

MECANISMOS EFETORES DA RESPOSTA IMUNE NA INFECÇÃO POR *Bordetella pertussis*

Thiago Moraes Silva de Araújo¹
Thayse Moraes Silva de Araújo²
Kledson Lopes Barbosa³

ARAÚJO T. M. S. de; ARAÚJO, T. M. S. de; BARBOSA, K. L. Mecanismos efetores da resposta imune na infecção por *Bordetella pertussis*. *Arq. Cienc. Saúde UNIPAR*, Umuarama, v. 23, n. 2, p. 145-153, maio/ago. 2019.

RESUMO: A coqueluche é uma doença infecciosa aguda, transmissível, com predileção pelo trato respiratório, caracterizada por paroxismos de tosse seca e considerada uma importante causa de morbidade e mortalidade infantil. A resposta imunológica humoral e celular do hospedeiro promove a contenção da infecção, pois essas respostas se caracterizam como importantes linhas de defesa durante a infecção e colonização da bactéria. Dessa forma, esta revisão bibliográfica procurou descrever os mecanismos mais eficazes de resposta imune contra *Bordetella pertussis* e abordar os mecanismos de evasão utilizados pelo patógeno.

PALAVRAS-CHAVE: Coqueluche. *Bordetella pertussis*. Resposta Imunológica.

IMMUNE RESPONSE EFFECTOR MECHANISMS TO *Bordetella pertussis* INFECTION

ABSTRACT: Pertussis is a transmissible infectious disease with a predilection for the respiratory tract characterized by paroxysms of dry cough. It is considered an important cause of child morbidity and mortality. The humoral and cellular immune responses of the host promote the containment of the infection, and these responses are characterized as important lines of defense during infection and colonization of the bacterium. Thus, this literature review sought to describe the most effective immune response mechanisms against *Bordetella pertussis* and to address the avoidance mechanisms used by the pathogen.

KEYWORDS: Whooping Cough. *Bordetella pertussis*. Immune Response.

Introdução

A coqueluche é uma doença infecciosa aguda, transmissível, com predileção pelo trato respiratório, caracterizada por paroxismos de tosse seca e considerada uma importante causa de morbidade e mortalidade infantil (BRASIL, 2009). Trata-se de uma afecção altamente contagiosa (HEWLETT *et al.*, 2014) e, por isso, torna os indivíduos suscetíveis alvos potenciais para aquisição da doença (GIOVANNI *et al.*, 2015). Além disso, verifica-se que a coqueluche continua sendo uma doença de ocorrência global, mesmo diante dos programas de vacinação assegurados e eficazes. No entanto, as características de virulência do agente etiológico são responsáveis por sua invasão no trato respiratório, que pode em sua forma mais grave, evoluir para um quadro letal no hospedeiro (AUSIELLO e CASSONE, 2014).

No século XX, foi estabelecido que essa enfermidade afetava o homem devido à ação de uma bactéria, sendo inicialmente denominada *Haemophilus pertussis*, porém, atualmente, reclassificada como *Bordetella pertussis*. A bactéria foi primeiramente isolada em 1906, por Jules Bordet e Octave Gengou, motivo pelo qual é também conhecida como bacilo de Bordet-Gengou (STANCIK, 2010).

Durante a década 80, no Brasil, foram notificados cerca de 40 mil casos de coqueluche anualmente, tendo um coeficiente de incidência maior do que 30/100.000 habitantes (BRASIL, 2006). Após a introdução da vacina contra a coqueluche no país, uma brusca redução na ocorrência da doença foi observada. Dados da WHO (2014) registram que a infecção por *B. pertussis* ainda afeta países em desenvol-

vimento. No entanto, a partir de 1980, verificou-se que a população vacinada subiu de 30% para 90%, e como resultado desta imunização, detectou-se redução dos indicadores de infecção de quase 2 milhões para aproximadamente 161.500 casos ao ano. Com a utilização da vacina antipertussis, acreditava-se que a incidência da morbidade permaneceria em baixos níveis, ou até mesmo, poderia ser erradicada. Entretanto, a doença volta a dar sinais consistentes de infecção, mesmo com o uso da vacina DTP (Difteria, Tétano e Coqueluche) introduzida no Brasil por volta de 1983 (BRASIL, 2003; TREVIZAN e COUTINHO, 2008).

O ressurgimento da síndrome coqueluche tem gerado bastante preocupação em muitos países, principalmente entre os que apresentam altos níveis de vacinação. Hoje em dia, questiona-se sobre a eficácia da vacina acelular e seu espectro em controlar a doença em nível populacional, assim como discorrem Burns *et al.* (2014). Apesar da imunização contra a coqueluche acontecer desde os primeiros anos de vida, estima-se que, haja atualmente, 50 milhões de casos com 300.000 mortes em todo o mundo (LIBSTER e EDWARDS, 2012).

A resposta imunológica do hospedeiro tem demonstrado ser capaz de promover a proteção contra a infecção por *B. pertussis*, desempenhando papel importante no controle e colonização do patógeno. Por outro lado, quando a resposta não é eficiente, a colonização da bactéria potencializa-se em seu hospedeiro, e este tipo de infecção está associada aos altos índices de mortalidade. Os diferentes tipos de microrganismos como, por exemplo, bactérias, fungos, vírus entre outros, por sua vez, são combatidos por diferentes componentes

DOI: 10.25110/arqsaude.v23i2.2019.6558

¹Universidade Federal de Alagoas – UFAL, Programa de Pós-graduação em Educação Brasileira, Av. Lourival Melo Mota, s/n, Tabuleiro dos Martins, CEP: 57072-900, Maceió-AL, Brasil. Email: thiago.epidemiologia@gmail.com

²Centro Universitário Tiradentes – UNIT, Programa de Pós-graduação em Urgência e Emergência, Av. Comendador Gustavo Paiva, 5017, Cruz das Almas, CEP: 57038-000, Maceió-AL, Brasil. Email: thayse.moraes@hotmail.com

³Universidade Federal de Alagoas – UFAL, Programa de Pós-graduação em Química e Biotecnologia, Av. Lourival Melo Mota, s/n, Tabuleiro dos Martins, CEP: 57072-900, Maceió-AL, Brasil. Email: kledsonlopesb@gmail.com

da resposta imune. Nesse caso, associam-se linhas de defesa responsáveis por suprimir a infecção causada por esses patógenos: imunidade inata, adaptativa celular ou humoral (MACHADO *et al.*, 2004).

