



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA TROPICAL

ANALÍRIA MORAES PIMENTEL

**PREVALÊNCIA DA COQUELUCHE E AVALIAÇÃO DA REAÇÃO EM  
CADEIA DE POLIMERASE EM TEMPO REAL PARA SEU DIAGNÓSTICO  
EM ADOLESCENTES E ADULTOS COM TOSSE PROLONGADA  
ASSISTIDOS EM UNIDADES DE SAÚDE DA REDE PÚBLICA DA CIDADE  
DO RECIFE**

Recife

2012

ANALÍRIA MORAES PIMENTEL

**PREVALÊNCIA DA COQUELUCHE E AVALIAÇÃO DA REAÇÃO EM CADEIA DE  
POLIMERASE EM TEMPO REAL PARA SEU DIAGNÓSTICO EM  
ADOLESCENTES E ADULTOS COM TOSSE PROLONGADA ASSISTIDOS EM  
UNIDADES DE SAÚDE DA REDE PÚBLICA DA CIDADE DO RECIFE**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos para a obtenção do Título de Doutor em Medicina Tropical.

**Área de Concentração:** Doenças Infecciosas e Parasitárias

**Orientadora:** Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Vera Magalhães da Silveira MD, PhD.

**Coorientador:** Prof.<sup>o</sup> Dr. Paulo Neves Baptista Filho MD, PhD.

Recife

2012

Catálogo na fonte  
Bibliotecária Gláucia Cândida, CRB4-1662

- P644p Pimentel, Analíria Moraes.  
Prevalência da coqueluche e avaliação da reação em cadeia de polimerase em tempo real para seu diagnóstico em adolescentes e adultos com tosse prolongada assistidos em unidades de saúde da rede pública da cidade do Recife / Analíria Moraes Pimentel. – Recife: O autor, 2012.  
127 folhas: il. ; 30 cm.
- Orientador: Vera Magalhães da Silveira.  
Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco, CCS, Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical, 2012.  
Inclui bibliografia, apêndices e anexos.
1. Coqueluche. 2. Adolescentes. 3. Adulto. 4. Prevalência. 5. Diagnóstico. I. Silveira, Vera Magalhães da (Orientador). II. Título.
- 618.9883 CDD (23.ed.) UFPE (CCS2012-192)



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA TROPICAL

**REITOR**

Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

**PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO**

Francisco de Souza Ramos

**DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE**

José Thadeu Pinheiro

**COORDENADOR DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA TROPICAL**

Maria Rosângela Cunha Duarte Coelho

**VICE-COORDENADOR DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA TROPICAL**

Valdênia Maria Oliveira de Souza

**CORPO DOCENTE**

Ana Lúcia Coutinho Domingues

Célia Maria Machado Barbosa de Castro

Edmundo Pessoa de Almeida Lopes Neto

Fábio André Brayner dos Santos

Heloísa Ramos Lacerda de Melo

Maria Amélia Vieira Maciel

Maria de Fátima Pessoa Militão de Albuquerque

Maria do Amparo Andrade

Maria Rosângela Cunha Duarte Coelho

Marli Tenório Cordeiro

Ricardo Arraes de Alencar Ximenes

Valdênia Maria Oliveira de Souza

Vera Magalhães da Silveira

Vlaúdia Maria Assis Costa



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO (UFPE)  
PRÓ-REITORIA PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO (PROPESQ)  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE (CCS)  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA TROPICAL (PPGMEDTROP)

## RELATÓRIO DA BANCA EXAMINADORA DA TESE DA DOUTORANDA

### ANALÍRIA MORAES PIMENTEL

No dia 10 de agosto de 2012, às 08h00, no Auditório do Depto. de Enfermagem do Centro de Ciência da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco (CCS/UFPE), os Membros Doutores: a Profª. Drª. Maria Amélia Vieira Maciel (Presidente da Banca - UFPE), o Prof. Dr. Gabriel Wolf Oselka (USP), a Profª. Drª. Gisélia Alves Pontes da Silva (UFPE), o Prof. Dr. Emanuel Sávio Cavalcanti Sarinho (UFPE) e a Profª. Drª. Valéria Maria Gonçalves de Albuquerque (UPE), componentes da Banca Examinadora, em sessão pública, arguíram a doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical (PPGMEDTROP) ANALÍRIA MORAES PIMENTEL sobre a sua Tese intitulada **“PREVALÊNCIA DA COQUELUCHE E AVALIAÇÃO DA REAÇÃO EM CADEIA DE POLIMERASE EM TEMPO REAL PARA SEU DIAGNÓSTICO EM ADOLESCENTES E ADULTOS COM TOSSE PROLONGADA ASSISTIDOS EM UNIDADES DE SAÚDE DA REDE PÚBLICA DA CIDADE DO RECIFE”**, a qual foi orientada pela Profª. Drª. Vera Magalhães da Silveira (UFPE) e co-orientada pelo Prof. Dr. Paulo Neves Baptista Filho (UPE). Ao final da arguição de cada membro da Banca Examinadora e resposta da doutoranda, as seguintes menções foram publicamente fornecidas.

Profª. Drª. Maria Amélia Vieira Maciel

Prof. Dr. Gabriel Wolf Oselka

Profª. Drª. Gisélia Alves Pontes da Silva

Prof. Dr. Emanuel Sávio Cavalcanti Sarinho

Profª. Drª. Valéria Maria Gonçalves de Albuquerque

*Apovada*  
*Apovada*  
*Apovada*  
*Emanuel Sávio Cavalcanti Sarinho*  
*Valéria Maria Gonçalves de Albuquerque*

ANALÍRIA MORAES PIMENTEL

**PREVALÊNCIA DA COQUELUCHE E AVALIAÇÃO DA REAÇÃO EM CADEIA DE  
POLIMERASE EM TEMPO REAL PARA SEU DIAGNÓSTICO EM  
ADOLESCENTES E ADULTOS COM TOSSE PROLONGADA ASSISTIDOS EM  
UNIDADES DE SAÚDE DA REDE PÚBLICA DA CIDADE DO RECIFE**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos para a obtenção do Título de Doutor em Medicina Tropical.

Aprovado em: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_.

BANCA EXAMINADORA

---

Prof<sup>o</sup>. Dr. Gabriel Wolf Oselka (Examinador Externo)  
Universidade de São Paulo

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Valéria Maria Gonçalves de Albuquerque (Examinadora Externa)  
Universidade de Pernambuco

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria Amélia Vieira Maciel (Examinadora Interna)  
Universidade Federal de Pernambuco

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Gisélia Alves Pontes da Silva (Examinadora Interna)  
Universidade Federal de Pernambuco

---

Prof<sup>o</sup>. Dr. Emanuel Sávio Cavalcanti Sarinho (Examinador Interno)  
Universidade Federal de Pernambuco

“Para aprender a sabedoria e o ensino, para entender as palavras de inteligência, para obter o ensino de o bom proceder [...] o princípio da sabedoria é o poder de todo entendimento” (BÍBLIA, 2011, p. 719).

Dedico este trabalho aos meus pais, pessoas simples e humildes, mas que souberam ensinar às suas filhas, desde pequenas, os princípios e as éticas morais, obedecendo aos ensinamentos bíblicos que dizem: “Ensina a criança no caminho em que deve andar, e até quando adulto, não se desviará dele” (BÍBLIA, 2011, p. 738).

Às minhas irmãs, Nádia e Audrey, confidentes e amigas, que dividiram comigo as emoções de todos os momentos vivenciados.

Aos meus filhos, Paulo e Gustavo, noras e netos, que souberam compreender as razões da minha ausência familiar, por um tempo, mesmo estando juntos em espírito.

A Paulo, meu marido, que sempre esteve comigo, apoiando-me naquilo que almejei realizar, nas minhas decisões e preocupações, tendo, em todo o tempo, uma palavra de ânimo e encorajamento e sempre um ombro amigo a me amparar.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradecer é algo que faço todos os dias: o Deus Pai, Todo Poderoso, por ter me concedido: os meus pais, que me trouxeram ao mundo e foram responsáveis pela minha formação; a minha família, pela cumplicidade, compreensão e estímulo naquilo que sempre planejei fazer; e a minha profissão, a qual exerço com abnegação e amor ao próximo.

Ao Professor Dr. Marcelo Magalhães, pela sua sensibilidade e grande ajuda, em aceitar participar deste projeto, na realização das PCRs.

À minha orientadora Dra. Vera Magalhães, pela forma carinhosa, pela atenção, orientação segura e precisa, simples e sem mistério, na forma como conduz os seus discípulos.

Ao coorientador Dr. Paulo Baptista, pela ajuda incondicional, dedicação e disponibilidade prestada, procurando resolver todos os óbices pertinentes ao projeto, tornando o fardo leve e o caminho mais fácil de trilhar.

À todos os meus amigos do corpo docente da FCM/DIP/UPE pela colaboração, paciência e sempre solícitos quando instigados.

Aos Diretores da Faculdade de Ciências Médicas (FCM), Dr. Marcelo Azevedo e Maria Helena Kovacs, pelo apoio e encorajamento, para não fraquejar em meus objetivos.

Aos amigos da Infectologia Pediátrica e Imunizações, pelo envio, *online* dos textos pertinentes ao estudo.

À Dr<sup>a</sup> Lucia Ferro Bricks e ao Dr. Otávio Cintra, pela disponibilização de relevantes e imprescindíveis artigos, por vezes raros e difíceis de encontrar, utilizados na pesquisa.



Aos corpos docentes e discentes do Doutorado de Medicina Tropical, pela excelente transmissão do saber e por todo o convívio durante o curso.

Ao Professor Ricardo Ximenes, pela atenção e ensinamentos prestados.

À Professora Rosangela Coelho, coordenadora da Pós-Graduação pelo suporte na realização do trabalho.

Ao Senhor Walter Galindo pela dedicação e presteza no que faz, em todos os momentos em que foi solicitado.

À Dr<sup>a</sup> Fátima Militão, pela colaboração no desenvolvimento da pesquisa de campo.

À equipe formada pela enfermeira Andrea Rosane, pelas alunas do Curso de Enfermagem da UPE e por Ednaldo Soares de Paula, pela operacionalização da pesquisa de campo, formando um time padrão ouro na busca dos objetivos traçados.

Às Dr<sup>as</sup> Ana Kelly Lins, Deise Gomes e Nadjla Souza, pelo profissionalismo na execução dos exames laboratoriais.

A todos aqueles que contribuíram, direta ou indiretamente na realização desse trabalho, deixo meus agradecimentos, pois, o sonho que sonhei, um dia, posso ver hoje concretizado, sabendo que carrega um punhado de cada um.

São de exemplos do passado, que se constrói o presente, cujo presente será passado no futuro. Construamos, pois, bem o presente, para que no futuro, quando lembrados, sejamos o passado que estará presente.

Paulo Gomes Pimentel

## RESUMO

PIMENTEL, Analíria Moraes. **Prevalência da coqueluche e avaliação da reação em cadeia de polimerase em tempo real para seu diagnóstico em adolescentes e adultos com tosse prolongada assistidos em unidades de saúde da rede pública da cidade do Recife**. 2012. 125 f. Tese (Doutorado em Medicina Tropical) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2012.

A coqueluche em adolescentes e adultos tem sido sub-diagnosticada, sub-relatada e sua real prevalência é subestimada no mundo. Estudos têm demonstrado que 25% dos casos de tosse persistente em adolescentes e adultos estão associados à coqueluche. Diferentes métodos diagnósticos e definição de casos têm sido utilizados nos estudos para estimar a prevalência da coqueluche. No Brasil, não se conhece a real prevalência da coqueluche em adolescentes e adultos e a PCR não é usada de rotina como método diagnóstico na Rede Pública de Saúde. O objetivo deste estudo foi identificar a prevalência e avaliar a frequência da PCR e cultura positiva entre adolescentes e adultos com tosse por mais de 14 e menos de 30 dias assistidos em Unidades de Saúde da Rede Pública da cidade do Recife. Dez unidades ambulatoriais foram selecionadas aleatoriamente do Sistema Público de Saúde. Durante o período do estudo, agosto de 2010 a julho de 2011, a doença encontrava-se em período interepidêmico na Cidade do Recife. Preencheram os critérios de inclusão, 192 indivíduos maiores de 10 anos e adultos atendidos nas Unidades selecionadas. Todos realizaram cultura e PCR para pesquisa de *Bordetella pertussis* bem como os contatos dos casos positivos de coqueluche. A média de idade foi de 40,7 anos, variando de 10 a 84 anos, com um desvio-padrão  $\pm 17,8$  anos. Entre eles, 55,7% (107/192) eram maiores de 40 anos de idade, 27,6% (53/192), entre 20 e 39 anos e 16,7%, de (32/192) 10 a 19 anos. Apenas 10 dos 192 casos suspeitos informaram seu estado vacinal. Esses indivíduos tinham entre 10 e 19 anos de idade e informaram ter realizado esquema completo da vacina anticoqueluche. Entre esses indivíduos, um teve o diagnóstico confirmado por cultura e PCR e outro, por PCR. Dos 192 suspeitos, 70,0% (134/192) eram do sexo feminino, 89% tinham tosse com duração de 14 a 21 dias, 21 (11%) mais de 21 dias e 110 (57,29%) preencheram os critérios clínicos de caso de coqueluche. A coqueluche foi confirmada em 10 casos dos 192 suspeitos da doença com

prevalência de 5,21% IC (2,03 a 8,38). Entre os confirmados, cinco foram casos primários, quatro coprimários, um secundário e, entre eles, cinco foram casos índices que levaram à identificação de cinco novos casos. A PCR permitiu diagnosticar 100% dos casos, a cultura 10% (1/10) e vínculo epidemiológico, 30% (3/10). Todos os confirmados por PCR e por vínculo epidemiológico preencheram o critério clínico de definição de caso de coqueluche do CDC. Concluímos que, mesmo em período interepidêmico, a coqueluche pode ser identificada como importante causa de tosse prolongada entre adolescentes e adultos. A PCR pode aumentar o número de casos confirmados, particularmente quando é utilizada em conjunto com a cultura, para confirmação diagnóstica, mesmo quando coletados entre o 14º e 30º dia após o início dos sintomas.

