



Bordetella pertussis: reemergente

Cervantes García Estrella*

Palabras clave:
Bordetella pertussis,
 factores de virulencia,
 vacunas.

Key words:
Bordetella pertussis,
 virulence factors,
 vaccine.

RESUMEN

A pesar de las estrategias de vacunación a nivel mundial, *Bordetella pertussis* es un problema de salud pública: sigue siendo una enfermedad reemergente poco prevenible por la vacuna a nivel mundial. El objetivo de este trabajo fue describir los mecanismos de virulencia asociados con la infección y la evasión de la bacteria a la respuesta inmune; además, conocer su reemergencia a nivel mundial. Los estudios recientes muestran que ha aumentado el riesgo de contraer la infección por *B. pertussis*, la cual sigue presentándose en adolescentes y adultos debido a una respuesta inmune deficiente inducida por la vacunación y la infección natural. En la actualidad, esta enfermedad está reemergiendo en el mundo, por lo que es necesario realizar un diagnóstico oportuno para indicar un tratamiento eficaz.

ABSTRACT

Despite vaccination strategies worldwide, *Bordetella pertussis* has become a public health problem; it remains one of the least vaccine-preventable diseases in the world, with extensive coverage of vaccination. In this article, the main mechanisms of virulence associated with the infection through which the bacterium manages to evade the immune response are described, as well as a current picture of the state of immunization against *B. pertussis* and the problem of its re-emergence worldwide. As confirmed by recent studies, the increased risk of *B. pertussis* infection continues to occur in adolescents and adults due to the decrease in the immune response induced by vaccination and natural infection. Current information indicates that whooping cough is re-emerging around the world; therefore, a timely diagnosis and treatment are necessary.

INTRODUCCIÓN

En la era prevacunal las epidemias por *pertussis* ocurrieron a nivel mundial; presentaban un patrón cíclico, con picos de incidencia cada dos a cinco años. La enfermedad afectaba principalmente a niños, que representaban la mayor fuente de transmisión. La tos ferina aún es un problema endémico mundial, no sólo en países en vías de desarrollo, sino también en los países desarrollados. *Pertussis* (tosferina) es una infección respiratoria aguda causada por la bacteria *Bordetella pertussis*. En la última década ha reemergido como un problema de salud pública; varios países han experimentado un aumento en el número de casos por *pertussis*, incluyendo Estados Unidos, donde el número de casos reportados en 2012 fue muy alto.^{1,2} La reemergencia de *pertussis* sigue presentándose a pesar del programa de vacunación. Sin embargo, el uso efectivo de la vacuna con la célula entera se ha descontinuado en la mayoría de los países desarrollados debido a la reactividad que produce, por lo que se empezó a utilizar la vacuna acelular de *pertussis*, que no

presenta reactividad. En la actualidad, hay discusión sobre la creación de nuevas vacunas y las estrategias de vacunación.^{3,4}

B. pertussis se transmite por aerosoles de personas infectadas al toser o estornudar. La enfermedad puede ser más severa en niños pequeños, con problemas respiratorios complicados como apnea y neumonía, así como una marcada leucocitosis e hipertensión pulmonar; se requiere hospitalización y tratamiento en cuidados intensivos debido a que existe un gran número de muertes en este grupo de edad.^{5,6}

Patogenia: La enfermedad inicia con un periodo de incubación de entre seis y 21 días, en promedio, 10. Posteriormente, viene un periodo de una a dos semanas de duración, denominado **fase catarral**, que puede confundirse con otras infecciones respiratorias como un cuadro gripal o un resfriado común. En esta etapa, la tasa de la diseminación de la enfermedad es mayor; de ahí su importancia epidemiológica. Durante este periodo, la carga bacteriana en la nasofaringe del paciente infectado es alta y, con frecuencia, debido a lo inespecífico del cuadro, no se toman medidas de control de la

* Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina, UNAM.