Com base no aumento do número de casos da doença que desafia o cenário vacinal do país, comumente evidenciado pelos elevados índices epidemiológicos significativos, a presente revisão bibliográfica objetivou descrever os mecanismos efetores da resposta imunológica do hospedeiro, bem como, os mecanismos de evasão da resposta imune pela *B. pertussis*. Para tanto, realizou-se buscas bibliográficas em plataformas digitais na internet, tais como: Science Direct, Bireme, Lilacs e plataforma CAPES, que permitiram a seleção e análise dos artigos referente à proposta de estudo. Não houve restrições de cronologia e idioma de publicação. As estratégias utilizadas para inclusão dos artigos neste estudo foram artigos originais e de revisão, publicados nas versões em inglês e português, disponíveis por completo nas bases eletrônicas. O critério de exclusão utilizado foi para artigos incompletos.

Antecedentes históricos e taxonomia das espécies de *Bordetella* spp.

A denominação *Bordetella* foi proposta por J. Bordet e O. Gengou que descreveram a bactéria *B. pertussis* em meados de 1906. Existem sete espécies que pertencem ao gênero *Bordetella*, sendo quatro classificadas antigamente, como *B. pertussis*, *B. parapertussis*, *B. bronchiseptica* e *B. avium*, e três espécies recentemente (*B. hinzii*, *B. holmesii* e *B. trematum*) (MARTINS 2006; KONEMAN, 2008; ROSETTI, 2009; STANCIK, 2010).

Antigamente, diversos membros do gênero *Bordetella* foram classificados como pertencentes aos gêneros *Haemophilus*, *Brucella* ou *Alcaligenes*. Embora uma análise filogenética baseada no sequenciamento do gene 16S rRNA tenha demonstrado que *B. pertussis*, *B. parapertussis*, *B. bronchiseptica* e *B. holmesii* possuam uma estreita relação filogenética entre si, a literatura ainda se refere como sendo distintas as sete espécies, pois, existem diferenças genéticas e fenotípicas entre elas (TILLEY *et al.*, 2007; LOEFFELHOLZ, 2008).

Infecção por *B. pertussis*

A coqueluche, tosse convulsa, ou síndrome coqueluchoide, se caracteriza como uma enfermidade de caráter infeccioso agudo e altamente contagiosa, causada pela bactéria Gram-negativa, aeróbia, não esporulada, *B. pertussis*. Atualmente, a coqueluche mostra-se como um relevante problema de saúde pública por acometer principalmente faixa etária menor de um ano de idade (LUZ *et al.*, 2003).

Essa doença é reconhecida como o resultado de uma complexa interação entre *B. pertussis* e seu hospedeiro, existindo diferentes adesinas e toxinas nesta associação. Estudos realizados ao longo dos últimos 15 anos têm revelado a complexidade patogênica e sofisticada da tosse convulsa, que envolve muitos fatores de virulência (LOCHT *et al.*, 2001).

A transmissão ocorre principalmente por contato direto, por meio do sujeito sintomático para o sadio/suscetível por meio de gotículas de secreção, e o indireto, através do

uso de fômites – este, por sua vez, é menos frequente, pois o agente etiológico possui dificuldade em sobreviver fora do hospedeiro. Após a infecção, a bactéria possui um período de incubação, com duração média de 5-10 dias, variando de 1 a 3 semanas. A doença caracteriza-se por crises paroxísticas de tosse seca, evoluindo em três fases sucessivas: fase catarral, fase paroxística e fase de convalescença. Todos os sintomas apresentados durante o período de incubação podem ser classificados como clássicos, e ainda atípicos (ELIAS *et al.*, 2009; CASIMIRO *et al.*, 2011).

A síndrome clássica consiste de estágio catarral ou prodromico, com duração média de 1-2 semanas. O estágio paroxístico tem duração de 1 a 6 semanas, e o estágio de convalescença pode variar de 2 semanas a vários meses. Os sintomas no indivíduo durante a primeira semana podem ser inespecíficos, apresentando febre de baixa intensidade e coriza, sendo este período o de maior transmissibilidade da doença. A tosse começa a aparecer em uma fase tardia, tornando-se cada vez mais frequente, o que se configura como uma tosse convulsa, denominado estágio paroxístico. O estágio de convalescença é indicado pela diminuição da tosse severa para o início de uma mais amena (MARTINS, 2006; ROSETTI, 2009; BRASIL, 2010).

Diversos estudos relatam que a tosse convulsa pode desencadear inúmeras complicações, principalmente para os lactentes menores de 6 meses, devido ao estabelecimento de um quadro de síndrome respiratória. Ela pode causar pneumonia e otite média, ativação de tuberculose latente, bronquiectasia, enfisema, pneumotórax, ruptura do diafragma, encefalopatia aguda, convulsões, coma, hemorragias intracerebrais, hemorragia subdural, estrabismo, surdez, hemorragia subconjuntivais, epistaxe, edema de face, úlcera de frênulo lingual, hérnias (umbilicais, inguinais e diafragmáticas), conjuntivite, desidratação e/ou desnutrição, encefalite, danificações permanentes no cérebro e óbito (SMITH *et al.*, 2001; MARTINS, 2006; BRASIL, 2010).

Epidemiologia

A coqueluche é uma infecção endêmica e epidêmica mundial, ocasionando surtos geralmente a cada 3-5 anos nas estações de verão-outono (GIOVANNI *et al.*, 2015). Com a introdução da vacina contra a coqueluche em 1940, conhecida como *whole-cell*, a incidência da doença reduziu significativamente em todo o mundo. Entretanto, apesar de terem se passado vários anos com uma alta cobertura vacinal, não há relatos de erradicação da infecção por *B. pertussis* em nenhum país (ROSETTI, 2009).

A morbidade da coqueluche no Brasil já se manteve em altos índices, principalmente no início da década de 80. Em 1983, o Brasil introduziu o uso sistemático da vacina tríplice DTP 30 anos após o início da vacinação em países desenvolvidos. Desde então, a coqueluche tornou-se uma patologia passível de prevenção e, em resposta ao aumento da cobertura vacinal, houve redução no número de casos notificados (BRASIL, 2003; ROSETTI, 2009).

Logo, com o ressurgimento da coqueluche na sociedade contemporânea, fica clara a necessidade de maior atenção dos serviços de vigilância ao controle de doenças infecciosas, uma vez que, Luz (2003) salienta que em países desenvolvidos a reemergência da doença se deu somente

cerca de 30 anos após a implantação da vacinação, devido à mudança no padrão de infecção.