**Palavra chave:** Coqueluche. Adolescentes e Adultos. Prevalência. Diagnóstico Laboratorial.

## ABSTRACT

PIMENTEL, Analíria Moraes. **The prevalence of pertussis (whooping cough) and an assessment of real-time polymerase chain reaction (real-time PCR) as a diagnostic method for adolescents and adults with prolonged cough treated at public health centers in the city of Recife, Brazil.** 2012. 125 f. Thesis (Post-Graduation Program in Tropical Medicine) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brazil, 2012.

Pertussis (whooping cough) in adolescents and adults has been under-diagnosed and under-reported, and the true prevalence is underestimated worldwide. Studies have revealed that 25% of all cases of persistent cough in adolescents and adults are associated to pertussis. Several diagnostic methods and case definitions have been employed to estimate the prevalence of pertussis. In Brazil the true prevalence of pertussis in adolescents and adults is unknown, and real-time polymerase chain reaction (PCR) is not routinely used as a diagnostic method within the public health system. The aim of this study has been to identify the prevalence of pertussis, and assess the frequency of PCR and positive culture in adolescents and adults with cough for more than fourteen days and less than 30 treated at public health centers in the city of Recife. Ten public health outpatient clinics were randomly selected and the study was conducted from August 2010 to July 2011, during an interepidemic period of the disease. A total of 192 individuals aged over ten years and adults treated at the selected centers met the inclusion criteria. All participants conducted a culture test and PCR to investigate *Bordetella pertussis* together with the contacts of positive pertussis cases. The mean age was 40.7 years, ranging from 10 to 84 years with a standard deviation of 17.8 years. Of these, 55.7% (107/192) were aged over 40 years, 27.6% (53/192) were between 20 and 39 and 16.7% (32/192) were aged from 10 to 19 years. Only ten of the 192 suspects provided information on their vaccination status. These were aged between 10 and 19 and had undergone a full course of pertussis vaccination. Of these, one was diagnosed with pertussis by culture and PCR and another by PCR. Of the 192 suspected cases, 70.0% (134/192) were female, 89% had a cough for 14 to 21 days, 21 (11%) for more than 21 days and 110 (57,29%) met the clinical criteria for pertussis. Pertussis was confirmed in 10 of the 192 suspects with a prevalence of 5.21% CI(2.03 to 8.38). Amongst the

confirmed cases, five were primary cases, four co-primaries and one was a secondary case and of these, five were index cases that led to the identification of five new cases. PCR provided a diagnosis in 100% of the cases, culture 10% (1/10) and 30% (3/10) with epidemiological linkage. All cases confirmed by PCR and epidemiological linkage met the CDC clinical guidelines for defining a case of pertussis. Based on this study, it may be concluded that even in an interepidemic period, pertussis may be identified as a frequent cause of prolonged cough in adolescents and adults. PCR could increase the number of confirmed cases, especially when used in conjunction with culture for diagnostic confirmation, even when collected between the fourteenth and thirtieth day after the onset of symptoms.

**Key words:** Pertussis (whooping cough). Adolescents and Adults. Prevalence. Laboratory Diagnosis.

## LISTA DE TABELAS

### Corpo da Tese

<b>Tabela 1</b> – Critérios de confirmação do diagnóstico de coqueluche em adolescentes e adultos com tosse prolongada .....	32
<b>Tabela 2</b> – Coqueluche - Número de casos notificados no segundo ano de início de sintomas e faixa etária. Pernambuco, 2008 – 2011 .....	33

### Artigo 1

<b>Tabela 1</b> – Critérios de confirmação do diagnóstico de coqueluche em adolescentes e adultos com tosse prolongada .....	64
<b>Tabela 2</b> – Características clínicas e epidemiológicas dos adolescentes e adultos com tosse prolongada e diagnosticados com coqueluche .....	65

### Artigo 2

<b>Tabela 1</b> – Critérios de confirmação do diagnóstico de coqueluche em adolescentes e adultos com tosse prolongada .....	77
--	----

## **LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

CDC	Centers for Disease Control and Prevention
CIEVS/PE	Centro de Informações Estratégicas de Vigilância em Saúde de Pernambuco
DIP	Doenças Infecciosas e Parasitárias
DVS	Diretoria de Vigilância à Saúde
ECDC	European Centre for Disease Prevention and Control
EUVAC NET	European Centre for Disease Prevention and Control
GEPI	Gerencia de Epidemiologia
HUOC	Hospital Universitário Oswaldo Cruz
IAL	Instituto Adolfo Lutz
LACEN	Laboratório Central do Estado de Pernambuco
MS	Ministério da Saúde do Brasil
PAHO	Panamerican Health Organization
PCR	Reação em cadeia de polimerase em tempo real
PHA	Public Health Agency of Canada
PROCAPE	Pronto Socorro Cardiológico Universitário de Pernambuco
SE	Semana epidemiológica
SVE	Secretaria de Vigilância em Saúde
SINAN	Sistema de Informações de Agravos de Notificações
SSR	Secretaria de Saúde do Recife
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
WHO	World Health Organization



## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>19</b>
<b>2 DELIMITAÇÃO DO OBJETO .....</b>	<b>21</b>
<b>3 REVISÃO DA LITERATURA .....</b>	<b>24</b>
3.1 A COQUELUCHE .....	24
<b>3.1.1 A epidemiologia da coqueluche no mundo .....</b>	<b>24</b>
3.1.1.1 A prevalência da coqueluche em adolescentes e adultos .....	28
<b>3.1.2 A epidemiologia da coqueluche no Brasil .....</b>	<b>30</b>
<b>3.1.3 Manifestações clínicas da coqueluche no mundo .....</b>	<b>36</b>
<b>3.1.4 Manifestações clínicas da coqueluche em adolescentes e adultos .....</b>	<b>36</b>
<b>3.1.5 O diagnóstico laboratorial da coqueluche .....</b>	<b>38</b>
<b>4 OBJETIVOS .....</b>	<b>42</b>
4.1 OBJETIVO GERAL .....	42
4.2 OBJETIVO ESPECÍFICO .....	42
<b>5 MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>43</b>
5.1 DESENHO DO ESTUDO .....	43
5.2 LOCAL DO ESTUDO .....	43
5.3 DEFINIÇÃO DA POPULAÇÃO .....	43
<b>5.3.1 Estudo da Prevalência .....</b>	<b>44</b>
<b>5.3.2 Estudo de avaliação da técnica da reação em cadeia de polimerase (PCR) .....</b>	<b>44</b>
<b>5.3.3 Critérios de inclusão para o estudo de Prevalência e Avaliação da PCR em tempo real .....</b>	<b>44</b>
<b>5.3.4 Critérios de exclusão para o estudo de Prevalência e Avaliação da PCR em tempo real .....</b>	<b>44</b>
5.4 TIPOS DE AMOSTRAGEM .....	44
5.5 DEFINIÇÃO DO TAMANHO DA AMOSTRA .....	45
<b>5.5.1 Estudo da Prevalência .....</b>	<b>45</b>
5.5.1.1 Parâmetros .....	45
<b>5.5.2 Estudo de Avaliação da positividade da técnica da reação em cadeia da polimerase e de temporal .....</b>	<b>46</b>

5.5.2.1 Amostras estimadas .....	46
5.6 DEFINIÇÃO E CATEGORIZAÇÃO DAS VARIÁVEIS .....	46
<b>5.6.1 Variáveis da 1ª etapa do estudo .....</b>	<b>46</b>
5.6.1.1 Prevalência .....	46
5.6.1.2 Idade .....	46
5.6.1.3 Sexo .....	47
5.6.1.4 Aspectos clínicos da coqueluche em adolescentes e adultos .....	47
5.6.1.5 Cianose .....	47
5.6.1.6 Vômito pós-tosse .....	47
5.6.1.7 Período de tosse .....	47
5.6.1.8 Estado vacinal .....	47
5.6.1.8.1 <i>Esquema de vacinação completa</i> .....	48
5.6.1.8.2 <i>Esquema de vacinação completa há mais de dez anos</i> .....	48
5.6.1.8.3 <i>Esquema de vacinação não informado</i> .....	48
<b>5.6.2 Variáveis da 2ª etapa do estudo .....</b>	<b>48</b>
5.6.2.1 Reação em cadeia de polimerase em Tempo Real (PCR) .....	48
5.6.2.1.1 <i>Positiva</i> .....	48
5.6.2.1.2 <i>Negativa</i> .....	48
5.6.2.2 Cultura de nasofaringe .....	48
5.6.2.2.1 <i>Positiva</i> .....	48
5.6.2.2.2 <i>Negativa</i> .....	49
5.6.2.2.3 <i>Falso negativo</i> .....	49
5.6.2.2.4 <i>Falso positivo</i> .....	49
<b>5.6.3 Vínculo epidemiológico .....</b>	<b>49</b>
<b>5.6.4 Classificação de caso .....</b>	<b>49</b>
5.6.4.1 Caso índice .....	49
5.6.4.1.1 <i>Contato</i> .....	51
5.6.4.1.2 <i>Contato sintomático</i> .....	51
5.6.4.1.3 <i>Contato confirmado de coqueluche</i> .....	51
5.6.4.2 Caso confirmado por relação epidemiológica .....	51
5.6.4.3 Não caso de coqueluche .....	51
5.6.4.4 Caso primário .....	51
5.6.4.5 Caso coprimário .....	51

5.6.4.6 Caso secundário .....	51
5.7 OPERACIONALIZAÇÃO DA PESQUISA E TÉCNICAS .....	51
<b>5.7.1 Operacionalização da Pesquisa .....</b>	<b>51</b>
5.7.1.1 Etapa 1 .....	51
5.7.1.2 Etapa 2 .....	51
5.7.1.2 Etapa 3 .....	52
5.7.1.4 Etapa 4 .....	52
<b>5.7.2 Métodos de Coleta de Padronização das Técnicas .....</b>	<b>52</b>
5.7.2.1 Método de Coleta .....	52
5.7.2.1.1 Exame bacteriológico e PCR .....	52
5.7.2.1.2 PCR em Tempo Real .....	54
<b>5.7.3 Processamento de Dados .....</b>	<b>55</b>
<b>6 ANÁLISE ESTATÍSTICA .....</b>	<b>56</b>
6.1 DESCRIÇÃO DA ANÁLISE .....	56
<b>7 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS .....</b>	<b>56</b>
<b>8 RESULTADOS .....</b>	<b>58</b>
8.1 ARTIGO 1 .....	58
Coqueluche pode ser causa de tosse prolongada em adolescentes e adultos em período interepidêmico .....	58
8.2 ARTIGO 2 .....	72
Reação em cadeia da polimerase em tempo real (PCR) para diagnóstico da coqueluche em adolescentes e adultos atendidos nos ambulatorios da rede pública de Saúde do Recife .....	72
<b>9 CONCLUSÃO .....</b>	<b>83</b>
<b>10 CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>84</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>85</b>
<b>Apêndice A – Termo de consentimento livre e esclarecido para o menor     de idade adolescente .....</b>	<b>95</b>
<b>Apêndice B – Termo de consentimento livre e esclarecido para o adulto</b>	<b>97</b>
<b>Apêndice C – Questionário da Pesquisa .....</b>	<b>99</b>
<b>Apêndice D – Versão do Artigo 1 em Inglês .....</b>	<b>101</b>
<b>Apêndice E – Versão do Artigo 2 em Inglês .....</b>	<b>114</b>
<b>Anexo A – Tabela 1 –Número de casos de Coqueluche notificados no</b>	

segundo ano de início de sintomas e faixa etária: Recife, 2008 – 2011 .....	125
<b>Anexo B – Tabela 2 – Coqueluche: número de casos notificados no segundo ano de início de sintomas e faixa etária: Pernambuco, 2008 – 2011 .....</b>	<b>126</b>
<b>Anexo C – Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa em SERES HUMANOS COMPLEXO HOSPITALAR HUOC/PROCAPE .....</b>	<b>127</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A doença coqueluche tem um marco no início de minha vida acadêmica, pois foi à primeira aula que proferi como docente do Curso Médico da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade de Pernambuco. Não foi um desafio para mim na época, pois, como pediatra e infectologista, trabalhando com médicos residentes, acadêmicos de Medicina e Enfermagem nos ambulatórios e enfermarias de Doenças Infecciosas e Parasitárias pediátricas (DIP infantil) do Hospital Universitário Oswaldo Cruz, único na época que internava e tratava os casos de coqueluche na cidade do Recife, o assunto fazia parte do meu cotidiano.

Vivenciei as mudanças do comportamento epidemiológico da coqueluche pela literatura e no dia a dia. Em 2005, um dos componentes do nosso grupo da infectologia pediátrica fez sua tese de doutorado baseado nas crianças internadas em nossas enfermarias, tendo, como um dos seus objetivos de pesquisa, identificar a faixa etária da fonte de infecção dessas crianças nos domicílios.

O estudo concluiu que a fonte de infecção em adultos só foi identificada por conta dessa investigação, seguida ao diagnóstico da coqueluche na criança. E, entre os 349 contatos das 57 crianças com coqueluche, internadas em nossas enfermarias, 158 eram adultos entre 19 e 39 anos de idade.

