12m	7	0	7	81	8	89
1-5a	2	2	4	129	71	200
5-10a	1	1	2	59	54	113
10-15a	5	1	6	44	64	108
15-20a	8	1	9	44	61	105
Acima 20a	3	17	20	128	245	373
Ignorado	2	13	15	39	55	94
TOTAL	139	41	180	1166	566	1732

^aComunicantes: qualquer pessoa exposta a um caso de coqueluche, entre o início do período catarral até três semanas após o início do período paroxístico da doença - período de transmissibilidade (fonte: Ministério da Saúde. Guia de vigilância epidemiológica. 6ª.ed., Brasília. 2005²⁹).

Taubaté; 1/106 (0,9%) para São José do Rio Preto; 0/37 (0,0%) para Santos; 0/24 (0,0%) para Araçatuba; 0/13 (0,0%) para Presidente Prudente. Acredita-se que a diferença entre as diversas regiões estudadas, tanto quanto ao número de amostras como quanto à positividade, se deva a diferenças de atuação das vigilâncias em relação à atenção ao diagnóstico laboratorial da coqueluche, e/ou à endemicidade da doença na região.

Embora o isolamento de *B. pertussis* de amostras clínicas seja o método recomendado para o diagnóstico da coqueluche devido ao seu alto grau de especificidade, sua sensibilidade pode variar dependendo de um certo número de fatores: método de coleta, meios de transporte e enriquecimento, condições e duração do transporte, escolha dos meios e dos agentes seletivos, e condições de incubação e duração²¹. Embora as vigilâncias das regiões inseridas neste estudo tenham sido treinadas para a coleta e envio de material, muitos problemas foram detectados nas amostras recebidas, como descrito a seguir:

- Preenchimento incorreto ou incompleto dos pedidos de exame;
- Coleta em mais de 4 dias após o início da antibioticoterapia;
- Coleta de material de orofaringe ao invés de nasofaringe;
- Meio de transporte enviado sem “swab” ou com “swab” colocado de forma inadequada no tubo;
- Crescimento de colônias em 24 horas da semeadura no ágar carvão, indicando contaminação na coleta ou durante a colocação do “swab” no meio de transporte.

Assim, a melhoria nas condições de coleta e transporte das amostras e maior critério e rigor no preenchimento das requisições de exames são de crucial importância para a qualidade do diagnóstico da coqueluche. “Swabs” de garganta e da parede nasal anterior têm baixas taxas de recuperação de *B. pertussis*, não sendo indicados para o diagnóstico da doença, de modo que a coleta de material da parede posterior da nasofaringe obtida corretamente é essencial para a qualidade dos resultados. Nos meios de cultura utilizados, *B. pertussis* só apresenta crescimento em média após três dias de incubação; no entanto, todos os laboratórios participantes tiveram culturas com crescimento abundante de outras bactérias em 24 horas (dados não apresentados), o que sugere coleta inadequada, prejudicando ou até mesmo impedindo o crescimento posterior de *B. pertussis*.

Todos estes fatores combinados diminuem a sensibilidade do método de cultura empregado neste estudo, limitando a detecção de casos positivos e, conseqüentemente, aumentando a possibilidade de resultados falso-negativos. Mesmo assim, a casuística estudada neste trabalho apresentou dados suficientes que corroboram com a literatura existente no Brasil¹⁹.

Gonçalves¹⁹ relata um aumento no isolamento de *B. pertussis* a partir da implantação do sistema sentinela da coqueluche. Em nosso estudo, embora a positividade tenha se mantido entre 7,2 e 11,4% durante o período avaliado, a demanda para o diagnóstico aumentou em torno de quatro vezes - de 202 amostras em 2001 para 821 amostras em 2005 (Figura 1) - o que pode ser devido à maior conscientização dos profissionais envolvidos na investigação e notificação da doença.