Apesar da variação gênica de *B. pertussis* ser extensamente conhecida, estudos adicionais têm revelado heterogeneidade na estrutura genômica entre isolados indistinguíveis, de modo a identificar diferenças nos genomas de cepas de referência da vacina e isolados clínicos de vários genótipos. Sendo assim, a evolução de *B. pertussis* inclui a redução e o rearranjo no genoma estrutural da espécie (WEIGAND *et al.* 2017), que possivelmente, tem contribuído para estabelecer novas adaptações e evolução a esse patógeno (SEALEY *et al.* 2016). Em adição, outras causas que podem estar relacionadas ao ressurgimento da coqueluche são, possivelmente, o fato de as crianças serem vacinadas muito jovens e/ou parcialmente vacinadas, e adultos imunizados com declínio da imunidade, tornando-se indivíduos vulneráveis à doença (LIBSTER e EDWARDS, 2012). Além disso, outro fator, não menos importante que tem sido alvo de discussão, é o declínio rápido da imunização adquirida com a vacina acelular (aP), em comparação a vacina de células inteiras (wP) (KLEIN *et al.* 2012).

De acordo com o CDC (2012), a coqueluche continua sendo uma doença endêmica de importância mundial, com mais de 350.000 mortes anuais. O índice de ataque é muito elevado e mais de 90% dos indivíduos suscetíveis tornam-se infectados após a exposição com patógeno, que geralmente ocorre por meio de indivíduos infectados e com sintomatologia. No Brasil, são notificados em média cerca de 2 mil casos da doença por ano (BRASIL, 2006). “Crianças menores de um ano e os lactentes jovens (<6 meses) são propensos a apresentar formas graves, muitas vezes letais” (BRASIL, 2006). Dados registrados no Brasil, tornaram públicos 80.068 casos suspeitos de coqueluche para os anos de 2007 a 2014, sendo destes, 24.612 (32%) confirmados. A avaliação anual revelou também que os picos endêmicos vêm sendo registrados a partir de 2012. Quanto a distribuição por grupos, verificou-se que 34,5% ocorreu em lactentes de 0 a 2 meses, 22,4% em lactentes de 3 a 6 meses, 21% em crianças de 7 meses a 4 anos e 8% em adultos maiores de 21 anos. Apesar da imunização, constatou-se que 23,1% dos casos confirmados haviam tomado pelo menos três doses da vacina contra coqueluche. A distribuição destes foram 1.098 lactentes entre 7 e 15 meses, e 2.079 crianças com 16 meses a 4 anos. (GUIMARÃES *et al.* 2015).

Fatores de virulência

Toda infecção por agentes bacterianos está relacionada a inúmeros fatores de virulência. Estes são definidos como componentes estruturais de produtos microbianos que contribuem, necessariamente, para que o microrganismo consiga se instalar e obter uma relação de parasitismo com seu hospedeiro. Entre os fatores de virulência, destacam-se as evasinas, as adesinas e as toxinas que lesam as células, tecidos e órgãos (TRABULSI e ALTERTHUM, 2008).

De acordo com Parkhill *et al.* (2003), alguns fatores de virulência são comuns a diversas espécies de *Bordetella*. A expressão dessas proteínas está diretamente relacionada à patogenicidade de *B. pertussis*, sendo regulada por estímulos ambientais e um sistema regulador de dois componentes chamado BvgAS, composto pelo sensor quinase BvgS e pelo

regulador de resposta BvgA. Ademais, BvgS, em sua forma ativa, fosforila BvgA e promove a expressão de genes de virulência (MOON *et al.* 2017).

O gênero *Bordetella* possui uma série de fatores de virulência que promovem a aderência bacteriana ao epitélio e a evolução da infecção, com posterior quadro de coqueluche. Um exemplo é o Sistema de Secreção do Tipo III (TTSS) encontrado na espécie *B. bronchiseptica* que permite a bactéria introduzir proteínas bacterianas no interior das células hospedeiras. Embora *B. pertussis* contenha esse sistema, nem todas as estirpes conseguem expressar o complemento total de proteínas TTSS devido à diferenciação genética entre as espécies (HIGGS *et al.*, 2012).

Outros fatores de virulência deste gênero são a Hemaglutinina Filamentosa (FHA), a pertactina (PRN), a Citotoxina Traqueal (TCT), a Toxina Termolábil (HLT) ou Toxina Dermonecrotica, o lipooligossacarídeo (LOS), os aglutinógenos “O” termolábeis, a Toxina Pertussis (PT), e o Adenilato Ciclase/Hemolisina (AC-H). FHA consiste em uma adesina de superfície da célula com atividade de adesão, permitindo, assim, a ligação às células eucarióticas das vias aéreas superiores. Já PRN diz respeito ao conjunto de proteínas de superfície responsáveis pela mediação na fixação da bactéria, juntamente com a FHA, que maximiza a ligação do patógeno à célula tecidual. TCT é uma molécula liberada quando a bactéria se encontra na progressão logarítmica, sendo responsável pela destruição do epitélio ciliar das vias aéreas, contribuindo para produção de tosse intensa. Por outro lado, HLT consiste em um polipeptídeo responsável pela contração dos vasos sanguíneos, considerando os efeitos de constrição sobre o tecido, podendo levar a inflamação local associada à coqueluche. Acredita-se que LOS da membrana externa de *B. pertussis* seja responsável pela pirogenicidade, atuando como adjuvante na produção de interferon e mitogenicidade, assim como na ativação das células B e reatogenicidade associada à vacina antipertussis de células inteiras. Os aglutinógenos “O” termolábeis são antígenos descritos na superfície da bactéria e, em geral, são associados à fixação do microrganismo às células do hospedeiro. PT e AC-H são os fatores de virulência que mais modulam o quadro de supressão e imunitário do hospedeiro, bem como suas respostas inflamatórias (ZORZZETO, 2008; ROSETTI, 2009; KONEMAN, 2008; HIGGS, *et al.*, 2012).

PT é uma única proteína produzida exclusivamente por *B. pertussis*, e possui amplo espectro de atividade biológica. A exotoxina é transportada por meio da membrana por um tipo de Sistema de Secreção IV codificadas pelo gene *ptl*, localizado junto ao gene *ptx* que codifica a toxina. A atividade da toxina é responsável pelos vários sinais e sintomas apresentados pela morbidade, mesmo que ainda não esteja totalmente esclarecido o seu mecanismo de ação, tornando extremamente importante o conhecimento e importância da resposta imune do hospedeiro. Ademais, sabe-se que os efeitos biológicos da PT incluem estimulação de respostas imunológicas com linfocitose e ativação das células das ilhotas pancreáticas. Também se destaca como componente na fabricação das vacinas acelulares e, ainda, utiliza-se como um reagente em estudos de sinalização de células de mamíferos, por ter efeito inibitório sobre o receptor de proteína G (SMITH *et al.*, 2001; KONEMAN, 2008; ROSETTI, 2009; CARBONETTI, 2010).