Quando decidi fazer doutorado, pensei em dar continuidade ao estudo da coqueluche. No entanto, estudar o comportamento da *B. pertussis* nos adolescentes e adultos na cidade do Recife, fora do ambiente de trabalho, não seria uma tarefa fácil, pois toda minha experiência clínica e de pesquisa limitava-se ao campus universitário, o Hospital Oswaldo Cruz. Sair para pesquisar nos distritos da cidade do Recife foi um desafio, pela complexidade do funcionamento das Redes de Saúde.

Por outro lado, como pesquisadora, sabia que seria mais um aprendizado para mim e que, apesar dos limites de um estudo de prevalência, meus resultados iriam contribuir para um conhecimento da doença na cidade do Recife em adolescentes e adultos. Outro ponto importante era que, avaliando a positividade da reação em cadeia de polimerase como método diagnóstico nas Unidades de Saúde,

estaria também aumentando a chance de diagnóstico de casos da doença entre os adolescentes e adultos com tosse prolongada.

Face à carência de estudos sobre prevalência e confirmação de casos de coqueluche em adolescentes e adultos no Brasil através de outro método além da cultura de secreção de nasofaringe, foi realizada esta pesquisa.

O local da pesquisa foram às Policlínicas, unidades de Saúde da Rede Pública da cidade do Recife, no período de agosto de 2010 a julho de 2011. O estudo foi conduzido pelo pesquisador e por equipe composta de uma coordenadora de campo, uma enfermeira que ficou responsável pela supervisão das coletas nas Unidades de Saúde que compuseram o local de estudo, dez alunas de Enfermagem da Universidade de Pernambuco e os técnicos responsáveis pela coleta de materiais nas respectivas Unidades.

## 2 DELIMITAÇÃO DO OBJETO

Alterações significativas epidemiológicas da coqueluche têm sido observadas na última década em diversas regiões do mundo. Países desenvolvidos e com alta cobertura vacinal nas crianças vêm notificando aumento do número de casos em todas as faixas etárias, especialmente entre adolescentes e adultos e nos menores de seis meses de idade, nos quais as complicações da doença costumam ser grave (WOOD; MCINTYRE, 2008).

Vários estudos têm constatado que adolescentes, adultos, familiares, especialmente os pais, são os principais responsáveis pela dinâmica da transmissão da bactéria na comunidade e em seus filhos menores (BAPTISTA et al., 2005).

Adolescentes e adultos geralmente cursam com formas clínicas atípicas da doença, como tosse de evolução prolongada, persistente e não específica. A coqueluche é pouco lembrada como diagnóstico diferencial das doenças respiratórias nessa faixa etária (BRICKS, 2011).

A Organização Mundial de Saúde, desde 2001, vem chamando a atenção para essas modificações epidemiológicas (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2011a). Em 2008, um novo encontro foi realizado, e a vigilância epidemiológica verificou a existência ou a inexistência de dados concretos da epidemiologia da coqueluche em diversos países. Verificou-se também, os dados oficiais de incidência e prevalência são subestimados e de difícil comparação entre os países por diferença nos vários métodos de detecção dos casos, definição desses casos e dos métodos complementares diagnósticos (ULLOA-GUTIERREZ, R. et al., 2010).

Novos métodos diagnósticos mais precisos e sensíveis e definição de caso foram apresentados pelos Estados Unidos, Canadá, entre outros países, para detectar a *Bordetella pertussis* (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 2012a; EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL, 2011; PUBLIC HEALTH AGENCY OF CANADÁ, 2011). O teste de cultura, considerado padrão ouro para o diagnóstico, apresenta baixa sensibilidade e, quando negativa, não afasta o diagnóstico devido a vários fatores interferirem nos

seus resultados. Demonstrou-se que a reação em cadeia de polimerase (PCR) juntamente com a cultura de nasofaringe resulta em aumento da sensibilidade, e, conseqüentemente, aumento da confirmação dos casos-, entre os pacientes com tosse prolongada em todas as faixas etárias (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 2012a; EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL, 2011).

No Brasil, a coqueluche apresenta comportamento semelhante aos países desenvolvidos, com maior número de casos notificados em menores de um ano de vida e boa cobertura vacinal nessa faixa etária (BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde, 2011).

A confirmação de casos em nosso país é realizada através da cultura de nasofaringe, manifestação clínica e vínculo epidemiológico, tendo como maior fonte da notificação de casos de pacientes internados e em casos de surtos. Alguns estados brasileiros, de forma isolada, vêm utilizando a reação em cadeia de polimerase como teste diagnóstico junto à cultura de nasofaringe, demonstrando aumento da confirmação de casos (CARDOSO; SANTOS, 2012).

No Estado de Pernambuco, o Laboratório Central (LACEN), não utiliza, na rotina diagnóstica, a PCR para a confirmação de casos de coqueluche.

Portanto, em nosso país, devido às inúmeras dificuldades diagnósticas, também, a real incidência e prevalência da doença e principalmente entre adolescentes e adultos, são ainda subestimadas e sub-relatadas.

No Estado de Pernambuco, o Hospital Universitário Oswaldo Cruz, na cidade do Recife, no Setor de Doenças Infecciosas, diagnostica e trata a doença. Os menores de seis meses de vida ainda não vacinados ou com vacinação incompleta contra coqueluche, representam o maior número de internamentos em nossas enfermarias. Observamos no dia a dia que os pais e familiares têm sido a maior fonte de infecção e só são diagnosticados durante o internamento do filho. São tussidores por mais de duas semanas, não tratados adequadamente pelo clínico por não terem sido reconhecidos como portadores de coqueluche.



Diante do exposto, apresento a minha tese de doutoramento, ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Pernambuco disposta na forma de revisão de literatura, métodos da pesquisa, conclusões, considerações finais e recomendações.

Os resultados da pesquisa serão apresentados em forma de dois artigos originais. O primeiro versa sobre **COQUELUCHE PODE SER CAUSA DE TOSSE PROLONGADA EM ADOLESCENTES E ADULTOS EM PERÍODO INTEREPIDÊMICO.**

O segundo trata sobre a **REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE EM TEMPO REAL (PCR) COMO MÉTODO DIAGNÓSTICO DA COQUELUCHE EM ADOLESCENTES E ADULTOS ATENDIDOS NOS AMBULATÓRIOS DA REDE PÚBLICA DE SAÚDE DO RECIFE.**

### 3 REVISÃO DA LITERATURA

#### 3.1 A COQUELUCHE

A coqueluche, também conhecida como tosse comprida, tosse dos 100 dias, tosse ruidosa, convulsiva ou tosse com guincho, é uma doença infecciosa altamente contagiosa, imunoprevenível, cujo agente etiológico é a *Bordetella pertussis* (CENTERS FOR DISEASE CONTROL PREVENTION, 2012a; YEH; MINK, 2006).

O termo pertussis (“tosse intensa”, em latim), foi criado em 1669 por Sydenham (OLSON, 1975). Sua primeira descrição como doença foi feita pelo epidemiologista Guillaume de Baillou, na França, em 1578 (HAMPL; OLSON, 1995). Seu agente etiológico, em 1906, foi isolado por Bordet e Gengou (1906).

A *Bordetella pertussis* é um cocobacilo gram negativo de cultivo exigente que apresenta afinidade exclusiva pelas mucosas das vias aéreas respiratórias humanas (EDWARDS; DECKER, 2008).

##### 3.1.1 A epidemiologia da coqueluche no mundo

A coqueluche permanece, em pleno século XXI, sendo um desafio em seu controle, tanto nos países desenvolvidos quanto nos países em desenvolvimento. Nos países desenvolvidos, a vacinação universal em lactentes conseguiu reduzir drasticamente os casos da doença ao longo dos anos (CELENTANO et al., 2005; HELLENBRAND et al., 2009; HEWLETT; EDWARDS, 2005; MUNOZ; ENGLUND, 2011).

A proteção adquirida contra coqueluche tanto pela infecção natural quanto pela vacinação básica de três ou quatro doses da vacina tríplice acelular ou de células inteiras (DPT) tende a cair entre quatro a doze anos após essa proteção (BRODER et al., 2006; CARVALHO; PEREIRA, 2006; GZYL et al., 2004; JENKINSON, 1988; VAN RIE; WENDELBOE; ENGLUND, 2005; WENDELBOE et al., 2005).

O uso da vacina contra coqueluche conseguiu diminuir a incidência e a gravidade da doença, mas não conseguiu erradicar, nem alterar seu comportamento epidêmico. Continua surgindo com ciclos hiperendêmicos a cada três a cinco anos. Esses fatos indicam que a *B. pertussis* permanece circulando na população (CARVALHO; PRESA, 2008).

É uma doença que acomete qualquer faixa etária e, desde a década de 80, apesar da vacinação em massa em lactentes e de boa cobertura vacinal, países vêm notificando o ressurgimento da doença, com aumento crescente de casos em todas as faixas etárias.

Recém-nascidos, lactentes não imunizados ou com imunização incompleta, adolescentes e adultos têm sido os mais susceptíveis à doença (CROWCROFT; PEBODY, 2006; WOOD; MCINTYRE, 2008).

O ser humano é seu único hospedeiro e sua principal transmissão se dá através do contato direto com indivíduos sintomáticos por meio das secreções do trato respiratório, quando tosse ou espirra (HEWLETT; EDWARDS, 2005).

Na América Latina, o número total de casos informados anualmente tem oscilado de 20.000 a 30.000. Apesar da cobertura vacinal de três doses da vacina antipertussis nas crianças e cobertura de vacinação em 93%, surtos da doença tem sido detectados (ULLHOA-GUTIERREZ et al., 2010). Atualmente vem sendo informado que a maior ocorrência da doença tem sido nas faixas etárias de neonatos e adolescentes (PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION, 2012).

A Organização Panamericana da Saúde vem pedindo maior empenho da vigilância epidemiológica no controle e manejo dos casos de coqueluche nas Américas (PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION, 2011a).

A taxa de letalidade nos menores de 12 meses de idade nos países em desenvolvimento estima-se em 4%. Isso implica a necessidade de serem adotadas novas medidas na prevenção da doença nas Américas (PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION, 2012). O Centro de Prevenção e Controle de Doenças (CDC) dos

Estados Unidos, em 2010, registrou 27.550 casos de coqueluche com surto na Califórnia, identificando 9.146 casos (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 2010).

Surtos, hospitalizações e morte por coqueluche continuam acontecendo em todo o mundo (CHERRY et al., 2005). Nos últimos 20 anos, muitos países têm notificado surtos da doença com maior incidência entre os adolescentes e adultos, que, por sua vez, aumenta o risco de infecção em lactentes (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 2010; EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL, 2010; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2005).

Em Taiwan, entre 1993 e 2004, o maior número de casos registrados foi em menores de um ano de vida e em adolescentes de 10 a 14 anos de idade. Em 1994, a vigilância epidemiológica notificou, em adolescentes, um caso para um milhão de habitantes e em 2004, 15 casos por um milhão de habitantes nessa faixa etária (LIN et al., 2007).

Nos Estados Unidos, ocorreu quadro semelhante entre 1990-1996, principalmente durante 1994-1996. Neste período o número de casos aumentou em relação ao período de 1990-1993 em maiores de 10 anos de idade. Em 1994-1996, a faixa etária entre 10-19 anos aumentou em 106% e, nos maiores de 20 anos de idade aumentou em 93%, quando comparado com o período de 1990-1993 (GURIS et al., 1999). Entre 2004 e 2005 os casos de coqueluche aumentaram 16,7 vezes nos adultos acima de 20 anos (FAULKNER et al., 2011).

No Canadá, a proporção de casos de coqueluche em adolescentes e adultos em 1995, aumentou em 9,6%, em 1998 aumentou em 16,4%, em 2001 aumentou em 21,2% e em 2004 aumentou 31,3% (PUBLIC HEALTH AGENCY OF CANADÁ, 2011).

Na Catalunha, Espanha, entre 2004 e 2008, 557 casos de coqueluche foram confirmados com taxa de incidência de  $2,01 \times 10^{-5}$  pessoas-ano, em 2004 e 4,34,

em 2008. O aumento do número de casos observado, comparando 2004 e 2008, foi no grupo etário de maiores de 35 anos (CRESPO et al., 2011).

A incidência de coqueluche nos Estados Unidos permanece elevada. Em 2011, foram relatados 2.462 casos até setembro, apresentando uma taxa de 6,2 casos por 100 mil habitantes, sendo 8,8% (162) de hospitalizações e a maioria ocorreu em crianças menores de seis meses de idade (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 2010).

Na Austrália, em 2011, 37.880 casos foram notificados com aumento de mais de 3.000 casos em relação aos casos de coqueluche em 2010 (AUSTRÁLIA. Department of Health and Ageing, 2011a).

Em janeiro de 2010, na Irlanda, houve relato de surto de coqueluche com 69 casos identificados e 58 casos confirmados por testes laboratoriais. Os casos ocorreram, principalmente, entre aqueles menores de seis meses de vida, entre um e quatro anos e entre 10-14 anos de idade. (BARRET et al., 2010).

O Centro de Vigilância da Europa notificou 15.310 casos em 2010 e a doença acometeu principalmente adolescentes entre 10 anos e 14 anos (EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL, 2010; LASSERRE et al., 2011; SERRES et al., 2000; QUINN; MCINTYRE, 2007).

O aumento do número de casos de coqueluche nessas faixas etárias promove uma série de repercussões indesejáveis (CAMPINS-MARTI, 2002).

Entender a epidemiologia da coqueluche entre os adolescentes e adultos vem sendo uma das prioridades dos principais órgãos de Saúde Pública do mundo (EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL, 2010; PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION, 2011; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2005).