Correspondencia:
 Dra. Estrella
 Cervantes García
 5.º piso, Edificio de Investigación,
 Cubículo 1.
 Tel.: 56232134
 Cel.: 5521918733
 E-mail:
 estrellacervantes@yahoo.com

Recibido:
 09/04/2018
 Aceptado:
 19/04/2018

enfermedad, como el aislamiento del paciente o la instauración de tratamiento antibiótico. **La segunda fase es la paroxística**, con una duración de tres a seis semanas; se caracteriza por accesos de tos repetitivos, violentos, que impiden que el paciente respire; hay vómitos después de toser, cianosis y apnea, seguidos de un estridor inspiratorio característico. Al finalizar la fase es frecuente la eliminación de mucosidad clara y blanquecina seguida de vómitos. Los pacientes, en general, presentan una marcada leucocitosis, con pérdida de peso. En la fase de convalecencia, la enfermedad va disminuyendo en severidad; esta etapa puede durar varios meses.^{6,7} Factores que lo condicionan son la edad del paciente, el estado de vacunación, el tratamiento con antibióticos y la coinfección con otros microorganismos.⁸ En niños menores de seis meses, la enfermedad evoluciona generalmente a tos y cianosis, sin estridores; por lo general, se acompaña de apnea y bradicardia profundas. La enfermedad en niños mayores, adolescentes y adultos jóvenes ya inmunizados se presenta en forma atípica; los pacientes manifiestan tos persistente y prolongada (durante semanas o meses), o puede pasar por completo desapercibida.^{7,9}

Factores de virulencia: Estudios recientes han brindado nuevos datos en el papel y actividad de varios factores de virulencia de *B. pertussis*, como los describimos a continuación:

Las adhesinas

Hemaglutinina filamentosa (FHA) es un factor de adherencia importante de *B. pertussis*. Es una proteína que no sólo está involucrada en la adhesión a células del hospedero, sino también entre células bacterianas, lo que permite la formación de microcolonias y biofilm. Se ha demostrado que esta proteína está implicada en la colonización traqueal y en la adherencia e invasión de *B. pertussis* a macrófagos y células epiteliales, aunque también se cree que tiene funciones inmunomoduladoras. Recientemente, se demostró la habilidad de *B. pertussis* para inhibir la proliferación de los linfocitos T. Además, esta proteína interactúa con los receptores de macrófagos; parece inhibir la liberación de la citocina proinflamatoria IL-12 dependiente de IL-10. De esta manera, FHA facilita la persistencia, inhibiendo la respuesta inmune protectora Th1. FHA también es capaz de inducir un proceso apoptótico en monocitos y células epiteliales de pulmón.^{10,11}

Las **fimbrias** son estructuras filamentosas de naturaleza proteica; se encuentran en la superficie de la bacteria. Varios estudios sugieren que las fimbrias median la unión de *Bordetella* al epitelio ciliado y a monocitos por medio de las subunidades fimbriales mayores y mediante FimD, respec-

tivamente. Las proteínas que forman la estructura helicoidal de las fimbrias se unen a receptores heparán-sulfato, sulfato de condroitina y dextrán-sulfato, azúcares distribuidos con amplitud en el tracto respiratorio de los mamíferos, median-do de esta manera la función de adhesina. Las subunidades menores, consideradas adhesinas, son capaces de unirse a la integrina $\alpha 5$ presente en la superficie de monocitos. Los antígenos fimbriales están codificados por los genes *fim 2* y *fim 3*, por lo que los aislamientos de *B. pertussis* se clasifican en los serotipos de fimbria 2, 3 o 2-3. Las proteínas Fim2 y Fim3 inducen anticuerpos aglutinantes y contienen epítomos antigénicos únicos, lo que les da especificidad serológica; estos anticuerpos se han correlacionado con la inmunidad anti-*pertussis* después de la aplicación de vacunas celulares. La serotipificación de las cepas circulantes con base en los antígenos fimbriales se ha empleado en estudios epidemiológicos y la información obtenida de estos trabajos marca la evolución de las cepas circulantes, sobre todo en relación con la historia de vacunación de cada país. Más aún, los datos de cambios de serotipo fimbrial han sido de utilidad para las recomendaciones en el empleo de cepas para la formulación de vacunas. En el año 1979, la Organización Mundial de la Salud (OMS) sugirió el empleo de vacunas celulares que contuvieran cepas con serotipos fimbriales 2, 3.⁸⁻¹¹