AC-H é uma proteína bifuncional que possui atividade de adenilato ciclase e hemolítica. Esta proteína se liga às células suscetíveis, causando a translocação para o interior da célula hospedeira na forma intacta. Uma vez dentro da célula-alvo, ela sofre clivagem proteolítica causando ativação da atividade adenilato ciclase pela proteína eucariótica calmodulina, resultando no acúmulo intracelular de monofosfato cíclico de adenosina (cAMP) e, conseqüentemente, suprimindo a resposta imunológica local ao passo em que inibe a quimiotaxia e a fagocitose de neutrófilos (CARBONETTI, 2010). Estudos relataram interação importante entre a mudança conformacional induzida por calmodulina de ACT, causando ativação catalítica (GUO *et al.* 2008). Isso se deve ao fato de que algumas proteínas bacterianas de *B. pertussis* ativam-se intracelularmente a partir da ligação com a calmodulina (CARBONETTI, 2010).

Ativação das células do complexo imune inato

Macrófagos e células dendríticas imaturas são descritas como as primeiras células a atuarem na resposta imune contra *B. pertussis*. Experimentos conduzidos com murino reportaram formação de infiltrado inflamatório nos pulmões com influxo de células dendríticas, macrófagos, neutrófilos, linfócitos e células *natural-killer* (células NK). Em adição, os autores também relataram a presença de células T (α e β) predominantes, porém, não exclusivamente células TCD4⁺. Imunoglobulina A (IgA) e IgG também foram detectados nos pulmões desses camundongos de laboratório. No entanto, os níveis séricos de IgG foram detectáveis apenas quando as bactérias foram eliminadas.

Esses resultados fornecem evidências de que macrófagos e neutrófilos ativados por citocinas secretadas por células NK e células TCD4⁺, contribuem para eliminar uma infecção primária por *B. pertussis*. Apesar dos anticorpos específicos para *B. pertussis* conferirem imunidade adaptativa, verificou-se rápido recrutamento de células para os pulmões de camundongos imunes, sugerindo-se que células de infiltração podem também contribuir para a proteção no hospedeiro imune (HIGGS, *et al.*, 2012).

Macrófagos

Higg *et al.* (2012) verificaram a presença de *B. pertussis* em macrófagos alveolares nos pulmões de bebês e crianças com pneumonia, e de crianças infectadas pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV). Os ensaios experimentais de infecção para *B. pertussis* com monócitos humanos, reportaram sua habilidade de sobrevivência, sugerindo que este patógeno consegue driblar o mecanismo de proteção desempenhado pelos monócitos e permanecer viável para prolongar o processo infeccioso. Através do processo de fagocitose, o patógeno é destruído no interior de compartimentos ácidos, porém a outra porção do patógeno não capturada pode se replicar nos macrófagos. Além de proporcionar um nicho intracelular para a sobrevivência de *B. pertussis*, os macrófagos foram descritos contribuindo com a imunidade protetora, e depleção de macrófagos residentes das vias aéreas. Por outro lado, reforça-se a ideia de que essas células aliadas ao interferon-gama (IFN- γ) e interleucina (IL)-17 promovam a morte do agente etiológico. Nesta circunstância, o

óxido nítrico (NO), um importante mediador de processos intra e extracelulares produzido pelos macrófagos, recebe estímulo do IFN- γ , o que faz com que os macrófagos sejam células capazes de utilizar dois mecanismos distintos para combater a infecção por *B. pertussis*, NO-dependentes e independentes.

Por tratar-se de um agente intracelular facultativo, a *B. pertussis* pode se instalar em diversas células, podendo sobreviver no ambiente intracelular. Este aspecto pode sugerir uma possível requisição da imunidade celular para contribuir na sua eliminação. Hipoteticamente, admite-se que a capacidade do microrganismo sobreviver em macrófagos ocorre pela inibição da fusão das organelas lisossomo e fagossomo, bem como pela inibição da morte bacteriana mediante de fatores de virulência, como é o caso da adenilato ciclase (ROSETTI, 2009).

Células dendríticas

As células dendríticas representam um sistema único de células que fazem uma ligação entre a imunidade inata e a adquirida. As células dendríticas imaturas são capazes de capturar antígenos microbianos e patógenos diretamente, fagocitando-os. Estas funções são compartilhadas com outros efetores naturais, tais como macrófagos e neutrófilos, mas, elas sob o contato com produtos microbianos sofrem maturação, ou seja, um profundo rearranjo da expressão do gene que conduz finalmente para a maturação dessas células. Após essa maturação são capazes de migrar para os nódulos linfáticos para estimular os linfócitos T auxiliares e dirigidas suas funções em associação com o tipo de estímulo maturacional recebido (PALUCKA e BANCHEREAU, 2002; FEDELE *et al.*, 2005).

Após reconhecimento do antígeno, células dendríticas são estimuladas para síntese de citocinas, ao mesmo tempo, estas células especializadas migram para o sistema respiratório a fim de reconhecer padrões moleculares e fatores de virulência de *B. pertussis* visando o controle da infecção. Somando-se a esses fatores, sinais pró-inflamatórios caracterizados por produção de citocinas, quimiocinas, infiltração de leucócitos e ativação de células T no hospedeiro potencializam a resposta imunológica. Adicionalmente, estruturas moleculares como lipopolissacarídeos (LPS) ligam-se aos Toll-Like Receptor 4 (TLR4) nas superfícies de membrana das células dendríticas, passo importante para maturação, síntese e secreção de IL-12 e IFN- γ , bem como ativação de células Th1. A análise de glânglios cervicais infectados por *B. pertussis* demonstraram a presença de células dendríticas de vários subtipos: CD11c⁺, CD8 α ⁺, CD103⁺ e CD com capacidade migratória para o pulmão, estimulando a produção de IFN- γ , assim como, atuando na ativação de Th1. Ademais, verificou-se que esses subtipos celulares estariam envolvidos na diminuição da resposta de Th1 nos pulmões reduzindo a depuração bacteriana através da transferência do receptor 3 de FMS (fator estimulador de colônia de macrófagos) tirosina-quinase (FLT3) que liga-se aos receptores de CD11⁺ e CD8⁺ de células dendríticas. Em adição, estima-se que células dendríticas ativadas por AC-T de *B. pertussis* também promovem a ativação de células Th17 específicas para *B. pertussis*, uma vez que atuam em sinergismo com células Th1 para remover bactérias do trato respiratório (HIGGS *et*

al., 2012).

A escolha de um modelo animal específico para experimentação pode ser totalmente baseada em argumentos científicos, bem como, a disponibilidade deste. Sato *et al.* (1980) já discutiam sobre o desafio respiratório em camundongos para administração intranasal ou aerossol de bactérias vivas para o estudo da imunidade induzida por *B. pertussis*. Em pesquisas o desafio da bactéria em camundongos objetiva o estudo da imunidade bacteriana e sua relação a ausência da tosse, principal sintoma da coqueluche, além dos achados patológicos pulmonares serem distintos dos encontrados em humanos (HIGGS *et al.*, 2012). No entanto, outros modelos estão sendo investigados para o estudo do mecanismo de indução imune de *B. pertussis*, como, por exemplo, babuínos, ratos transgênicos de laboratório, entre outros híbridos (FEDELE *et al.*, 2015).