Adolescentes e adultos representam a principal fonte de transmissão da doença a susceptíveis não imunes (TAN; TRINDADE; SKOWRONSKI, 2005). Um

estudo demonstrou que cerca de 80% a 100% dos contatos domiciliares suscetíveis desenvolvem coqueluche quando em contato com indivíduo doente (BLACK, 1997).

Outras pesquisas vêm confirmando que a coqueluche é introduzida normalmente na família pelos pais, principalmente a mãe, irmãos mais velhos, adolescentes e adultos (BAPTISTA et al., 2005; BISGARD et al., 2004; KOWALZIK et al., 2007).

Em estudo realizado em 2004, 95 casos índices e 404 contatos de coqueluche com crianças menores de seis meses de vida, 55% de fonte de infecção para esses pacientes foram seus pais, sendo a mãe a principal fonte de transmissão. Nesse estudo, 76%-83% da fonte de infecção encontravam-se entre os familiares adultos (WENDELBOE et al., 2007).

#### 3.1.1.1 A prevalência da coqueluche em adolescentes e adultos

Apesar do alerta mundial do avanço da coqueluche e da solicitação de maior empenho na notificação e diagnóstico de casos da doença e da importância da doença nessas faixas etárias, a coqueluche continua sendo subnotificada e não bem definida no mundo (SENZILET et al., 2001).

A falta de notificação de casos de coqueluche nos adolescentes e adultos dificulta a execução de medidas de controle e prevenção da doença nos adolescentes e adultos (PLOTKIN, 2005; WENDELBOE et al., 2007).

O conhecimento da real prevalência da coqueluche entre adolescentes e adultos vem sendo muito discutido e estimuladas as pesquisas nessas faixas etárias devido ao importante papel dos adolescentes e adultos na disseminação da doença (EDWARDS; DECKER, 2008).

A diversidade dos desenhos de estudo, variáveis definições sorológicas e definição de casos de coqueluche utilizados nas pesquisas mundiais, são as causas dos diferentes resultados de prevalências observadas (CORTESE, 2007; DILLI et al., 2008; TAN; TRIDADE; SKOWRONSKI, 2005).

Em alguns países da América Latina, a coqueluche não é ainda uma doença de notificação compulsória e em outros países não dispõem de métodos complementares de diagnóstico. Esses fatores tornam a prevalência da coqueluche subestimada também nesse continente (ULLOA-GUTIERREZ, 2008).

Estudos realizados no Canadá, Dinamarca, França, Itália, Austrália e Estados Unidos apresentaram uma prevalência em adolescentes e adultos que variou de 10% a 32% (ANTICO; FABOZZI; SCIPIOTTI, 2002; GILBERG et al., 2002; NENNIG, 1996; PUBLIC HEALTH AGENCY OF CANADA, 2006; STREBEL et al., 1999). Nesses e em outros estudos apresentados, observa-se que alguns deles foram realizados em surtos, outros só utilizaram a sorologia com uma única amostra e outros até sem história de tosse (DEVILLE et al., 1995).

Na França, um estudo prospectivo foi realizado durante nove meses com pacientes adultos atendidos com tosse em ambulatório do Hospital de Clínica Médica. O critério de inclusão foi qualquer tipo de tosse persistente por mais de sete dias. Dos 217 casos suspeitos de coqueluche, 70 casos (32%) tiveram confirmação diagnóstica laboratorial. Os testes laboratoriais utilizados para confirmação de casos foram cultura, PCR e sorologia (GILBERG et al., 2002).

No Canadá, 442 adolescentes e adultos com tosse prolongada foram inseridos no estudo para estimar a prevalência de coqueluche no período de 1993-1998. Foram selecionados de nove Unidades de Saúde Pública de 8 províncias do Canadá que vinham as unidades para atendimento ambulatorial. Todos tinham tosse persistente por mais de sete dias e o máximo encontrado foram de 56 dias. Foram utilizados como teste diagnóstico a cultura, PCR e sorologia. Dos 442 casos suspeitos de coqueluche, 88 (19,9%) tiveram confirmação diagnóstica laboratorial (SENZILET et al., 2001).

Nos Estados Unidos, foram selecionados 155 pacientes adultos com tosse persistente, com sete dias de evolução de tosse persistente dos ambulatórios de clínica médica. Dos 155 casos suspeitos, foram confirmados 15 (10%) casos. Os testes utilizados para o diagnóstico foram cultura, PCR e sorologia (STREBEL et al., 1999).

Dois outros estudos, nos Estados Unidos, realizados em adultos para estimar a prevalência, utilizaram como teste diagnóstico a sorologia de uma única amostra de sangue e a clínica de tosse por mais de 14 dias. As prevalências encontradas foram de 12,4% e 12% respectivamente. Um desses estudos foi realizado durante um surto epidêmico (NENNIG; SHINEFIELD; EDWARDS, 1996; ROSENTHAL et al., 1995).

Em Taiwan, 111 pacientes adolescentes e adultos com tosse por mais de sete dias, só sete (6,30%) deles tinham tosse característica de coqueluche. Todos fizeram cultura e PCR e 78 desses se negaram a fazer a sorologia. Dos 111 casos suspeitos, oito (7,2%) casos foram positivos (HU et al., 2006).

Na Turquia, em estudo de prevalência de coqueluche em adolescentes e adultos, foram encontrados 6,5%. A definição de casos confirmados desse estudo foi por cultura positiva do indivíduo com tosse ou história de contato com caso confirmado por cultura (DILLI et al., 2008).

### **3.1.2 A epidemiologia da coqueluche no Brasil**

No Brasil, a morbidade da coqueluche, no início da década de 80, era de 40.000 notificações anuais (coeficiente de incidência era superior a 30/100.000 habitantes). Esse número de notificações caiu após a introdução sistemática da vacina contra coqueluche na década de 80, mantendo uma tendência decrescente (BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde, 2009).

No ano 2000, o Ministério da Saúde tornou a coqueluche uma doença de notificação compulsória, padronizou a definição de caso, introduziu a cultura de secreção de nasofaringe como método complementar de diagnóstico e implantou Unidades de Vigilância Epidemiológica (BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde, 2009).

Essas ações permitiram melhor acompanhamento da tendência temporal da doença e detecção precoce de surtos e epidemias. No Brasil, a coqueluche também



se comporta com ciclos hiperendêmicos em períodos de três a cinco anos, seguidos por declínio.

A confirmação de casos de coqueluche é dada pelos critérios: laboratorial, clínico epidemiológico e o critério clínico.

O critério laboratorial é a positividade da cultura pelo isolamento da *B. pertussis*. É considerado caso de coqueluche, pelo critério clínico-epidemiológico, todo indivíduo suspeito, que teve contato com caso confirmado como coqueluche pelo critério laboratorial, entre o início do período catarral até três semanas após o início da fase paroxística da doença (período de transmissibilidade). O critério clínico é quando o caso suspeito apresenta alteração no leucograma, caracterizado por leucocitose (acima de 20 mil leucócitos/mm<sup>3</sup>) e linfocitose absoluta (acima de 10 mil linfócitos/mm<sup>3</sup>), desde que não exista outro diagnóstico confirmado.

Caso suspeito de coqueluche é o indivíduo, independente de idade e estado vacinal, apresenta tosse seca há 14 ou mais dias, associada a um ou mais dos seguintes sintomas: tosse paroxística (tosse súbita, incontrolável, com tossidas rápidas e curtas, ou seja, 5 a 10 tosses, em uma única expiração), guincho inspiratório, vômitos pós-tosse. Caso suspeito é também todo indivíduo, independente de idade e estado vacinal, que apresenta tosse seca há 14 ou mais dias com história de contato com caso confirmado de coqueluche pelo critério clínico (BRASIL. Ministério da Saúde, 2010).

De acordo com o padrão das séries temporais, o último ciclo hiperendêmico da coqueluche no Brasil ocorreu no ano de 2008. Em 2008, o número de casos confirmados de coqueluche no Brasil foi de 1.344 casos/ano e o coeficiente de incidência foi de 0,3/100 mil habitantes (BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde, 2011).

O Estado de Pernambuco em 2007 confirmou 83 casos. Em 2008 confirmou 129 casos sendo 110 casos em menores de um ano de vida seguindo em ordem decrescente a faixa etária de um a quatro anos com 15 casos e quatro casos entre cinco a nove anos de vida. Não houve confirmação de casos em maiores de dez

anos de idade (PERNAMBUCO. Secretaria de Saúde. Secretaria Executiva de Vigilância em Saúde. Diretoria Geral de Controle de Doenças e Agravos, 2011).

A cidade do Recife nesse mesmo ano, também confirmou aumento do número de casos. De acordo com os dados registrados na Tabela 1 foram 36 casos confirmados e todos em menores de 10 anos de idade. A confirmação desses casos se deu por: dois casos por critério laboratorial, cinco casos por critério clínico-epidemiológico e 29 casos por critério clínico (RECIFE. Secretaria de Saúde, 2011).

Tabela 1 – Número de casos de Coqueluche notificados no segundo ano de início de sintomas e faixa etária: Recife, 2008 – 2011

Ano e Início dos Sintomas	FAIXA ETÁRIA					
	(em anos)					
	<1 Ano	1 - 4	5 - 9	10 - 14	35 - 49	Total
2008	29	5	2	-	-	36
2009	9	-	-	-	-	9
2010	5	-	-	-	-	5
2011	2	-	-	-	-	2

Nota: Dados provisórios, sujeitos a revisão (dados coletados em 17/07/2011)

Fonte: Pernambuco (2011)

Desde 2010, surtos em diferentes regiões do país, vêm sendo registrados, com um maior número de casos em populações com baixa cobertura vacinal, principalmente em populações indígenas. Foram notificados no Brasil, em 2010, 1.125 casos e confirmados 291 casos de coqueluche (BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde, 2011; CARDOSO; SANTOS, 2012; CARVALHANAS, 2012).

Pernambuco, nesse mesmo ano, notificou 81 casos, confirmou 30 casos sendo 26 (86,67%) desses casos, em menores de um ano de vida e quatro (13,33%) casos em maiores de dez anos. A cidade do Recife no ano de 2010 notificou 15 casos e confirmou cinco casos (33,33%), todos em menores de um ano de vida (PERNAMBUCO. Secretaria de Saúde. Secretaria Executiva de Vigilância em Saúde. Diretoria Geral de Controle de Doenças e Agravos, 2011; RECIFE. Secretaria de Saúde, 2011).

Até a 32ª Semana Epidemiológica (SE) de 2011, foram notificados, no Brasil 1975 casos e confirmados 583 casos de coqueluche. Na faixa etária dos menores de um ano, foram notificados e confirmados 445 casos, sendo desses, 393 casos (88,3%) daqueles menores de seis meses de vida, e que continuam sendo os mais notificados e confirmados. Na faixa etária dos maiores de 10 anos foram confirmados 61 casos (10,46%), sendo 22 casos (36%) na faixa etária de 10 a 19 anos e 39 casos (63,93%), naqueles acima de 20 anos (BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde, 2011; CARDOSO; SANTOS, 2012; CARVALHANAS, 2012).

Pernambuco notificou, nesse mesmo período, 108 casos, confirmou 17 casos, sendo apenas sete casos (41,17%) em maiores de 10 anos de idade. A cidade do Recife confirmou dois casos de coqueluche até julho de 2011 e todos em menores de um ano de vida. A coqueluche na cidade do Recife e no Estado de Pernambuco, até julho de 2011, não vem demonstrando, ainda, período hiperendêmico como se apresenta na Tabela 2 (PERNAMBUCO. Secretaria de Saúde. Secretaria Executiva de Vigilância em Saúde. Diretoria Geral de Controle de Doenças e Agravos, 2011; RECIFE. Secretaria de Saúde, 2011).

Tabela 2 – Coqueluche – Número de casos notificados no segundo ano de início de sintomas e faixa etária: Pernambuco, 2008 – 2011

Ano e Início dos Sintomas	FAIXA ETÁRIA							
	(em anos)							
	<1 Ano	1- 4	5 - 9	10-14	15-19	20-34	35-49	Total
2008	110	15	4	-	-	-	-	129
2009	30	7	1	-	-	-	-	38
2010	24	2	-	1	-	3	-	30
2011	10	-	-	2	1	2	2	17

Nota: Dados provisórios, sujeitos a revisão (dados coletados em 03/07/2012)  
Fonte: SINAN/GPCAA/DGCDA/SEVS/SES-PE

No estudo de morbidade e mortalidade por coqueluche nos estados brasileiros no período de 2000-2006, foram notificados 16.707 casos e confirmados 6.887 (41%). A proporção de casos confirmados de coqueluche em menores de um ano de vida foi de 61%. O sistema identificou 774 (11%) casos de coqueluche em

maiores de 10 anos, apesar de não se ter uma definição de caso de coqueluche diferenciada e uma vigilância ativa para adolescentes (BRICKS, 2011; RENOINER et al., 2006).

Em Pernambuco, observou-se, em estudos realizados sobre coqueluche em crianças, que, de 58 crianças hospitalizadas com coqueluche, 159 (45,6%) dos 346 contatos dessas crianças, eram adultos, membros da família, parentes e vizinhos próximos da casa (BAPTISTA; MAGALHÃES; RODRIGUES, 2010). Adolescentes e adultos foram fontes de infecção de 79% dos casos secundários desse estudo (BAPTISTA et al., 2005).

Dados publicados sobre prevalência da coqueluche entre adolescentes e adultos no Brasil são escassos. No entanto, já chama a atenção o aumento do número de casos entre os menores de seis meses de vida e a importância dos adolescentes e adultos como fonte de infecção para essa faixa etária de maior risco de complicação e morte.

A maioria dos casos notificados no Brasil é de casos hospitalizados e surtos; e, os Laboratórios Públicos Centrais (LACENs) dos estados brasileiros utilizam como teste diagnóstico para *Bordetella pertussis*, cultura de nasofaringe dos casos suspeitos da doença (BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde, 2009).