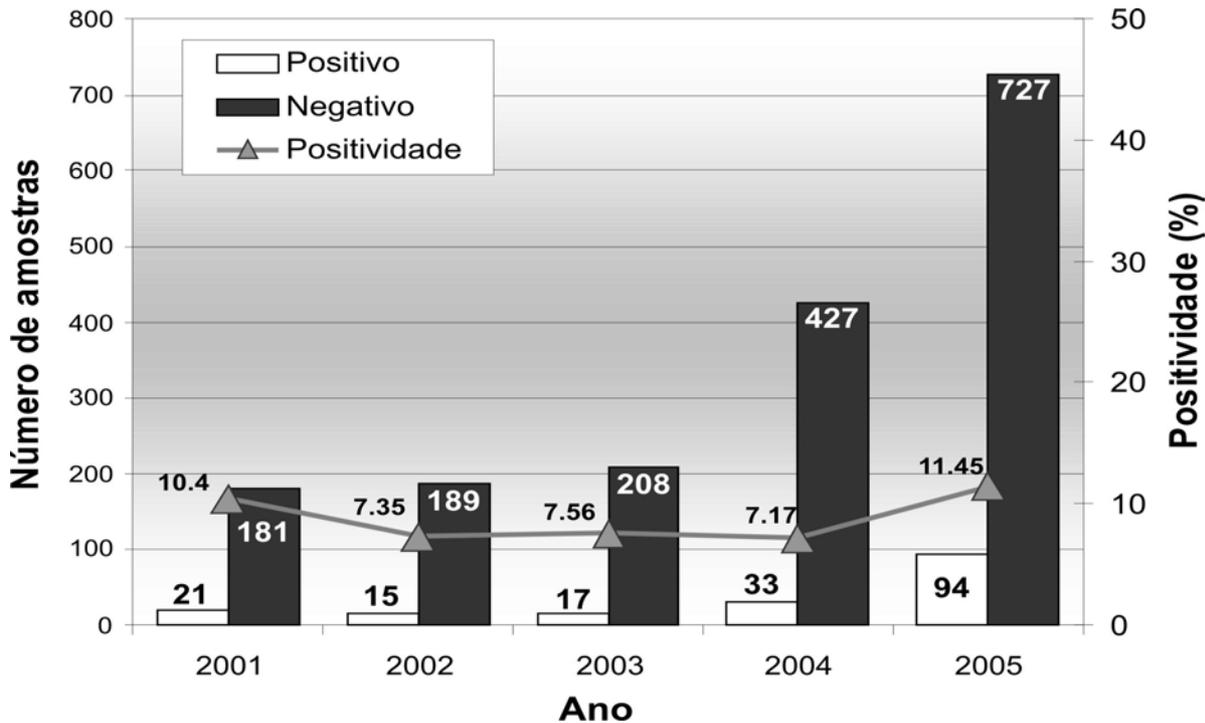


Figura 1. Distribuição anual de amostras recebidas nos Laboratórios Regionais do Instituto Adolfo Lutz para o diagnóstico da coqueluche, em relação à positividade, no período de 2001 a 2005.

A coqueluche é uma das enfermidades imunopreveníveis com controle epidemiológico deficiente em todo o mundo. No Brasil e em outros países a principal limitação para o diagnóstico precoce desta infecção é o custo e a não disponibilidade de testes diagnósticos em muitos laboratórios³³, o que reafirma o importante papel do laboratório de saúde pública no sistema de vigilância das doenças de notificação compulsória. Luz et al.¹⁰ questionam o real significado da disparidade existente entre a dinâmica da coqueluche em países desenvolvidos e no Brasil, indagando se em nosso meio a coqueluche estaria sob controle, como parecem indicar os dados de notificação, ou se existiria uma gradual modificação na dinâmica da transmissão, que não tem sido detectada pelos sistemas de vigilância epidemiológica. Não existem estudos no Brasil que possibilitem responder inequivocamente se há ou não reemergência da coqueluche no país. É possível que a doença esteja de fato reemergindo, mas não de forma perceptível, e que continue sub-diagnosticada uma vez que o seu diagnóstico não é rotineiramente feito em pacientes que apresentam doença do trato respiratório superior.