A ação de células dendríticas sob AC-T ativa a enzima caspase-1, uma proteína importante de maturação de peptídeos que atua em formas precursoras de citocinas inflamatórias. Ao mesmo tempo, receptores de domínio de oligomerização de ligação ao nucleotídeo (NOD-like) com presença de inflamassoma de NLRP3 induzem a maturação da pró-IL-1 β em IL-1 β e IL-23 com sinalização de células Th17 com especificidade para *B. pertussis*. Após a infecção, células dendríticas induzem a produção de IL-1 e IL-23, proteínas envolvidas na ativação do sistema imune de modo a expandir a presença de células Th17. Em seguida, AC-T e FHA de *B. pertussis* promovem a resposta anti-inflamatória por meio de IL-10 derivada das células dendríticas e células T regulatórias. As LPS atuam na resposta pró-inflamatória, promovendo estímulos a produção de IL-10 a partir de células dendríticas, ativando células T reguladoras. Essas células, conhecidas como Treg, possuem um papel protetor presumido, visto que na ausência de células T secretoras de IL-10 resultaram no aumento da mortalidade devido à acentuada inflamação pulmonar causada pela *B. pertussis* (HIGGS *et al.*, 2012).

Neutrófilos

De acordo com estudos desenvolvidos por Higgs *et al.* (2012), os neutrófilos, assim como os macrófagos, fagocitam *B. pertussis*, mantendo a bactéria em suas estruturas subcelulares sob maturação lisossomal, oferecendo uma sobrevivência ao patógeno. Diferentemente dos macrófagos, os neutrófilos são considerados reservatórios intracelulares improváveis da *B. pertussis*, isso porque considera-se que essas células possuam “vida curta”, embora mantenham um papel imprescindível no combate às bactérias com a fagocitose. Experimentos em camundongos evidenciaram infiltração de neutrófilos nos pulmões, cinco dias pós-infecção por *B. pertussis*, com pico de 10-14 dias.

A IL-6 foi descrita por estimular a resposta inflamatória a partir de macrófagos, ao mesmo tempo que neutrófilos são recrutados para o sítio de infecção e células Th1 e Th17 são recrutadas para combater as cepas de *B. pertussis*. Por outro lado, a princípio parece que PT age sobre a resposta imunitária primariamente, tornando mais lento o processo de infiltração de neutrófilos nos pulmões. A toxina AC-H promove o declínio da fagocitose, produção de superóxido e quimiotaxia, causando a inibição fagocitária dos neutrófilos.

No entanto, essa relação de inibição pode não afetar diretamente a imunidade protetora para *B. pertussis*. Por outro lado, ensaios experimentais mostraram que infecções causadas por *B. bronchiseptica* são graves e letais em camundongos. Além disso, destaca-se que os neutrófilos são essenciais para o controle da infecção em camundongos imunes, uma vez que a resposta imunológica é mediada por anticorpos e morte intracelular. Todavia, isso não parece ter impacto sobre a imunidade protetora para *B. pertussis*, uma vez que a infecção por *B. bronchiseptica* em camundongos com neutrófilos deficientes, exibe um desfecho letal. Contudo, os neutrófilos parecem ser importantes no controle da infecção em camundongos imunes, possivelmente através absorção mediada por anticorpos e a morte intracelular (HIGGS *et al.* 2012; ANDREASEN e CARBONETTI, 2008).

Células Natural-Killer

De acordo com Abbas *et al.* (2008), as células NK são uma linhagem de células relacionadas aos linfócitos que reconhecem células infectadas e respondem destruindo-as e secretando citocinas inflamatórias. Além de ter essa finalidade, esse tipo de célula constitui uma relevante fonte de IFN- γ , pelo qual ocorre a ativação dos macrófagos para atuar na destruição dos patógenos. Esse tipo de célula especializada em destruir células anormais e infectadas do hospedeiro mostrou sua participação também no combate das cepas de *B. pertussis*. Conforme verificado em estudos com camundongos infectados por *B. pertussis*, a presença de IFN- γ esteve aumentada para auxiliar no combate do patógeno, bem como ativação de Th1. Dados adicionais revelaram que em camundongos deficientes de células T, as células NK foram importantes para manter a infecção confinada nos pulmões. Aspecto bastante positivo para a resposta imunológica, uma vez que o declínio de células NK pode trazer maiores complicações a saúde do hospedeiro, haja vista a maior chance de disseminação do patógeno ao fígado. Contudo, células NK, também exerceram efeito reduzido sobre Th1, aumento da resposta Th2, destacando um papel importante para as células NK na regulação do desenvolvimento de respostas de células T durante a infecção (HIGGS *et al.*, 2012).

Imunidade adaptativa contra *B. pertussis*

A ação protetora do sistema imunológico oferece ao indivíduo diversas formas para barrar a infecção. Abbas *et al.* (2008) ressaltam que em relação a resposta imune, a imunidade adaptativa ou adquirida se descata como uma forte linha de defesa, visto que existem dois tipos de respostas imunológicas: humoral e celular. Estas são mediadas por diferentes componentes do sistema imune. Nesse sentido, considera-se que a “proteção contra a síndrome coqueluchoide parece ser multifatorial, pois ela consegue envolver aspectos diretamente ligados à imunidade humoral, e, também, à imunidade celular e a de mucosa” (CASIMIRO *et al.*, 2011).

De acordo com Pereira e Barbosa (2007), a menor duração da imunidade permeia em torno de 3 a 5 anos. Considera-se ainda que essa tendência à duração da imunidade gire em torno de 7-20 anos. Entretanto, cabe ressaltar que essas diferenças podem estar diretamente relacionadas aos diversos níveis de circulação do patógeno, como também aos

diferentes sistemas de vigilância epidemiológica nas suas definições dos casos.

Imunidade humoral

A vacinação contra *B. pertussis* já não é mais um processo totalmente seguro para manter a proteção contra o patógeno durante toda a vida. Após a implantação dos programas e campanhas de vacinação e análise destes, foi possível demonstrar fidedignamente que esse problema tornou-se prejudicial à saúde das populações a medida em que se aumenta os números de casos da infecção aliada ao aumento da idade dos indivíduos imunizados na infância. Nessas circunstâncias, tornou-se claro que a imunidade inata e/ou adquirida contribui para proteção do indivíduo em um curto período de tempo, em que 10 anos de imunização inicia-se o declínio dos anticorpos formados para o combate do patógeno, apontando o ressurgimento dessa doença em escala global principalmente entre crianças e adultos jovens (GABUTTI *et al.*, 2008).