Existe no Brasil, pouca difusão dos testes diagnósticos sensíveis como a PCR ou sorologia para diagnóstico da coqueluche no Brasil (ULLOA-GUTIERREZ; ÁVILA-AGUERO, 2008). Esse fato vem dificultando a comprovação laboratorial da coqueluche quando se trata dos casos de suspeitos com tosse prolongada por mais de duas semanas de evolução.

Durante o período de 2001-2005, São Paulo avaliou a frequência do isolamento da *B. pertussis* de 1912 amostras clínicas de casos e comunicantes com sintomas sugestivos de coqueluche, por meio da técnica de cultura. A positividade total do teste foi de 9,4%. A faixa etária de zero a seis meses de vida contribuiu com

65,0% das amostras positivas e adolescentes e adultos com 19,4% de taxa de positividade (OLIVEIRA E SILVA et al., 2007).

O Rio Grande do Sul, em 2004, período epidêmico da coqueluche, notificou 442 casos suspeitos e 245 (55%) confirmados pelos critérios adotados pelo Ministério da Saúde. Só a cidade de Porto Alegre utilizou também PCR como teste diagnóstico junto à cultura, para confirmação de casos. O maior número de casos confirmados foi na cidade de Porto Alegre, com 61 (25%) dos 245 casos confirmados em todo o Rio Grande do Sul. A cultura confirmou 8% (5/61) dos casos e a PCR confirmou 18% (11/61) dos casos. Esse estudo mostrou que a PCR confirmou maior número de casos em relação à cultura (TREVIZAN; COUTINHO, 2008).

A partir de 2009, o Instituto Adolfo Lutz/Coordenaria de Controle de Doenças/SES de São Paulo (IAL) disponibilizou a Reação em Cadeia de Polimerase em Tempo Real, junto à cultura para diagnóstico laboratorial da *B. pertussis*. Para análise do critério de confirmação dos dois métodos diagnósticos, foram comparados os período 2007/2009 sem a PCR e 2010/2011 considerando a introdução da PCR. A média de confirmação laboratorial no período de 2007/2009 foi de 63% de resultados positivos enquanto de 2010/2011 de 88%. No período de 2009/2010, 932 amostras de nasofaringe também foram testadas pelos dois métodos no Instituto Adolfo Lutz. A cultura e PCR confirmaram 67 (7.2%) casos. A PCR isolada confirmou 98 (10,5%) casos e 767 (82,0%) foram negativas para ambas as técnicas. A introdução da técnica de PCR representou um incremento em 28% na confirmação laboratorial dos casos quando comparado os dois períodos de 2007/2009 e 2010/2011 e o segundo estudo demonstrou a maior sensibilidade da PCR em comparação com a cultura para *B. pertussis* (CARVALHANAS et al., 2011; LEITE et al., 2012).

### **3.1.3 Manifestações clínicas da coqueluche no mundo**

O comportamento clínico da coqueluche apresenta uma diversidade de expressão que varia com a idade, exposição prévia à bactéria, seja natural (doença) ou adquirida (vacinação), quando são tratados com antibióticos precocemente ou com comorbidade tendo sido comparada a um “Camaleão” por Heininger (ALTUNAIJI et al., 2007; HEININGER, 2012).

As fases clássicas da doença tem duração de quatro a seis semanas e se dividem, tradicionalmente, em três fases sucessivas: catarral, paroxística e de convalescença (EDWARDS; DECKER, 2008). A fase catarral dura, em média, uma a duas semanas. Os sintomas são insidiosos e sem características da doença. Surge com coriza, rinorréia e tosse intermitente semelhante a outras infecções respiratórias.

A fase paroxística tem duração de quatro a seis semanas. As tossidas tornam-se mais rápidas e curtas após uma inspiração profunda, dando origem a um som estridente denominado de “guincho”. Os espasmos agudos (paroxismos) e guinchos são frequentemente acompanhados por vômitos, cianose e apnéia. É nessa fase onde surgem as complicações mais frequentes da doença. Na fase catarral e início da fase paroxística, é onde se dá o maior contágio da coqueluche. Após a fase paroxística, os sintomas são atenuados por duas a três semanas, podendo durar, nessa fase de convalescença, até meses.

### **3.1.4 Manifestações clínicas da coqueluche em adolescentes e adultos**

Adolescentes e adultos apresentam quadro clínico geralmente indistinguível de outras infecções respiratórias (EDWARDS; DECKER, 2008). Nessas faixas etárias as manifestações clínicas variam desde as formas clássicas da doença até as formas oligossintomáticas (HEWLETT; EDWARDS, 2005).

Estudos sobre o comportamento clínico da coqueluche em adolescentes e adultos relatam que, apenas um terço dos adultos cursa com tosse paroxística (SERRES et al., 2000). Outros estudos constataram que mais de 50% dos

indivíduos adultos vacinados apresentam manifestações clínicas atípicas da doença e que cerca de 2 a 3% apresentam sintomas ou complicações suficientemente graves que levam à hospitalização (VON KÖNIG et al., 2002).

Tosse de evolução prolongada, por mais de três semanas, pode ser o único sintoma clínico da doença nesses faixas etárias, segundo relatos clínicos e publicações (BRICKS, 2011; CHERRY et al., 2005; ROTHSTEIN; EDWARDS, 2005).

Na Alemanha, um estudo conduzido em adultos com coqueluche verificou que 80% destes adultos apresentaram tosse por mais de três semanas e que 25% sofreram algum tipo de complicação (POSTELS-MULTANI et al., 1995).

Estudos prospectivos realizados nos Estados Unidos e Austrália mostraram que 25% dos casos de tosse persistentes por mais de 21 dias em adolescentes e adultos estão associados à coqueluche (CAMPINS-MARTI et al., 2002; MINK; SIROTA; NUGENT, 1994; WRIGHT et al., 1995).

Em um estudo alemão, comparando as manifestações clínicas da doença entre adultos, com 18 a 73 anos de idade, e seus filhos menores com coqueluche, a tosse persistente, sem as características próprias da doença, foi o que predominou nos adultos desse estudo (WIRSING VON KÖNIG; TACKEN; FINGER, 1991).

Em contraste com essa observação clínica, outros autores sugerem que entre 21% a 86% dos adultos com coqueluche apresentam sintomas clássicos da doença (ROSENTHAL et al., 1995; TROLLFORS; RABO, 1981; WRIGHT et al., 1995; YIH et al., 2000). Um estudo canadense, com 77 pacientes adultos com coqueluche confirmados por testes de laboratório, 96% desses pacientes apresentaram tosse paroxística e 50% tiveram vômitos pós-tosse (SENZILET et al., 2001).

As complicações mais frequentes da coqueluche em adultos são incontinência urinária fratura de costela, pneumotórax, hérnia inguinal, pneumonia, convulsões e otite média. Ocorrem em aproximadamente 25% dos adultos e principalmente nos maiores de 60 anos de idade podendo ser fatais (CORTESE et al., 2008; MERTENS et al., 1999; SCHMITT et al., 1995; SERRES et al., 2000).

### 3.1.5 O diagnóstico laboratorial da coqueluche

O diagnóstico precoce da coqueluche e o tratamento dos casos com antibioticoterapia podem diminuir a gravidade dos sintomas e limitar o período de transmissão. Quando a coqueluche acomete adolescentes, adultos e indivíduos previamente vacinados, o diagnóstico clínico isolado torna-se difícil. Além de ser pouco lembrada em adolescentes e adultos, mesmo quando os sintomas clássicos da doença são evidenciados, profissionais de Saúde em geral, equivocadamente, ainda consideram a coqueluche como uma doença de criança (ROTHSTEIN; EDWARDS, 2005; SENZILET et al., 2001).

A realização de exames laboratoriais específicos para confirmação diagnóstica da coqueluche é de extrema importância. Por décadas, os métodos diagnósticos utilizados foram os sintomas clínicos específicos da doença e a detecção do agente etiológico.

Atualmente, a maioria dos Centros de Vigilância Epidemiológica dos países desenvolvidos utilizam, para confirmação de casos de coqueluche, além da cultura de nasofaringe para isolamento da *B. pertussis*, métodos diagnósticos mais sensíveis, como a reação em cadeia de polimerase (PCR) e a sorologia para identificação de anticorpos antipertussis e vínculo epidemiológico (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 2012a; EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL, 2011; GUIO et al., 2010; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2011a).

Na América Latina, a diversidade diagnóstica, tanto clínica como laboratorial, tem dificultado a vigilância da doença neste continente. Em alguns países, a cultura e a notificação de casos só são realizadas em pacientes internados. A sintomatologia clínica e exames inespecíficos são os que confirmam o diagnóstico. A PCR e a sorologia não fazem parte da rotina diagnóstica (ULLOA-GUTIERREZ; ÀVILA-AGUERO, 2008).

A cultura de nasofaringe é considerada padrão ouro para o diagnóstico da coqueluche, apesar de suas limitações como teste. A *B. pertussis* exige



meticulosidade em seu semeio e é lábil no meio de cultura. Apresenta 100% de especificidade e sensibilidade que varia de 30% a 50% de acordo com a fase da doença, tempo de semeio, técnica utilizada, meio de transporte e uso prévio de antibiótico pelo paciente. O resultado desse teste leva cerca de sete a dez dias entre a coleta da amostra e o resultado para excluir ou confirmar o diagnóstico (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 2011b; PUBLIC HEALTH AGENCY OF AUSTRALIA, 2011).

O tempo ideal para realização da cultura é na fase aguda da doença, menos de duas semanas após o início da tosse, pois, a partir daí a sensibilidade tende a cair, sendo infrequente ser positiva na fase de convalescença da coqueluche (PUBLIC HEALTH AGENCY OF CANADÁ, 2011). Nos adolescentes e adultos, por ser geralmente doença de diagnóstico tardio, a positividade desse método é baixa, variando de zero a trinta por cento nessa faixa etária (PUBLIC HEALTH AGENCY OF CANADÁ, 2011).

A PCR tem sido usada desde o início de 1990 para detectar a *B pertussis* em espécimes respiratórios. Quando comparado com a cultura tem a vantagem de detectar pequenas quantidades do microorganismo ( $\sim 10$ ), que não precisam estar estáveis; tem maior sensibilidade que a cultura; varia de 70% a 99% e especificidade de 86% a 100%. A positividade desse método permanece por mais tempo em relação à cultura, não sofre interferência com uso prévio de antibióticos e recomenda-se ser realizada a coleta até quatro semanas após o início da tosse. A partir daí, a sensibilidade do teste tende a cair. É recomendada para o diagnóstico de coqueluche, em adolescentes e adultos (PUBLIC HEALTH AGENCY OF AUSTRALIA, 2011).

A técnica utilizada desse método diagnóstico permite monitorar a reação da PCR enquanto os ciclos se sucedem e detectar o produto da amplificação à medida que ele está sendo formado, dispensando a etapa de eletroforese em gel. O sistema é baseado na detecção e quantificação de um corante fluorescente, cujo sinal aumenta em proporção direta à quantidade de fragmentos amplificados na reação de PCR. A visualização da reação se faz por meio de sondas marcadas com corante fluorescente, conhecida como TaqMan®. Esse sistema apresenta alta

especificidade, ligando-se somente ao produto da PCR. A fluorescência emitida permitirá a construção de uma curva que demonstrará a quantificação do DNA bacteriano, registrada em um computador acoplado ao aparelho (FARAH, 2007).

A sorologia, como teste de rotina para confirmação de casos de coqueluche, ainda não é utilizada na maioria dos países. Seu uso, como teste diagnóstico, é limitado em alguns centros da Europa, Austrália e dos Estados Unidos. A técnica mais empregada é o Elisa (pesquisa de anticorpos IgG por ensaio imunoenzimático). Esses anticorpos são contra componentes da *B.pertussis*: hemaglutinina filamentosa, fímbrias e pertactina. Este teste de sangue pode ser feito em dosagem única ou com duas amostras pareadas para avaliar o aumento de anticorpos após infecção. É útil no diagnóstico tardio da doença (EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL, 2010).

A sensibilidade dos testes laboratoriais varia com a idade do paciente, fase da doença, uso prévio de antibiótico e estado vacinal (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 2011; EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL, 2011; MASSAY, 2007).

De acordo com a fase da doença, os testes diagnósticos apresentam maior positividade:

- a) fase catarral (início dos sintomas até duas semanas de doença):** maior positividade para cultura bacteriana e PCR.
- b) fase paroxística (de 2 a 8 semanas de doença):** a positividade da cultura torna-se mais baixa; a PCR ainda se mantém positiva e a sorologia é elevada.
- c) fase de convalescença (de 8 a 12 semanas de doença):** só a sorologia se mantém positiva por maior tempo.

Para avaliar a positividade de dois testes diagnósticos de casos de suspeitos de coqueluche, cultura e PCR foram realizados em 182 espécimes de suspeitos com tosse. Desses, 148 tinham tosse paroxística. A cultura identificou 12 (8.1%) casos e a PCR, 45 (30.4%) casos positivos (KÖSTERS; RIFFELMANN; WIRSING VON

KONG, 2001). Outro estudo avaliou a positividade da PCR e cultura em 57 espécimes de suspeitos de coqueluche, oito (14%) foram positivas pela cultura e 19 (33%) foram positivas pela PCR (TEMPLETON et al., 2003).

Para confirmação de casos de coqueluche, cultura e PCR foram realizadas em 3096 espécimes na rotina diária de um laboratório no período de 2000-2003. Foram identificados 496 casos positivos (16%), sendo 17 (3%) desses por cultura e 208 casos (42%), por PCR (DRAGSTED et al., 2004).