Embora a PCR possa vir a ser um método vantajoso no futuro, a falta de padronização do teste e a sua correlação incerta com a doença limitam a sua utilidade no momento, devendo ser acompanhada da cultura sem substituí-la^{2,25}. O isolamento de *B. pertussis* permanece o único método seguro para o diagnóstico da coqueluche, sendo a cultura imprescindível para acompanhar a tendência da doença em diferentes regiões, detectar oportunamente surtos e epidemias, com a adoção de métodos de controle, e monitorar as cepas circulantes, com estudos moleculares e avaliação da sensibilidade a antimicrobianos (por ser a droga de escolha para o tratamento da coqueluche e para a profilaxia de contatos íntimos e familiares, a vigilância da resistência à eritromicina tem papel importante no controle da doença³). No entanto, para se aumentar a sensibilidade da cultura é imprescindível a correta definição de casos suspeitos com a coleta cuidadosa de material de nasofaringe. Embora os métodos de coleta e transporte tenham sido padronizados pelo Ministério da Saúde/CVE-SP/IAL desde 2001, é necessário que as equipes de saúde sejam treinadas para a sua correta realização. A mudança freqüente nas equipes de vigilância municipais tem sido um grande entrave neste sentido. Acreditamos que é de extrema importância que estas equipes sejam permanentes e bem treinadas, pois têm papel fundamental no reconhecimento do agravo e correto encaminhamento de amostras para o diagnóstico das doenças de notificação no país.

REFERÊNCIAS

1. Marcon MJ. *Bordetella*. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenoer FC, Tenover RH, editors. *Manual of Clinical Microbiology* 6th ed. Washington, DC: American Society of Microbiology; 1995. p. 566-73.
2. Centers for Disease Control and Prevention. *Epidemiology and Prevention of Vaccine-Preventable Diseases*. Atkns W, Hamborsky J, Mc Intyre L, Wolfe S, eds. 10th ed. Washington DC: Public Health Foundation; 2007. Chapter 7, p. 81-100.
3. Centers for Disease Control and Prevention. *Manual for the surveillance of vaccine preventable diseases*. 3rd ed. Atlanta, GA; 2002. Chapter 8, Pertussis, p. 8-1-17.
4. Divisão de Doenças de Transmissão Respiratória do Centro de Vigilância Epidemiológica do Estado de São Paulo. *Manual de coqueluche - Normas e instruções*; 2000. 20p.
5. Institut Pasteur. Coqueluche. Disponível em: <http://www.pasteur.fr/actu/presse/documentation/coq.htm>
6. Posse CAR; Miceli INP. Evolucion de la coqueluche en la Argentina a finales del siglo XX. *Medicina (Buenos Aires)* 2005;65:7-16.
7. Jenkinson D. Duration of effectiveness of pertussis vaccine: evidence from 10 years community study. *Br Med J* 1988;296:612-4.
8. Institut Pasteur - Communiqué de presse - La coqueluche est toujours là! 26 octobre 2006. Disponível em: <http://www.pasteur.fr/actu/presse/com/communiques/06coqueluche.htm>
9. Carvalho AP, Pereira EMC. Vacina acelarada contra pertussis para adolescentes. *J Pediatr* 2006;82(3 Supl):S15-24.
10. Luz PM, Codeço CT, Werneck GL. A reemergência da coqueluche em países desenvolvidos: um problema também para o Brasil? *Cad. Saúde Pública*, Rio de Janeiro 2003;19(4):1209-13.
11. Watanabe M, Nakase Y, Aoyama T, Osawa H, Murase Y, Iwata T. Serotype and drug susceptibility of *Bordetella pertussis* isolated in Japan from 1975 to 1984. *Microbiol Immunol* 1986;30(5):491-4.
12. Cherry JD, Grimprel E, Guiso N, Heininger U, Mertsola J. Defining pertussis epidemiology: clinical, microbiologic and serologic perspectives. *Pediatr Infect Dis J* 2005;24(5 Suppl):S25-34.
13. Grimprel E, Guiso N, Bégue P. New aspects of pertussis in France, 26 years after generalized pertussis vaccination. *Biologicals* 1993;21:5-6.
14. Moraga F, Roca J, Mendez C, Rodrigo C, Pineda V, Martinez A, Baraibar R, Boronat M, on behalf of the TOSCA Study Group. Epidemiology and surveillance of pertussis among infants in Catalonia, Spain, during 1997-2001. *Pediatr Infect Dis J* 2005;24(6):510-3.
15. Van Amersfoort SC, Schous LM, Van der Heide HG, Advani A, Hallandes HO, Bonderson K, et al. Analysis of *Bordetella pertussis* populations in European countries with different vaccination policies. *J Clin Microbiol* 2005;43(6):2837-43.
16. Yih WK, Lett SM, des Vignes FN, Carrison KM, Sipe PL, Marchant CD. The increasing incidence of pertussis in Massachusetts adolescents and adults, 1989-1998. *J Infect Dis* 2000;182:1409-16.