A produção específica de anticorpos contra *B. pertussis* é crucial para proteção contra a doença. Em razão disso, estudos clínicos que utilizam vacinas acelulares contendo ao menos três antígenos da bactéria, como PT, PRN e fimbrias (FIM) mostram indivíduos com altos níveis de anticorpos, tornando-se mais resistentes ao desenvolvimento da síndrome coqueluchoide de uma forma clínica mais grave quando, por outras razões ambientais, são expostos ao patógeno (GABUTTI *et al.*, 2008).

Estudos experimentais utilizando murinos e seres humanos concluíram que a infecção causada por *B. pertussis* é responsável pelo aumento dos níveis de IgA e IgG. Além disso, em análises comparativas, dados adicionais revelaram que a IgA é a primeira imunoglobulina encontrada na resposta imunológica, o que sugere ser importante para combater a bactéria. Em adição, essas imunoglobulinas também são passadas de mãe para o filho via transferência placentária e na amamentação, mesmo que em concentrações bem menores daquelas após exposição ao patógeno. Por outro lado, camundongos que receberam antígenos de *B. pertussis* por via oral induziram a produção de IgA, porém, não apresentaram níveis satisfatórios de anticorpos o suficiente para imunização quando comparados com os animais que receberam vacinas parentais. Outra alternativa possível se faz por via nasal, com a utilização de vacina atenuada (BPZE1). Esta por sua vez, garante alta grau de proteção em camundongos, e possui a vantagem de induzir resposta imune local, bem como IgG circulante (HIGGS *et al.*, 2012).

Os antissoros contra *B. pertussis* promovem a imunização passiva e, desta forma, conferem um curto quadro sintomático da tosse coqueluche. Sendo assim, esses anticorpos são recursos importantes para fornecer a imunidade a populações susceptíveis ao desenvolvimento da doença, assim como o controle e até mesmo numa visão otimista, a erradicação da coqueluche. Por meio de outras evidências científicas, verificou-se que os resultados dos ensaios clínicos da fase III da vacina antipertussis, introduzida nos anos 1990, com adição de PT e FHA, promoveu níveis relativamente elevados de anticorpos contra o imunizante antigênico (HIGGS *et al.*, 2012).

Em um estudo sobre soroprevalência de anticorpos

igG e IgA de *B. pertussis*, Saffar *et al.* (2012) quantificaram IgG e IgA para *B. pertussis* de 595 indivíduos saudáveis com idades entre 1 e 35 anos. Os autores relataram altos níveis de soroprevalência (72% e 71%, respectivamente) em crianças pré-escolares (<7 anos). Foi observado também que após diminuir as taxas de soroprevalência em crianças entre 7 e 11 anos, as taxas aumentaram para níveis mais altos de 60% e 73% na fase adulta, respectivamente. Dessa forma, o estudo revelou que a imunidade induzida pela vacina é responsável por proteger crianças em idade escolar da infecção natural por coqueluche, porém, a infecção torna-se mais comum entre adolescentes e adultos jovens.

Sadiasa *et al.* (2017) realizaram um estudo sobre a incidência da infecção por *B. pertussis* em 1.152 casos de pneumonia grave em crianças entre 8 dias e 13 anos de idade, hospitalizadas nas Filipinas. O estudo reportou 34 casos positivos para *B. pertussis*. Embora os casos de *B. pertussis* não fossem propensos a febre, os autores relataram episódio de tosse por mais de 1 semana e dificuldade ao respirar. Outros agravos foram evidenciados por diminuição dos sons respiratórios e cianose, além de redução no peso corpóreo. Sendo assim, o estudo mostrou que a taxa de mortalidade foi mais alta do que nos casos negativos para a infecção, demonstrando a necessidade de maior atenção para esta infecção.

Moriuchi *et al.* (2017) demonstraram a alta prevalência de anticorpos para a toxina pertussis em adultos japoneses por meio de uma análise qualitativa e quantitativa. Os autores investigaram os títulos de anticorpos para PT e FHA em crianças pequenas (4-7 anos) e crianças maiores (10-14 anos), e adultos (35-44 anos). Os resultados deste estudo mostraram que os indivíduos adultos, e títulos semelhantes de IgG para FHA, quando comparado aos outros dois grupos de crianças. Embora fosse observado a correlação positiva entre os títulos de anticorpos neutralizante de PT e IgG para PT tenha sido observada nos grupos estudados, verificou-se que a medida que a idade avança, esses títulos tendem a diminuir. Outro dado importante observado foi que adultos também apresentaram imunoglobulinas não IgG para PT, e IgG de alta avidéz para PT (63,5%), semelhante às crianças, e IgG de menor avidéz para FHA (37,9%). Os autores destacaram que, possivelmente, a presença de IgG de baixa avidéz para FHA esteja relacionada com infecções por outros patógenos respiratórios, como, por exemplo, *B. parapertussis*, *Haemophilus influenzae* ou *Mycoplasma pneumoniae*, os quais estimulam a produção de anticorpos semelhantes a FHA.

Imunidade celular

Ao longo dos anos verificou-se por meio de ensaios experimentais que a imunidade celular, conferida por diferentes células do sistema imune, promovem a primeira barreira de proteção contra diversos agentes etiológicos causadores das mais diversas infecções. No caso da infecção por *B. pertussis*, seus antígenos PT, PRN e FHA estimulam a propagação de células mononucleares, reduzindo os sintomas e sinais clínicos. (GABUTTI *et al.*, 2008). Além disso, células Th1, Th2 e interleucinas 12 e 14, parecem ser os melhores componentes para presumir os mecanismos intrínsecos envolvidos na imunidade celular e humoral, uma vez que células Th1 agem sob infecções intracelulares e Th2 combate

patógenos extracelulares (HIGGS *et al.*, 2012).

Em geral, alguns estudos realizados em camundongos imunizados e em seres humanos, têm demonstrado que as vacinas wP e aP conseguem induzir subtipos de células Th1 e Th2 distintas, respectivamente. Atualmente, tem-se descrito que as Treg secretadas impedem a autoimunidade e imunopatologia durante a infecção de Th17 e IL-17, e são patogênicas em muitas doenças inflamatórias, mas também promovem o recrutamento de neutrófilos na imunidade aos fungos e bactérias extracelulares. Além das células Th1, parece que as Treg e Th17 são induzidas pela a infecção de *B. pertussis* e, que, a partir de novos dados que estão surgindo, estas células também podem ter um papel crítico e distinto na patogênese da infecção por *B. pertussis* (HIGGS *et al.*, 2012).