Utilizando três métodos diagnósticos (cultura, PCR e sorologia) em 808 amostras de casos suspeitos de coqueluche, um estudo encontrou positividade em 79 desses. Dos 79 casos positivos, 38 foram positivos para os três métodos. A PCR confirmou 66 casos (83,54) e, em nenhum dos casos de cultura positiva, a PCR foi negativa. A PCR aumentou 1,7 vezes mais o diagnóstico da coqueluche nesses estudos (KNORR et al., 2006).

Para avaliar a positividade da PCR e a interferência do uso de antibiótico prévio antes da coleta do espécime, observou-se que a sensibilidade do teste variou de 100% após cinco dias, 83%, após 14 dias e 66% com 21 dias (BIDET et al., 2008).

Para melhor vigilância epidemiológica, é necessário que novos métodos diagnósticos para confirmação de casos de coqueluche sejam incorporados à rotina dos Serviços Públicos de Saúde (ULLOA-GUTIERREZ, et al., 2008).

## **4 OBJETIVOS**

### **4.1 OBJETIVO GERAL**

Estimar a prevalência da coqueluche e avaliar o uso da reação em cadeia de polimerase em tempo real para seu diagnóstico entre adolescentes e adultos com tosse prolongada por mais de 14 e menos de 30 dias, assistidos em Policlínicas da Rede Pública da cidade do Recife.

### **4.2 OBJETIVO ESPECÍFICO**

Identificar a frequência da PCR e da cultura positiva entre os adolescentes e adultos com tosse por mais de 14 e menos de 30 dias assistidos em Policlínicas da Rede Pública da cidade do Recife.

## **5 MATERIAIS E MÉTODOS**

### **5.1 DESENHO DO ESTUDO**

O estudo de prevalência consistiu em um corte seccional na população de adolescentes e adultos com tosse prolongada, atendidos em Policlinicas da Rede Pública da cidade do Recife, entre agosto de 2010 a julho de 2011, para estimar a prevalência da coqueluche nessa população.

O estudo da reação em cadeia de polimerase em tempo real avaliou a positividade da técnica, como método de diagnóstico da coqueluche, nas policlinicas, da Rede Pública da cidade do Recife.

### **5.2 LOCAL DO ESTUDO**

A pesquisa foi realizada nas Policlinicas, da Rede Pública da cidade do Recife, previamente selecionadas e que tinham realizado mais de 100 atendimentos/mês.

### **5.3 DEFINIÇÃO DA POPULAÇÃO**

A população foi composta de adolescentes e adultos que procuraram atendimento ambulatorial em Policlinicas da Rede Pública de Saúde da cidade do Recife, por demanda espontânea, com história de tosse por mais de 14 e menos de 30 dias.

### **5.3.1 Estudo da Prevalência**

Adolescentes e adultos atendidos em Policlínicas da Rede Pública da cidade de Recife, com história de tosse por mais de 14 dias e menos de 30 dias.

### **5.3.2 Estudo de avaliação da técnica da reação em cadeia de polimerase (PCR)**

Adolescentes e adultos atendidos em Policlínicas da Rede de Pública da cidade de Recife, com história de tosse por mais de 14 dias e menos de 30 dias e os seus contatos.

### **5.3.3 Critérios de inclusão para o estudo de Prevalência e Avaliação da PCR em tempo real**

Pacientes com idade acima de 10 anos atendidos nas Policlínicas da Rede Pública da cidade do Recife que tenham apresentado tosse por mais de 14 dias e menos de 30 dias;

### **5.3.4 Critérios de exclusão para o estudo de Prevalência e Avaliação da PCR em tempo real**

Pacientes imunodeprimidos, com tuberculose, bronquite crônica ou com diagnóstico de outra doença que evolua com tosse prolongada.

## **5.4 TIPOS DE AMOSTRAGEM**

A amostra foi selecionada por demanda espontânea sendo escolhidas as Unidades de Saúde de forma aleatória com probabilidade proporcional ao número de atendimentos:

**a) sorteio das unidades de saúde:** de cada distrito sanitário foram selecionadas aleatoriamente, com probabilidade proporcional ao número de atendimentos, duas Unidades de Saúde;

**b) seleção dos indivíduos:** mediante a informação dos critérios de inclusão da pesquisa, os indivíduos que foram espontaneamente às Unidades de Saúde para atendimento foram convidados a participar do estudo.

A cidade do Recife está dividida em seis distritos sanitários e possui 34 Policlínicas na Rede Pública.

## 5.5 DEFINIÇÃO DO TAMANHO DA AMOSTRA

### 5.5.1 Estudo de Prevalência

O cálculo do tamanho da amostra para estimar a prevalência de coqueluche entre os adolescentes e adultos com tosse prolongada foi realizado através do programa Epi-info 6, usando, como referência, os estudos que identificaram a coqueluche em 25% dos adolescentes e adultos com tosse prolongada e esperando que, em 25% dos adolescentes e adultos com tosse prolongada, tenham como causa da tosse, a coqueluche, e como pior resultado, apenas 19% deles tenham coqueluche (CAMPINS-MARTI et al., 2002; MINK; SIROTA; NUGENT, 1994; WRIGHT et al., 199).

Para a realização do estudo foi necessário um total de 201 pacientes com tosse prolongada para um nível de confiança de 95%.

#### 5.5.1.1 Parâmetros

Amostra estimada = 201 indivíduos

Prevalência = 25%

Erro máximo aceitável= 6%

Nível de confiança = 95%

### **5.5.2 Estudo de Avaliação da positividade da técnica da reação em cadeia da polimerase em tempo real**

A amostra foi selecionada a partir dos indivíduos elegíveis para o estudo de prevalência.

#### **5.5.2.1 Amostras estimadas**

201 indivíduos com tosse prolongada do estudo de prevalência para um nível de confiança de 95%.

## **5.6 DEFINIÇÃO E CATEGORIZAÇÃO DAS VARIÁVEIS**

### **5.6.1 Variáveis da 1ª etapa do estudo**

#### **5.6.1.1 Prevalência**

Sintomáticos respiratórios: tosse por períodos superiores a 14 dias.

#### **5.6.1.2 Idade**

Foram categorizadas como adolescentes indivíduos na faixa etária maiores de 10 a 19 anos de idade.

Foram categorizadas e estratificadas como:

Adultos maiores de 20 anos:

20 anos a 29 anos

30 anos a 39 anos

> 40 anos



#### 5.6.1.3 Sexo

Feminino

Masculino

#### 5.6.1.4 Aspectos clínicos da coqueluche em adolescentes e adultos

- Tosse prolongada: tosse seca, irritativa, persistente com evolução de mais de 14 dias. Sim/Não
- Tosse paroxística: tosse súbita, em acesso, incontrolável.  
Sim/Não
- Tosse com guincho: a tosse torna-se cada vez mais rápida e curta e, após a inspiração profunda, produz um som estridente, ou seja, o guincho.  
Sim/Não

#### 5.6.1.5 Cianose

Arroxamento da face ou lábios após acesso de tosse.

Sim/Não

#### 5.6.1.6 Vômito pós-tosse

Sim/Não

#### 5.6.1.7 Período de tosse

14 a 19 dias de tosse:

> 20 dias e menos de 30 dias de tosse

#### 5.6.1.8 Estado vacinal

Vacinação completa, Vacinação completa há mais de 10 anos e não informado.

#### *5.6.1.8.1 Esquema de vacinação completa*

O indivíduo que havia recebido três ou quatro doses de DPT durante a infância.

#### *5.6.1.8.2 Esquema de vacinação completa há mais de dez anos*

O indivíduo que havia recebido três a quatro doses de DPT durante a infância, mas a última dose havia sido aplicada há mais de dez anos.

#### *5.6.1.8.3 Esquema de vacinação não informado*

O indivíduo que não souber informar sobre suas vacinas ou sobre as vacinas do menor sob sua responsabilidade.

### **5.6.2 Variáveis da 2ª etapa do estudo**

#### **5.6.2.1 Reação em cadeia de polimerase em Tempo Real (PCR)**

##### *5.6.2.1.1 Positiva*

Foi considerado positivo, na presença de amplificação do fragmento de *B. pertussis* identificou-se o perfil característico da *B. pertussis*.

##### *5.6.2.1.2 Negativa*

Foi considerado negativo, na ausência de amplificação desse fragmento.

#### **5.6.2.2 Cultura de nasofaringe**

##### *5.6.2.2.1 Positiva*

Cultura de nasofaringe com presença de crescimento de *B. pertussis*.

#### 5.6.2.2.2 *Negativa*

Cultura negativa na ausência de crescimento da *B. pertussis* após 12 dias de cultivo.

#### 5.6.2.2.3 *Falso negativo*

Foram considerados resultados falso-negativos quando o indivíduo apresentou PCR em tempo real negativo, porém, com sintomas de coqueluche e diagnóstico confirmado por cultura ou vínculo epidemiológico.

#### 5.6.2.2.4 *Falso positivo*

Foram considerados resultados falso-positivos quando o indivíduo apresentou PCR em tempo real positivo, porém, sem sintomas de coqueluche e sem vínculo epidemiológico.

### 5.6.3 Vínculo epidemiológico

Todo caso suspeito que teve contato com caso confirmado como coqueluche pelo critério laboratorial (cultura ou PCR positiva para *B. pertussis*) entre o início da fase catarral da doença, até três semanas após o início do período paroxístico da doença (período de transmissibilidade).

### 5.6.4 Classificação de caso

#### 5.6.4.1 Caso índice

Primeiro paciente de um domicílio, ambiente de trabalho ou sala de aula atendido em Policlínicas da Rede de Saúde da cidade do Recife com história de tosse há mais de 14 e menos de 30 dias com coqueluche confirmada por PCR e/ou cultura positiva para *B. pertussis*.

#### *5.6.4.1.1 Contato*

Todo o indivíduo que passou a maior parte do dia no mesmo domicílio, que trabalhou no mesmo ambiente do caso índice ou frequentou a mesma sala de aula do caso índice.

#### *5.6.4.1.2 Contato sintomático*

Todo indivíduo que tenha apresentado tosse nos últimos 21 dias, que sejam contato do caso índice.

#### *5.6.4.1.3 Contato confirmado de coqueluche*

O indivíduo com tosse e com cultura de secreção de nasofaringe positiva ou indivíduos que preencham os critérios de definição de caso clínico de coqueluche e PCR positiva para *B. pertussis*.

#### *5.6.4.2 Caso confirmado por relação epidemiológica*

O indivíduo com tosse há mais de 14 dias associada a uma dos seguintes fatores: tosse paroxística, guincho inspiratório, vômitos pós-tosse, cultura ou PCR negativa, mas foi contato de um indivíduo com coqueluche confirmada.

#### *5.6.4.3 Não caso de coqueluche*

Os contatos sem sintomas de coqueluche na hora da coleta da secreção de nasofaringe para realização da PCR e culturas que permaneceram sem sintomas de coqueluche no período de 21 dias após coleta.

#### *5.6.4.4 Caso primário*

Indivíduo com coqueluche confirmada que primeiro apresentou sintomas no domicílio, ambiente de trabalho ou sala de aula.

#### 5.6.4.5 Caso coprimário

O indivíduo com coqueluche confirmada, cujos sintomas tiveram início entre um e seis dias após o início dos sintomas do caso primário.

#### 5.6.4.6 Caso secundário

O indivíduo que apresentou sintomas de coqueluche iniciados entre sete e 21 dias após o início dos sintomas do caso primário.

### 5.7 OPERACIONALIZAÇÃO DA PESQUISA E TÉCNICAS

#### 5.7.1 Operacionalização da Pesquisa

Para os procedimentos de coleta de dados foram seguidas quatro importantes etapas:

##### 5.7.1.1 Etapa 1

Capacitação do grupo de pesquisa sobre a técnica correta de realização do exame com a utilização de *swab*. Esse grupo foi composto pela pesquisadora, que esteve responsável por treinar a equipe; por uma coordenadora de campo, enfermeira mestranda do Programa Associado de Pós-Graduação em Enfermagem em Promoção à Saúde, responsável por supervisionar a coleta nas Unidades de Saúde que compõem o local de estudo; participaram, também, dez graduandas de Enfermagem da Universidade de Pernambuco e os técnicos responsáveis pela coleta de materiais nas respectivas Policlínicas.

##### 5.7.1.2 Etapa 2

Cada membro do grupo tornou-se responsável por um local de coleta e divulgação da pesquisa entre profissionais de Saúde e a comunidade, utilizando a educação em Saúde, com palestras, cartazes e *banners* como estratégias de sensibilização da população local. Nos locais de coleta eram realizadas as

apresentações acerca da temática e assim, *in loco*, conseguia-se conscientizar as pessoas que participaram do estudo. O material de apresentação continha esclarecimentos sobre a doença e a definição de caso suspeito de coqueluche em adolescentes e adultos com tosse por mais de 14 dias e menos de 30 dias, associada ou não a guincho, vômitos pós-tosse e paroxismo de tosse.

#### 5.7.1.3 Etapa 3

Neste momento, após sensibilizar e identificar os indivíduos que se apresentavam dentro do quadro clínico para coqueluche, esses, após assinarem o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), preenchiam um formulário (em anexo) contendo dados de identificação pessoal, história clínica para o agravo em estudo, sobre a vacinação de cada participante e informações relacionadas aos resultados dos exames laboratoriais, que só foram preenchidas após resultados laboratoriais do *swab*. Também foi preenchida pelo pesquisador a ficha de notificação do caso suspeito para conhecimento da Vigilância Epidemiológica do Município.

#### 5.7.1.4 Etapa 4

Após coleta do material biológico, esse era encaminhado aos Laboratórios Marcelo Magalhães para realização das PCRs e, ao LACEN, as culturas para confirmação dos resultados dos testes-diagnóstico.