Toxinas

Toxina de *pertussis* (PT) es una toxina A-B-toxina conformada por cinco subunidades (S1 a S5), en la cual la subunidad S1 es la porción activa y las subunidades S2-S5 son la encargadas de unirse con los receptores en las células blanco. Una vez que PT se une a la membrana, la subunidad tóxica (S1) se inserta y cataliza la 5'ADP ribosilación de una proteína de membrana; esta proteína es parte del complejo regulador de nucleótidos de guanina llamado Gi y está relacionada con el control de la adenilato ciclase intracelular. PT cataliza la hidrólisis del NAD-ADP-ribosa nicotinamida. El dominio A contiene esta actividad en S1. Al ser ribosilada por efecto de la toxina, impide su función reguladora y acumula AMPc intracelular. Causa linfocitosis de células T; además, tiene propiedades adyuvantes. También causa hipoglucemia, incremento en la síntesis de IgE, de histamina y sensibilidad a la endotoxina. El microorganismo inhibe las funciones del leucocito, incluyendo la quimiotaxis, fagocitosis y el estallido respiratorio oxidativo, y desacopla la función de las células NK. Contribuye también a la unión bacteriana con las células epiteliales ciliadas. Ejerce muchos de sus efectos por adición de ADP-ribosa a la proteína Gi, que es una proteína de unión al GTP; de este modo, previene la desactivación de la adenil-ciclase; esto da como resultado

la acumulación de altas cantidades de AMP cíclico, lo que conduce a un aumento en la secreción de moco.

Toxina citotraqueal (TCT) es un monómero disacárido tetrapéptido (N-acetilglucosamin1,6-anhidro-N-acetilmuramilo-(L)-alanil--(D)-glutamilo mesodiaminopimelil-(D)-alanina) parecido al peptidoglucano presente en todos los microorganismos Gram negativos; en el caso de *Bordetella*, TCT se libera al medio extracelular de manera constitutiva e independiente del control del sistema de dos componentes designado como BvgAS. La TCT produce la citopatología característica de la infección de *pertussis* en las células ciliadas del tejido traqueal. El lipopolisacárido desarrolla una sinergia sobre la acción de esta proteína, induciendo la producción de IL-1 α por las células no ciliadas traqueales, sintetizando óxido nítrico sintetasa (NO). El NO generado produce la destrucción de las células ciliadas traqueales sensibles a su efecto. Estos radicales destruyen enzimas dependientes de iones y eventualmente inhiben la función mitocondrial y la replicación del ADN de las células epiteliales ciliadas que se encuentran en contacto con la bacteria. Además, la toxina actúa sobre otras células inhibiendo la quimiotaxis y el metabolismo oxidativo de neutrófilos, lo que podría contribuir a la persistencia de *B. pertussis* en el hospedero.⁸⁻¹¹

La **toxina adenilato ciclasa-hemolisina (TAC)** es uno de los principales factores de virulencia de *B. pertussis*. Pertenecen a la familia de las toxinas que forman poros en la membrana plasmática de las células diana y alcanza su máxima expresión en la fase virulenta de la bacteria. Esta toxina posee 1,706 residuos de aminoácidos y se compone de dos dominios: uno N-terminal, con actividad adenilato ciclasa activada por la calmodulina, y otro C-terminal, que promueve la formación de poros en la membrana de las células diana. Por otra parte, las moléculas α M β 2 tipo integrina se unen al receptor del complemento 3 (CR3, también conocido como CD11/CD18), son los receptores naturales para la toxina, a los cuales se une por la porción extracelular N-glucosilada. TAC le permite a la bacteria inhibir la fagocitosis, la activación de las células T colaboradoras tipo 1 y células T citotóxicas, así como la producción de interferón gamma por macrófagos. A pesar de sus efectos tóxicos, la forma inactiva de la toxina es empleada en la entrega de epítopos inmunogénicos a las células presentadoras de antígenos, en la identificación de proteínas secretadas por el sistema de secreción tipo III y en estudios de interacción proteína-proteína.

Toxina dermonecrótica (TDN) pertenece a la familia de las toxinas clásicas A-B; fue el primer factor de virulencia descrito por Bordet y Gengou. Se le denominó así por su capacidad de producir lesiones necróticas en piel cuando se inyecta subcutáneamente en animales de experimentación como conejos, ratones y cobayos. Es un

polipéptido simple de 160 kDa que se encuentra asociado al citoplasma bacteriano y cuya secuencia de aminoácidos presenta 99% de similitud entre los miembros de las especies del género. En *B. pertussis* se ha observado que mutantes que carecen de TDN son tan virulentos como las bacterias silvestres. En su extremo N-terminal se encuentra el dominio de unión a células eucariotas, mientras que en el extremo C-terminal está la actividad catalítica de esta proteína.⁸⁻¹¹

Lipopolisacárido (LPS). El lipopolisacárido de *B. pertussis* tiene las mismas actividades biológicas que el de otras bacterias Gram-negativas: pirogenicidad, toxicidad e inducción inespecífica de interferón. Está compuesto de dos lípidos llamados «A» y «X» y dos cadenas de oligosacáridos. La fracción X posee la actividad clásica de las endotoxinas, el lípido A tiene menor pirogenicidad, pero es un potente coadyuvante y estimula la producción de interleucina 1.