Segundo Zorzeto (2008) a infecção de crianças com *B. pertussis* são iniciadas pelas células TCD4⁺ específicas para PT, FHA e PRN. Além disso, as células T encontradas no sangue periférico de crianças com coqueluche ou durante sua recuperação foram identificadas secretando IFN- γ e IL-2, mas pouco ou nenhuma IL-4 ou IL-5. Essas informações corroboram com outros estudos, e sugerem que a infecção por *B. pertussis* produza clone de Th1, mas não células Th2 em crianças. Dessa forma, os clones de células T específicas para PT, FHA, PRN, ou derivado de um doador adulto que tinha sofrido da síndrome coqueluchóide, apresentaram perfil de citocinas característico de células Th1. Além disso, verificou-se que as respostas Th1 específica para *B. pertussis* foram detectadas em crianças sem histórico de coqueluche, como também em adultos sem história de vacinação de ter aquisição da doença. Nesse caso, podemos entender que se torna possível que a exposição natural e o desenvolvimento da coqueluche em sua forma subclínica podem ajudar amanter a imunidade em longo prazo em indivíduos previamente infectados ou imunizados.

White (2010) e Higgs *et al.* (2012) reportam que a imunização de crianças com vacinas de células inteiras, como a infecção natural, induz a produção de células CD4⁺ específicas para *B. pertussis* e secretam IFN- γ . Mesmo que um relatório conclusivo enfatize que a vacina acelular também induz a produção células Th1, outros estudos de vários laboratórios independentes demonstraram que a imunização primária com vacina acelular, geram células T com diferenciação para células Th1 e Th2 ou mista com perfil de citocinas Th2. Além disso, a administração de uma quarta ou quinta imunização de reforço, significativamente, melhora a produção de Th2 e induz produção de IgE. Nessa perspectiva, o perfil Th1 induzida com a vacina de células inteiras, foi ampliado para um perfil Th1/Th2 misto após o reforço com aP. Dessa forma, a análise das respostas de células T em crianças em intervalos após extensas imunizações demonstrou persistência das respostas de células T em uma proporção elevada de indivíduos. No entanto, as reações da administração da vacina, incluindo vermelhidão e inchaço dos membros, têm sido relatadas em crianças depois de uma quinta dose de aP. Como resposta por Th2 são particularmente pronunciadas após a vacinação de reforço com aP, é possível que as reações locais possam estar relacionadas à hipersensibilidade mediada por este tipo celular.

Segundo Higgs *et al.* (2012) uma preocupação a respeito da imunidade para *B. pertussis* e o desenvolvimento

eficaz de subunidade ou até mesmo na produção de vacinas acelulares é a produção de PT, TCT, ACT, toxina termo-lábil, e endotoxina ou LPS, além de outros fatores de virulência como os receptores de ligação, incluindo Hemaglutinina Filamentosa, pertactina, e as fimbrias, que são conhecidos por contribuir para a patogênese, ao mesmo tempo em que a maioria são alvos antigênicos de anticorpos e células T. Além disso, muitas dessas toxinas e fatores de virulência contribuem para a promoção da sobrevivência de bactérias no trato respiratório, subvertendo as respostas imunes do hospedeiro.

Considerações Finais

Verifica-se, portanto, que os fatores de virulência de *B. pertussis* estão associados à supressão e modulação da resposta imunológica do hospedeiro a qual pode depender do perfil de Th17. Mesmo que a evolução tenha favorecido as relações de interação junto aos fatores de virulência e mecanismos imunomoduladores da resposta imune entre hospedeiro e patógeno, percebe-se que esse avanço também é responsável pela patologia grave da doença associada à infecção por *B. pertussis*.

Mais estudos randômicos e sistemáticos são cruciais para acompanhar crianças imunizadas desde a primeira vacinação com aP, no sentido de se detectar as citocinas induzidas em todos os momentos da resposta imunológica, bem como revelar pontualmente a influência de células CD4⁺ e T, incluindo Th1, Th2 e Th17 na proteção imunológica contra *B. pertussis*, além de verificar quais antígenos vacinais são mais efetores no combate da coqueluche humana.

Referências

- ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H.; PILLAI, S. **Imunologia celular e molecular**. 15. Ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008, 564p.
- ANDREASEN, C.; CARBONETTI, N. H. *Pertussis toxin inhibits early chemokine and production to delay neutrophil recruitment in response to Bordetella pertussis respiratory tract infection in mice*. **Infect Immun**. v.76, n.11, p.5139-48, 2008.
- AUSIELLO, C. M.; CASSONE, A. *Acellular Pertussis Vaccines and Pertussis Resurgence: Revise or Replace?* **mBio**. vol. 5, n. 3, p. 1-4, 2014.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Programa Nacional de imunizações 30 anos**. rev. Brasília: Ministério da Saúde. 2003.
- _____. **Vigilância em saúde no SUS: _____ a capacidade de resposta aos velhos e novos desafios**. rev. Brasília: Ministério da Saúde. 2006.
- _____. **Guia de vigilância epidemiológica**. 7. ed. rev. Brasília: Ministério da Saúde. 2009.
- _____. Secretaria de Vigilância em Saúde, Ministério da Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Doenças Infecciosas e Parasitárias: Guia de bolso**. 4. ed.

ver. Brasília: Ministério da Saúde. 2010.

CARBONETTI, N. H. Pertussis toxin and adenylate cyclase toxin: key virulence factors of *Bordetella pertussis* and cell biology tools. **Future Microbiol.** v. 5, p. 455-469, 2010.

CASIMIRO, A. *et al.* Novas estratégias de prevenção da tosse convulsa. **Acta Pediatr Port.** v.42, n. 4, p. 164-171. 2011.

CDC. Centers for Disease Control and Prevention. Guidelines for the Control of Pertussis Outbreaks. Centers for Disease Control and Prevention: Atlanta, GA, 2012.

ELIAS, C. D. *et al.* Caso fatal de coqueluche em um lactente. **Pulmão RJ.** v.18, n. 3, p. 155-157. 2009.

FEDELE, G. *et al.* T-Cell immune responses to *Bordetella pertussis* infection and vaccination. **FEMS Pathogens and Disease.** v. 73, p.1-9. 2015.

FEDELE, G. *et al.* *Bordetella pertussis*-Infected human monocyte-derived dendritic cells undergo maturation and induce Th1 polarization and interleukin-23 expression. **Infect. Immun.** v. 73, n. 3, p. 1590, 2005.

GABUTTI, G. *et al.* Assessment of humoral and cell-mediated immunity against *Bordetella pertussis* in adolescent, adult, and senior subjects in Italy. **Epidemiol Infect.** v. 136, n. 11, p. 1576–1584, 2008.

GIOVANNI, G. *et al.* Pertussis current perspectives on epidemiology and prevention. **Human Vaccin Immunother.** v.11, n. 1, p. 108-117, 2015.