### 5.7.2 Métodos de Coleta e Padronização das Técnicas

#### 5.7.2.1 Método de Coleta

##### 5.7.2.1.1 Exame bacteriológico e PCR

Foi coletada secreção de nasofaringe para cultura de *B. pertussis* e PCR em todos os participantes da pesquisa com sintomatologia respiratória.

Em se tratando da Padronização da Técnica do Exame bacteriológico, após imobilizar a cabeça do paciente, um estilete ultrafino, flexível, estéril com ponta coberta por poliéster, fabricado pela Hardwood Products Company LP em Guilford, Maine, USA, era introduzido delicadamente através da narina até tocar a nasofaringe posterior. O estilete era deixado nessa posição durante 10 segundos e era retirado lentamente. O material coletado foi semeado no meio de transporte (meio Regan-Lowe para transporte) e o estilete submerso cerca de três milímetros no meio de transporte.

O tubo para transporte continha meio de transporte para *B. pertussis*, equivalente a 50% da concentração do meio de Regan-Lowe para cultura, fabricado pela Oxoid Unipath LP em Hampshire na Inglaterra. Esses tubos contendo os meios de transporte eram etiquetados com data de validade e acondicionados em geladeira com validade de dois meses.

O meio de transporte era retirado da geladeira 20 minutos antes da coleta para atingir a temperatura ambiente. O tubo de transporte recebeu etiqueta com nome do paciente, data da coleta e o número da unidade em que foi coletado o material biológico para melhor identificação do paciente na pesquisa.

O material para realização da cultura era transportado de imediato na temperatura ambiente para o laboratório, onde, ao chegar, era semeado no meio de Reagan Lowe, tornado seletivo pela adição de cefalexina 40mg/L. em placas devidamente identificadas.

A placa e o meio de transporte foram incubados em estufa à temperatura de 35°C com umidade suficiente para evitar dessecação. As placas eram examinadas diariamente até o 12º dia. Placas negativas eram desprezadas após constatação. As colônias suspeitas de serem *B. pertussis* foram confirmadas através de provas bioquímicas.

#### 5.7.2.1.2 PCR em Tempo Real

Através da narina contra lateral utilizada para coleta de secreção de nasofaringe para realização da cultura, foi coletado o material para realização do PCR.

Quanto à Padronização da Técnica da PCR em Tempo Real, as reações de amplificação do material genômico são realizadas em máquina de PCR em tempo real (Icycler IQ5, BioRad) utilizando o sistema TaqMan® para detecção do produto de amplificação. O princípio do sistema utilizado na PCR em tempo real consiste na combinação de um termociclador com a detecção de fluorescência emitida em cada ciclo.

O método de TaqMan® utiliza uma sonda marcada com uma molécula fluorescente (fluoróforo) e outra de apagamento intramolecular (*quencher*) além do par de oligos iniciadores (*primers*) que se utilizam na PCR comum.

A sonda é constituída de uma sequência-alvo que está entre os dois oligos iniciadores. Enquanto a sonda está livre em solução, o fluoróforo e o *quencher* que ficam nas extremidades da sonda só emitem sinal quando são separados por meio da clivagem da sonda pela enzima TaqMan® DNA polimerase durante a reação.

Portanto, durante a reação, quando as sondas se ligam na sequência-alvo, o fluoróforo e o *quencher* são separados, e a fluorescência pode ser mensurada pela máquina.

Foram utilizados *primers* específicos para a região *IS481* para a *B. pertussis* e *IS1001* para a *B. parapertussis* e uma sonda TaqMan® marcada com FAM (fluoróforo), específica para cada região.

As reações da PCR foram preparadas utilizando o reagente TaqMan® *Universal PCR Master Mix* (Applied Biosystems, Foster City, CA), contendo nucleotídeos, tampão, UNG, AmpliTaq®, de acordo com instruções do fabricante.



Foi utilizada a plataforma Icyler IQ5 (BioRad), com o seguinte protocolo de ciclagem: um ciclo de 50°C durante dois minutos; um ciclo de 95°C durante 10 minutos; 50 ciclos de 90°C durante 50 segundos e 60°C durante um minuto.

No que tange à extração do DNA do material coletado através de esfregaço da nasofaringe, foi realizada empregando-se o *kit* comercial *QIAamp Mini Kit* da Qiagen (Chattlesworth, CA, EUA), com protocolo para esfregaço sugerido pelo fabricante.

Neste método, a amostra é submetida a uma lise enzimática com proteinase K, subsequentemente é tratado com um agente caotrópico, o hidrocloreto de guanidina, e esse lisado é finalmente passado através de uma coluna de sílica, que possui afinidade por ácidos nucleicos. Após sucessivas lavagens, o DNA/RNA aderido à sílica é eluído com 200µL do tampão adequado, provido no *kit*.

O material coletado tanto para realização de cultura como de PCR em tempo real foi encaminhado pelo pesquisador ou pelos auxiliares da pesquisa para o Laboratório Marcelo Magalhães, situado à Rua Sete de Setembro nº 253, no Bairro da Boa Vista na cidade do Recife, para realização da PCR em tempo real, e ao Laboratório Central do Estado de Pernambuco (LACEN) Dr. Milton Bezerra Sobral, situado na Praça Oswaldo Cruz, s/n, no Bairro da Boa Vista, na cidade do Recife, para realização da cultura.

### **5.7.3 Processamento de Dados**

Após essas etapas, os resultados dos materiais da coleta eram preenchidos nos formulários e repassados para um banco de dados, utilizando planilhas construídas no programa EXCEL® 2007, para posterior análise estatística.

## 6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

### 6.1 DESCRIÇÃO DA ANÁLISE

Foi realizada análise descritiva dos dados por meio de distribuição de frequência e média com seus respectivos desvios-padrões. Na análise comparativa da idade dos suspeitos, segundo a positividade para coqueluche, foi aplicado o teste t de *student* para amostras independentes e testada a normalidade pelo teste de Komogorov-Smirnov. Na análise das associações, quando a variável independente era categórica, foi utilizada uma estatística não paramétrica, sendo aplicado o teste exato de Fischer. A significância estatística adotada para análise das hipóteses foi de 5% ( $p < 0,05$ ).

## **7 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS**

O projeto foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos Complexo Hospitalar HUOC/PROCAPE e autorizado pela Gerência de Desenvolvimento de Pessoas da Prefeitura do Recife, Secretaria de Saúde, para desenvolver o projeto da pesquisa, nos Distritos Sanitários da Secretaria de Saúde do Recife.

Após serem reconhecidos como suspeitos da doença pelo pesquisador, os responsáveis pelos menores e os indivíduos maiores de idade foram esclarecidos sobre os exames a que seriam submetidos e que todos esses procedimentos para sua avaliação já fazem parte da rotina de diagnóstico e do tratamento da coqueluche.

Foi apresentado ao responsável um Formulário de Consentimento (Anexo A) para ser assinado, caso esse concordasse com a participação dos menores sob sua responsabilidade.

Solicitou-se, aos maiores de idade, a permissão para participar da pesquisa e, caso concordassem, era apresentado o Formulário de Consentimento para ser assinado.

Foi realizada a quimioprofilaxia dos contatos de acordo com a orientação da Secretaria de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde. Durante o preenchimento do formulário da pesquisa também foi preenchido e entregue ao LACEN, a ficha de notificação de casos de coqueluche da Vigilância Epidemiológica da Secretaria de Saúde do Estado e da Prefeitura da Cidade do Recife.

## 8 RESULTADOS

### 8.1 ARTIGO 1

Artigo submetido à revista International Journal of Infectious Diseases

**Título: Coqueluche pode ser causa de tosse prolongada em adolescentes e adultos em período interepidêmico**

**Autores:** Analíria Moraes Pimentel<sup>1</sup>, Paulo Neves Baptista<sup>2</sup>, Ricardo Arraes de Alencar Ximenes<sup>3</sup>, Laura Cunha Rodrigues<sup>4</sup>, Vera Magalhães<sup>5</sup>, Grupo de Pesquisa de Coqueluche<sup>6</sup>

Mestre. Doutoranda. Professora adjunta da Universidade de Pernambuco<sup>1</sup>

Doutor. Professor Adjunto da Universidade de Pernambuco<sup>2</sup>

Doutor. Professor Adjunto da Universidade de Pernambuco<sup>3</sup>

Doutora. Professora de Epidemiologia das Doenças Infecciosas, Diretora da Faculdade de Epidemiologia da Universidade de Londres<sup>4</sup>.

Doutora. Professora Titular da Disciplina de Medicina Tropical da Universidade de Pernambuco<sup>5</sup>

#### **Correspondência para o autor:**

Analíria Moraes Pimentel

Rua Apipucos, nº 355, Apto. 502

Bairro de Apipucos, Recife, Pernambuco, Brasil

CEP. 52.071-000

Telefone: +558132675078

Email: analiriapimentel@terra.com.br

## Resumo

**Objetivos:** Identificar a prevalência de coqueluche em adolescentes e adultos com tosse prolongada por mais de 14 dias e menos de 30 dias. **Métodos:** Dez unidades ambulatoriais do Sistema Público de Saúde na cidade do Recife, Brasil, foram selecionadas aleatoriamente para a pesquisa. Foram incluídos no estudo, indivíduos maiores de 10 anos com tosse há mais de 14 dias e menos de 30 dias. Coletou-se secreção de nasofaringe com *swab* para realização de cultura e reação em cadeia de polimerase (PCR em tempo real) em todos os participantes para identificação da *Bordetella pertussis*. Foi utilizada a definição de caso de coqueluche do Centro para Controle e Prevenção de Doenças dos Estados Unidos (CDC). **Resultados:** Foram identificados 192 indivíduos com tosse por mais de 14 e menos de 30 dias. A média de idade foi de 40,7 anos e 70,0% eram do sexo feminino. Entre casos suspeitos, 62,5% apresentaram guincho inspiratório, 14,1%, cianose e 79,1%, vômitos pós-tosse. A coqueluche foi confirmada em 10 dos 192 casos suspeitos, sendo estimada uma prevalência de 5,21 % IC (2,03 a 8,38). A cultura e PCR foram positivas em um paciente. Todos os casos confirmados por PCR (7/10) e por vínculo epidemiológico (3/10) preenchem o critério clínico de definição de caso de coqueluche do CDC. **Conclusão:** Coqueluche mesmo em período interepidêmico pode ser identificada como importante causa de tosse prolongada entre adolescentes e adultos. A PCR permitiu identificar 100% dos casos.

**Palavra Chave:** Coqueluche; Tosse prolongada, Adolescentes e adultos; Prevalência.

## Introdução

Epidemias de coqueluche têm sido observadas em várias regiões do mundo nas últimas décadas do século passado e continuam ocorrendo no século atual<sup>1</sup>. As epidemias têm ocorrido independentemente da cobertura vacinal dessas regiões. A Organização Mundial de Saúde estima que, em 2008, ocorreram cerca de 16 milhões de casos de coqueluche e 195.000 mortes no mundo, 95% dos casos nos países em desenvolvimento<sup>2</sup>. Foi observado ainda aumento do número de notificações de casos de coqueluche entre adolescentes, adultos e nos menores de seis meses de idade; nessa faixa etária a coqueluche pode ser uma doença grave<sup>3,4</sup>. Adolescentes e adultos têm sido identificados como a principal fonte de contaminação da coqueluche em surtos intradomiciliares<sup>5, 6,7</sup>. Entre adolescentes e adultos, o diagnóstico de coqueluche é pouco lembrado; nessa faixa etária, ela cursa com formas clínicas atípicas, caracterizada por tosse de evolução prolongada, persistente e inespecífica<sup>8,9</sup>.

Apesar de alguns estudos terem observado que tosse prolongada em adolescentes e adultos pode ser coqueluche, a real prevalência da coqueluche nessa faixa etária continua sendo subestimada<sup>10</sup>. A OMS, desde 2001, chama a atenção para as mudanças observadas na epidemiologia da coqueluche<sup>11</sup>. Em 2010, o CDC registrou 27.550 casos de coqueluche nos Estados Unidos e, na Europa, o Centro Europeu de Controle e Prevenção de Doenças registrou 15.749 casos, com maior prevalência entre os adolescentes de 10 anos a 14 anos de idade<sup>12,13</sup>. Em estudos realizados em diferentes regiões do mundo, a prevalência de coqueluche entre adolescentes e adultos variou de 10% a 32%<sup>14,15</sup>. A variedade de métodos diagnósticos e definição de casos utilizados pode ser uma das causas da diferença nas prevalências observadas<sup>10,16,17</sup>. No entanto, esses estudos têm contribuído para estratégias de controle da vigilância da coqueluche nesses países.

Em alguns países da América Latina, a coqueluche não é uma doença de notificação compulsória e outros países não dispõem de métodos complementares de diagnóstico. Esses fatores tornam a prevalência da coqueluche subestimada neste continente<sup>4</sup>. No Brasil, no ano 2000, o Ministério da Saúde tornou a coqueluche uma doença de notificação compulsória, padronizou a definição de caso,

introduziu a cultura de secreção de nasofaringe como método complementar de diagnóstico e implantou Unidades de Vigilância Epidemiológica<sup>19</sup>. Essas ações permitiram melhor acompanhamento da tendência temporal da doença e detecção precoce de surtos e epidemias.

No Brasil, desde a introdução da vacina contra coqueluche em 1980, a notificação de casos caiu abruptamente mantendo uma tendência decrescente. Surtos isolados de coqueluche foram identificados no Brasil, em 2010. Em 2011, foram confirmados 583 casos de coqueluche. Entre os casos confirmados, 76,3% eram crianças menores de um ano de idade e os menores de seis meses, continuam sendo o grupo que apresenta taxas de incidência e letalidade mais alta<sup>18,19</sup>.