Sistemas de secreción de tipo III (TTSS). Recientemente se demostró la presencia de SSTIII en *B. pertussis*, en el *locus bsc*; se han identificado cuatro proteínas cuyos genes forman parte del *locus bsc*: BopB, BopD, BopN y Bsp22. Panina y colaboradores sugieren que el sistema de secreción de tipo III sirve para secretar los factores de virulencia al medio.⁸⁻¹¹

Emergencia de cepas de *B. pertussis*

Existen evidencias que demuestran que las cepas de *B. pertussis* circulantes han sufrido cambios genéticos significativos comparados con las cepas usadas en la era de las prevacunas y las cepas de la vacuna con la célula entera.^{12,13} Se pensó que se debía a la presión de la respuesta inmune a la vacuna, así como la reemergencia de cepas mutantes que escapan a la vacuna, que han aumentado su virulencia. Los estudios realizados por Preston y su grupo en dos brotes, uno en 2012 en el Reino Unido y otro a nivel mundial, encontraron que los genes que codifican los antígenos de la vacuna acelular (toxina *pertussis* [Ptx], pertactina [prn], Fha [fha] y las fimbrias [fim]) presentan una tasa más alta de éstas que los genes que codifican otros antígenos de superficie no incluidos en la vacuna.¹⁴ Los análisis genómicos demostraron que la vacuna acelular codifica genes antigénicos que contribuyen a la reemergencia de *pertussis* en las epidemias de varios países.

Una tasa baja de la respuesta inmune en la era de las prevacunas y la vacuna con la célula entera sugirió que la inmunidad se debía a la infección natural y/o a la vacuna, la cual fue dirigida a un pequeño número de antígenos, o que los cambios en estos antígenos fueron suficientes para incrementar la virulencia, superando la respuesta inmune. Un ejemplo son las mutantes que escapan a la vacuna, con

la pérdida de la expresión de la pertactina (Pn). En la década pasada reportaron el surgimiento de cepas deficientes en Pn, que ocurren de forma natural y cuya frecuencia ha ido aumentando, predominando en varias partes del mundo.^{12,13} Estudios desarrollados en infecciones en el modelo de ratón indican que estas cepas muestran una selección debido al uso de la vacuna acelular y que estas cepas tienen una ventaja selectiva sobre las cepas que la expresan.¹⁴ También se ha descrito la existencia de cepas de *B. pertussis* deficientes en Fha o de la toxina *pertussis* (Ptx).^{15,16}

Sin embargo, la pérdida en la diseminación de *B. pertussis* por el surgimiento de cepas deficientes en las toxinas Fha y Ptx con la vacuna acelular sugiere que estos factores de virulencia son importantes para la patogenicidad y/o transmisión de la bacteria.

Otro factor son los cambios genéticos en las cepas de *B. pertussis* que circulan en la actualidad, que han aumentado la virulencia de estas cepas y disminuido la efectividad de las vacunas acelulares. Los estudios de Mooi y sus colegas identificaron y analizaron un grupo nuevo de cepas de *B. pertussis* caracterizadas por el gen promotor ptx del alelo ptxP3, diferente del que predominaba previamente, ptxP1.^{17,18}

Las cepas que contienen ptxP3 predominan a nivel mundial; además, el mismo grupo de investigadores encontraron que las cepas ptxP3 producen un poco más Ptx que las cepas ptxP1. Concluyeron que Ptx es un factor de virulencia esencial de *B. pertussis*.^{19,20}

Sin embargo, aún no se tiene claro si las cepas ptxP3 son más virulentas que ptxP1, debido a que se han hecho estudios con pocas cepas. En estudios recientes en niños hospitalizados por *pertussis* se encontró una asociación significativa entre las cepas ptxP3 y la enfermedad severa.²¹

CONCLUSIONES

Bordetella pertussis está reemergiendo como un problema serio de salud pública en muchas partes del mundo, a pesar del uso de la vacuna. No obstante los años de investigación sobre este patógeno, aún existe un gran número de huecos en el conocimiento sobre los factores de virulencia de *B. pertussis*, por lo que es necesario realizar más estudios que ayuden a entender mejor la relación entre el genotipo de la cepa ptxP3 y su virulencia; esto proporcionará en un futuro cercano un mejor entendimiento de *pertussis* para el desarrollo de nuevas vacunas y terapias efectivas.