GUIMARÃES, L. M. *et al.* Increasing incidence of pertussis in Brazil: a retrospective study using surveillance data. **BMC Infect Dis.** v. 15, n. 442, p. 1-12, 2015.

GUO, Q. *et al.* Protein-protein docking and analysis reveal that two homologous bacterial adenylyl cyclase toxins interact with calmodulin differently. **Journal of Biological Chemistry.** v. 283, n.35, p. 23836-23845, 2008.

HEWLETT, E. L. *et al.* Pertussis pathogenesis--what we know and what we don't know. **J Infect Dis.** v. 209. p. 982-985, 2017.

HIGGS, R. *et al.* Immunity to the respiratory pathogen *Bordetella pertussis*. **Mucosal Immunol.** v. 5, p. 485-500, 2012.

KLEIN, N. P. *et al.* Waning protection after fifth dose of acellular pertussis vaccine in children. **N. Engl. J. Med.** v. 367, p. 1012-1019, 2012.

KONEMAN, E. W. *et al.* **Diagnóstico Microbiológico: texto e atlas colorido.** 6. ed., Rio de Janeiro: Medsi, 2008.

LIBSTER, R.; EDWARDS, K. M. Re-emergence of pertussis: what are the solution? **Expert Rev Vaccines.** v. 11, n. 11, p.

1331-1346, 2012.

LOCHT, C.; ANTOINE, R.; JACOB-DUBUILSSON, F. *Bordetella pertussis*, molecular pathogenesis under multiple aspects. **Current Opinion in Microbiology.** v. 4, p. 82-89, 2001.

LOEFFELHOLZ, M. *Bordetella.* In **Manual of Clinical Microbiology.** ASM Press, Washington, D.C. p. 780-788. 2008.

LUZ, P. M. *et al.* A reemergência da coqueluche em países desenvolvidos: um problema também para o Brasil? **Cad Saúde Pública.** v. 19, n. 4, p. 1209-1213, 2003.

MACHADO, P. R. L. *et al.* Mecanismos de resposta imune às infecções. **An bras Dermatol.** v. 79, n. 6, p. 647-66, 2004.

MARTINS, D. S. **Detecção da *Bordetella pertussis* e *Bordetella parapertussis* através técnica de Reação de Cadeia da Polimerase e análise da prevalência no hospital de Clínicas de Porto Alegre.** 2006. 68 f. Dissertação de Mestrado. (Mestrado em Ciências Médicas). Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2006.

MIELCAREK, N. *et al.* Live attenuated *B. pertussis* as a single nasal vaccine against whooping cough. **Plos Pathog.** v. 2, p. 65, 2006.

HIGGS *et al.* Immunity to the respiratory pathogen *Bordetella pertussis*. **Mucosal Immunology.** n. 5. p. 485-500, 2012.

MOON, K. *et al.* The BvgAS regulon of *Bordetella pertussis*. **MBio.** v.8, n. 5, 2017.

MORIUCHI, T. *et al.* A high seroprevalence of antibodies to pertussis toxin among Japanese adults: Qualitative and quantitative analysis. **PLoS ONE.** v. 12, n. 7, 2017.

MUSSI-PINHATA, M. M.; REGO, M. A.C. Immunological peculiarities of extremely preterm infants: a challenge for the prevention of nosocomial sepsis. **J. Pediatr.** v. 81, n.1, p. 59-68, 2005.

PALUCKA, K.; BANCHEREAU, J. How dendritic cells and microbes interact to elicit or subvert protective immune responses. **Curr. Opin. Immunol.** v. 14, p. 420-431, 2002.

PARKHILL, J. *et al.* Comparative analysis of the genome sequences of *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* and *Bordetella bronchiseptica*. **Nat Rev Genet.** v. 35, n. 1, p. 32-40, 2003.

PEREIRA, M. A. D.; BARBOSA, S. R.S. O Cuidar de Enfermagem na Imunização: os mitos e verdade. **Rev. Meio Amb. Saúde.** v. 2, n. 1, p. 76-88, 2007.

ROSETTI, A. S. *Bordetella pertussis*: Participação da Arginase, TGF – beta e TL no controle da síntese de óxido

nítrico em macrófagos derivados de medula óssea murina. **Dissertação de mestrado**. Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

SADIASA, A. *et al.* *Bordetella pertussis* infection in children with severe pneumonia, Philippines, 2012-2015. **Vaccine**. v. 15, n. 7, p. 993-996, 2017.

SAFFAR, M. J. *et al.* *Bordetella pertussis* IgG and IgA antibodies seroprevalence among 1-35 y-old population: the role of subclinical pertussis infection. **Indian J Pediatr**. v. 79, n. 3, p. 353-357, 2012.

SATO, Y. *et al.* Aerosol infection of mice with *Bordetella pertussis*. **Infect Immun**. v. 29, p. 261-266, 1980.

SEALEY, K. L. *et al.* A *Bordetella pertussis* epidemiology and evolution in the light of pertussis resurgence. **Infect. Genet. Evol.** v. 40, p. 136-143, 2016.

SMITH, A. M.; GUZMÁN, C. A.; WALKER, M. J. The virulence factors of *Bordetella pertussis*: a matter of control. **FEMS Microbiol**. v. 25, p. 309-333, 2001.

STANCIK, M. A. Coqueluche: interpretações, controvérsias e terapêuticas. **Ea-journal**. v. 2, n. 1. p. 1850-1950, 2010.

TILLEY, P. A. *et al.* Detection of *Bordetella pertussis* in a clinical laboratory by culture, PCR, and direct fluorescent antibody staining; accuracy, and cost. **Diagn Microbiol Infect Dis**. v. 37, n. 1, p. 17-23, 2007.

TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F. **Microbiologia**, São Paulo: Atheneu, 2008.

TREVIZAN, S.; COUTINHO, S. E. D. Perfil epidemiológico da coqueluche no Rio Grande do Sul, Brasil: estudo da correlação entre incidência e cobertura vacinal. **Cad. Saúde Pública**. v. 24, n. 1, p. 93-102, 2008.

WEIGAND, M. R. *et al.* The history of *Bordetella pertussis* genome evolution includes structural rearrangement. **J. Bacteriol**. v. 199, n. 8, p. 1-15, 2017.

WHITE, O. J. *et al.* Th2-polarisation of cellular immune memory to neonatal *pertussis* vaccination. **Vaccine**. v. 29, p. 2648-2652, 2010.

WHO. Geneva: WHO; 2014. Global and regional immunization profile.

ZORZETO, T. Q. **Resposta humoral e celular de lactentes vacinados com pertussis celular total ou modificada pela extração de lipopolissacarídeo**. 2008. 90f. Dissertação (mestrado) -Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Ciências Médicas, Campinas, SP.

Recebido em: 30/12/2017

Aceito em: 20/11/2018