17. P Perret C. Vacuna anti-pertussis para uso em adolescentes y adultos. *Rev Chil Infect* 2006;23(3): 257-60.
18. G Cofre J. Coqueluche em adultos y adolescentes. *Rev Chil Infect* 2003;20(Supl 1): S52-8.
19. Gonçalves CR, Vaz TMI, Medeiros MIC, Castro MTF, Rocha MMM, Melles CEA, Irino K. Phenotypical and genotypical characterization of *Bordetella pertussis* strains isolated in São Paulo, Brazil, 1988-2002. *Rev Inst Med trop S Paulo* 2007; 49(2):123-5.
20. Crowcroft NS, Pebody RG. Recent developments in pertussis. *Lancet* 2006; 367 (9526):1926-36.
21. Müller FMC, Hoppe JE, Wirsing von König CH. Laboratory diagnosis of pertussis: State of the art in 1997. *J Clin Microbiol* 1997;35(10):2435-43.
22. Friedman RL. Pertussis: the disease and new diagnostic methods. *Clin Microbiol Rev* 1988;1:365-76.
23. Hoppe JE, Weiss A. Recovery of *Bordetella pertussis* from four kinds of swabs. *Eur J Clin Microbiol* 1987;6:203-5.
24. Douce-Populaire F, Bourgeois N, Charara O, Bellaïche M, Richardin F, Salomon JL, et al. Utilisation en routine de l'amplification génique pour le diagnostic de coqueluche chez l'enfant. *Arch Pediatr* 2002;9(11):1145-52.
25. Sanz Moreno JC, De Ory Manchón F, González Alonso J, de La Torre JL, Salmerón F, Limia A, et al. Diagnóstico de laboratorio de tos ferina. Papel de la serología. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2002;20(5):212-8.
26. Centers for Disease Control and Prevention. National Center for Immunization and Respiratory Disease. Guidelines for the control of pertussis outbreaks. Atlanta, 2000 last modified on February 2006. Chapter 2 - Diagnosis and Laboratory Methods. p. 2-1-15. Disponível em <http://www.cdc.gov/vaccines/pubs/pertussis-guide/guide.htm>
27. Lingappa JR, Lawrence W, West-Keefe S, Gautom R, Cookson BT. Diagnosis of community-acquired pertussis infection: comparison of both culture and fluorescent-antibody assays with PCR detection using electrophoresis or dot blot hybridization. *J Clin Microbiol* 2002;40(8):2908-12.
28. Brasil. Portaria nº 1943 de 18 de outubro de 2001 do Ministério da Saúde. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, DF, 24 de outubro de 2001. Seção 1, nº 204, p. 35.
29. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Guia de vigilância epidemiológica 6ª ed. Brasília, DF. Normas e Manuais Técnicos; 2005. 816p.
30. Regan J, Lowe F. Enrichment medium for the isolation of *Bordetella*. *J Clin Microbiol* 1977;6:303-9.
31. Sanden N, Weyant RS. Genus III. *Bordetella*. In: Brenner DJ, Krieg NR, Staley JT. Ed. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, vol. 2. New York, Springer, 2005.
32. Senzilet LD, Halperin SA, Spika JS, Alagaratnam M, Morris A, Smith B, and the Sentinel Health Unit Surveillance System Pertussis Working Group. Pertussis is a frequent cause of prolonged cough illness in adults and adolescents. *Clin Infect Dis* 2001;32:1691-7.
33. Jones TC, Gasser M, Erb P, Oechslin H. Cough and fear of sleep: early clinical signs of *Bordetella pertussis* in an adult. *The Brazilian J Infect Dis* 2004;8(4):324-7.