REFERENCIAS

- Gambhir M, Clark TA, Cauchemez S, Tartof SY, Swardlow DL, Ferguson NM. A change in vaccine efficacy and duration of

- protection explains recent rises in *pertussis* incidence in the United States. PLoS Comput Biol. 2015; 11 (4): e1004138.
- Centers for Disease Control and Prevention. *Pertussis*. In: Atkinson W, Wolfe S, Hamborsky J, editors. Epidemiology and prevention of vaccine-preventable diseases. Washington DC: Public Health Foundation; 2012. pp. 215-232.
- Cherry JD. Why do *pertussis* vaccines fail? Pediatrics. 2012; 129 (5): 968-970.
- Bart MJ, Harris SR, Advani A, Arakawa Y, Bottero D, Bouchez V et al. Global population structure and evolution of *Bordetella pertussis* and their relationship with vaccination. MBio. 2014; 5 (2): e01074.
- Warfel JM, Beren J, Merkel TJ. Airborne transmission of *Bordetella pertussis*. J Infect Dis. 2012; 206 (6): 902-906.
- Paddock CD, Sanden GN, Cherry JD, Gal AA, Langston C, Tatti KM et al. Pathology and pathogenesis of fatal *Bordetella pertussis* infection in infants. Clin Infect Dis. 2008; 47 (3): 328-338.
- Preston A, Maskell DJ. A new era of research into *Bordetella pertussis* pathogenesis. J Infect. 2002; 44 (1): 13-16.
- Hewlett EL, Burns DL, Cotter PA, Harvill ET, Merkel TJ, Quinn CP et al. *Pertussis* pathogenesis —what we know and what we don't know. J Infect Dis. 2014; 209 (7): 982-985.
- Melvin JA, Scheller EV, Miller JF, Cotter PA. *Bordetella pertussis* pathogenesis: current and future challenges. Nat Rev Microbiol. 2014; 12 (4): 274-288.
- He Q, Mertsola J. Factors contributing to *pertussis* resurgence. Future Microbiol. 2008; (3): 329-339.
- Carbonetti NH. *Bordetella pertussis*: new concepts in pathogenesis and treatment. Curr Opin Infect Dis. 2016; 29 (3): 287-294.
- De Gouw D, Diavatopoulos DA, Bootsma HJ, Hermans PW, Mooi FR. *Pertussis*: a matter of immune modulation. FEMS Microbiol Rev. 2011; 35 (3): 441-474.
- Belcher T, Preston A. *Bordetella pertussis* evolution in the (functional) genomics era. Pathog Dis. 2015; 73 (8): ftv064.
- Safarchi A, Octavia S, Luu LD, Tay CY, Sintchenko V, Wood N et al. Pertactin negative *Bordetella pertussis* demonstrates higher fitness under vaccine selection pressure in a mixed infection model. Vaccine. 2015; 33 (46): 6277-6281.
- 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; 27 (43): 6034-6041.
- Bouchez V, Hegerle N, Strati F, Njamkepo E, Guiso N. New data on vaccine antigen deficient *Bordetella pertussis* isolates. Vaccines (Basel). 2015; 3 (3): 751-770.
- Mooi FR, Van Der Maas NA, De Melker HE. *Pertussis* resurgence: waning immunity and pathogen adaptation —two sides of the same coin. Epidemiol Infect. 2014; 142 (4): 685-694.
- King AJ, van Gorkom T, Pennings JL, van der Heide HG, He Q, Diavatopoulos D et al. Comparative genomic profiling of Dutch clinical *Bordetella pertussis* isolates using DNA microarrays: identification of genes absent from epidemic strains. BMC Genomics. 2008; 9: 311.
- Mooi FR, van Loo IH, van Gent M, He Q, Bart MJ, Heuvelman KJ et al. *Bordetella pertussis* strains with increased toxin production associated with *pertussis* resurgence. Emerg Infect Dis. 2009; 15 (8): 1206-1213.
- Coutte L, Locht C. Investigating *pertussis* toxin and its impact on vaccination. Future Microbiol. 2015; 10 (2): 241-254.
- 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. 2016; 72 (2): 171-178.