Na cidade do Recife, a maioria das notificações é de paciente internados. Estudo realizado na cidade do Recife sobre o papel dos adultos como disseminador da coqueluche nos surtos domiciliares mostrou o ambiente doméstico como a unidade epidêmica da doença. Identificou-se que 45,6% dos 349 contatos das crianças internadas com coqueluche, eram adultos; entre eles, 32 (21%) tiveram coqueluche<sup>20</sup>. No entanto, este estudo analisou casos de coqueluche em adultos contatos de crianças menores de um ano. A coqueluche pode ter outro comportamento em domicílios sem crianças. Este estudo tem o objetivo de estimar a prevalência de coqueluche entre adolescentes e adultos com tosse prolongada, assistidos em Unidades Ambulatoriais do Sistema de Saúde Pública.

## **Material e Método**

O estudo foi realizado em 10 unidades ambulatoriais do Sistema de Saúde Pública na cidade do Recife, Brasil. As Unidades de Saúde de cada um dos seis Distritos Sanitários da Cidade foram aleatoriamente selecionadas com probabilidade proporcional ao número de atendimentos. Dez graduandos de enfermagem supervisionados por uma enfermeira foram treinados para a coleta do *swab* nasal para cultura e reação em cadeia de polimerase (PCR). Cada membro do grupo tornou-se responsável pela coleta de dados de, no mínimo, uma Unidade de Saúde. A pesquisa foi divulgada entre profissionais de Saúde e os indivíduos em atendimento na Unidade de Saúde. No período de agosto de 2010 a julho de 2011,

os indivíduos maiores de 10 anos, com tosse há mais de 14 dias e menos de 30 dias foram identificados. Todos os participantes da pesquisa foram entrevistados utilizando um questionário-padrão com informações sobre idade, data do início da tosse, outros sinais e sintomas e número de doses da vacina contra coqueluche. Foi coletada de todos os participantes da pesquisa, secreção de nasofaringe através de *swab* nasal para realização de cultura e PCR.

O número de indivíduos selecionados para pesquisa em cada Unidade de Saúde foi proporcional à população do Distrito Sanitário ao qual pertencia a Unidade. A equipe permanecia na Unidade de Saúde até atingir o tamanho da amostra estimada para a Unidade. Foram excluídos os indivíduos imunodeprimidos, portadores de tuberculose, bronquite crônica e outras doenças crônicas que evoluam com tosse ou uso de drogas que causem tosse. Um caso suspeito de coqueluche foi considerado confirmado se o indivíduo apresentasse tosse e cultura de secreção de nasofaringe positiva ou indivíduos que preenchessem os critérios de definição de caso clínico de coqueluche e PCR positiva.

Considerou-se como critério de definição de caso clínico de coqueluche: indivíduos que, independentemente de idade e estado vacinal, apresentassem tosse por mais de 14 dias, associada a, pelo menos, um dos sintomas: tosse paroxística, guincho inspiratório, vômitos pós-tosse.

Considerou-se um caso confirmado por vínculo epidemiológico o indivíduo que preenchesse os critérios clínicos de caso de coqueluche, apresentasse cultura e/ou PCR negativa, mas fosse contato de um indivíduo com coqueluche confirmada por cultura ou PCR.

O material para cultura e PCR foi coletado por *swab* de nasofaringe em narinas individuais para cada procedimento. O *swab* coletado para cultura foi inoculado no meio de transporte equivalente a 50% da concentração do meio de Regan-Lowe (Oxoid Ltd., Columbia, Md.) para cultura e no laboratório semeado em meio de Reagan Lowe (Oxoid., Ltd., Columbia, Md.), tornado seletivo pela adição de cefalexina 40mg/L. As colônias suspeitas de serem *B. pertussis* foram confirmadas



através de provas bioquímicas. A PCR em tempo real utilizou *primers* e sonda TaqMan® específicos para a região IS 481<sup>16,17</sup>.

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética do Hospital Oswaldo Cruz, protocolo nº 029/2008. Todos os participantes do estudo assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

Os dados obtidos foram codificados e processados no *software* de estatística o Epi-info versão 6.0.4 (Center for Disease Control and Prevention). Foi realizada uma análise descritiva dos dados por meio de distribuição de frequência e média com seus respectivos desvios-padrões. Na análise comparativa da idade dos suspeitos, segundo a positividade para coqueluche, foi aplicado o Teste t de *student* para amostras independentes e testada a normalidade pelo Teste de Komogorov-Smirnov. Na análise das associações, quando a variável independente era categórica, foi utilizado o Teste Exato de Fischer. A significância estatística adotada para análise das hipóteses foi de 5% ( $p < 0,05$ ). O cálculo do tamanho da amostra teve, como referência, uma prevalência de 25%<sup>25</sup>, um erro máximo aceitável de 6% e 95% de confiança. A amostra estimada foi de 201 pacientes.

## Resultados

A pesquisa foi realizada em 10 Unidades de Atendimento Ambulatorial entre as 12 Unidades sorteadas. Nas duas unidades excluídas, por motivos operacionais, não foi possível a seleção de pacientes. O número de pacientes programados para as Unidades excluídas foi transferido para outras Unidades do mesmo Distrito que faziam parte das Unidades sorteadas e correspondeu a 5,26% (10/192) do total da amostra selecionada. Foram identificados 192 indivíduos maiores de 10 anos e com tosse por mais de 14 dias. A média de idade foi de 40,7 anos, variando de 10 a 84 anos e com um desvio-padrão  $\pm 17,8$  anos. Entre eles, 55,7% (107/192) era maior de 40 anos de idade, 27,6% (53/192) tinha entre 20 e 39 anos e 16,7%, de (32/192) 10-19 anos. Entre os casos suspeitos, 70,0% (134/192) eram do sexo feminino. Quanto a antecedentes de vacinação, 182 dos 192 casos suspeitos não sabiam informar quanto à sua situação vacinal. Os 10 indivíduos que informaram ter esquema vacinal (DPT) de quatro doses da vacina antioqueluche tinham entre 10 e

19 anos de idade. Entre eles, um teve o diagnóstico de coqueluche confirmado por cultura e PCR e outro, por PCR.

Dos 192 suspeitos de coqueluche, 171/192 (89%) tinham sintomas de tosse entre 14 a 21 dias e 21/192 (11%) por mais de 21 dias. O guincho foi referido em 120/192 (62,5%), cianose, em 27/192 (14,1%) e vômitos pós-tosse, em 152/192 (79,1%).

Entre os 192 casos suspeitos, a coqueluche foi confirmada em 10 indivíduos, estimando-se uma prevalência de 5,21% IC (2,03 a 8,38). A cultura e a PCR foram positivas para *B. pertussis* em um paciente (Tabela 1) e todos os casos confirmados por PCR e por vínculo epidemiológico preenchem o critério clínico de definição de caso de coqueluche (Tabela 2).

Entre os 10 casos confirmados de coqueluche, cinco foram casos primários, quatro, coprimários e um foi caso secundário. Entre eles, cinco foram casos índices que levaram à identificação de cinco novos casos.

**Tabela 1.** Critérios de confirmação do diagnóstico de coqueluche em adolescentes e adultos com tosse prolongada

	Positividade para coqueluche		
	Positivos	(%)	IC (95%)
Critério de confirmação			
Cultura	1/10	10%	0,25%-44,5%
PCR em tempo real	7/10	70%	34,7%-93,3%
Vínculo epidemiológico	3/10	30%	6,7%-65,2%

**Tabela 2.** Características clínicas e epidemiológicas dos adolescentes e adultos com tosse prolongada e diagnosticados com coqueluche

	Casos									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Sexo	F	F	F	M	M	F	F	M	F	M
Idade (anos)	28	14	20	43	43	45	15	29	34	24
Dias de tosse	18	14	15	20	14	14	14	15	14	18
Paroxismo	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Guincho	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Cianose	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-
Apnéia	+	-	-	-	-	+	+	-	+	+
Vômitos Pós-tosse	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+
Sufocação	+	-	+	-	-	-	-	+	+	+

F – feminino; M – masculino

## Discussão

Houve a necessidade de substituição de duas Unidades de Saúde em um mesmo Distrito. Como os pacientes de um mesmo Distrito de Saúde têm características semelhantes e o número de pacientes foi cerca de 5% da amostra total, a probabilidade da existência de viés de seleção no estudo é pequena. Este estudo foi realizado em um período interepidêmico<sup>19</sup>.

Esse fato pode ter influenciado no número de indivíduos elegíveis para o estudo e na estimativa da prevalência da coqueluche. A média de idade dos indivíduos com tosse por mais de 14 dias foi de 40,7 anos; Estudos realizados na Dinamarca, França e Canadá observaram uma média de idade entre de 41 a 49

anos. A maioria dos casos suspeitos de coqueluche era do sexo feminino, fato também observado em outros estudos<sup>2,15,10</sup>.

No estudo atual, apenas 10 pacientes sabiam informar ter completado o esquema de três a quatro doses da vacina contra coqueluche. Entre eles, um teve o diagnóstico de coqueluche confirmado por cultura e PCR e outro, por PCR. Como os participantes deste estudo eram maiores de 10 anos de idade, a última dose da vacina contra coqueluche deve ter sido aplicada no mínimo há mais de 8 anos. A imunidade conferida pela vacina diminui ao longo dos anos e cerca de 10 anos após a última dose ela é muito baixa ou mesmo nula<sup>22</sup>. A vacina contra coqueluche foi introduzida no Calendário Vacinal Brasileiro em 1983 e, desde 2003 a cobertura vacinal para três doses da vacina tem se mantido superior a 95%<sup>19</sup>.

Em cerca de 90% dos casos suspeitos, a tosse tinha duração de 14 a 21 dias e 110 (57,29%) preencheram os critérios clínicos de caso de coqueluche. Gilberg et al., na França, em período de baixa prevalência de coqueluche, observou que 79% dos casos confirmados preencheram os critérios clínicos.

Strebel, nos Estados Unidos, observou que 85% dos casos confirmados de coqueluche preencheram os critérios clínicos<sup>15,14</sup>. A alta prevalência de casos que preenchem os critérios clínicos de coqueluche pode ser explicada pelo fato de sintomas mais intensos induzirem os indivíduos a procurar assistência médica. Esse fato pode contribuir para que a prevalência de coqueluche em adolescentes e adultos que apresentam apenas tosse seja subestimada.

A cultura só confirmou o diagnóstico em apenas uma paciente dos 10 casos de coqueluche (10%). A PCR confirmou 100% dos casos. Vários estudos têm demonstrado a baixa sensibilidade da cultura para confirmação de caso de coqueluche, quando comparada com a PCR e sorologia<sup>16,24</sup>. A maior positividade da cultura se dá na fase inicial da doença (primeira semana)<sup>18</sup>. Os pacientes inseridos na pesquisa tinham tosse por mais de 14 dias de evolução. Acredita-se que o tempo da coleta de material para a cultura e as dificuldades técnicas para realizá-la tenham contribuído para sua baixa sensibilidade no estudo.

Este estudo observou uma prevalência de coqueluche de 5,21% entre adolescentes e adultos com tosse por mais de 14 dias. Estudos realizados no Canadá, Dinamarca, França, Austrália e Estados Unidos observaram uma prevalência que variou de 10% a 32%<sup>11,25</sup>. O fato de este estudo ter sido realizado em período interepidêmico, não ter utilizado a sorologia para a confirmação do diagnóstico e o material para cultura e PCR ter sido coletado entre 14 e 30 dias após o início da tosse, pode ter influenciado a baixa prevalência da coqueluche, quando comparada com a prevalência observada em outros países.

Outro aspecto a ser considerado é o fato de a amostra ter sido selecionada em 12 das 34 Unidades Ambulatoriais do Sistema de Saúde Pública. Essa prevalência ainda que baixa, torna-se importante a partir da informação que os adultos e adolescentes são a principal fonte de infecção dos menores de um ano de idade<sup>5,6,7</sup>. Nessa faixa etária, a coqueluche tem maior risco de desenvolver complicações e óbito<sup>3,8</sup>.

## **CONCLUSÃO**

Mesmo em período interepidêmico, a coqueluche pode ser identificada como importante causa de tosse prolongada entre adolescentes e adultos, particularmente quando a PCR é utilizada em conjunto com a cultura para confirmação diagnóstica.

## **Agradecimento**

Ao Laboratório Marcelo Magalhães pela realização da PCR de nossa pesquisa.

## Referências

1. Quinn HE, Mc Intyre PB. Pertussis epidemiology in Australia over the decade 1995-2005 trends by region and age group. *Commun Dis Intell* 2007;31(2):205-15.
2. World Health Organization. Pertussis: (whooping cough). [cited 2012 Jan 20]. Available from: <http://www.who.int/immunization/topics/pertussis/en/>
3. Hewlett EL, Edwards KM. Pertussis-not just kids. *N Engl J Med* 2005;352:1215-22.
4. Ulloa Gutierrez R, Avila-Aguero ML. Pertussis in Latin America: current situation and future vaccination challenges. *Expert Ver. Vaccines* 2008;7:1569-1580.
5. Baptista PN, Magalhães VS, Rodrigues LC, Rocha MAW, Pimentel AM. Source of infection in household transmission of culture-confirmed pertussis in Brazil. *Pediatr Infect Dis J* 2005;24(11):1027-28.
6. Bisgard K, Pascual B, Ehresmann K, Miller CA, Cianfrini C, Jennings CE, et al. Infant pertussis: who was the Source? *Ped Infect Dis J* 2004;23:985-9.
7. Jardine A, Conaty SJ, Lowbridge C, Staff M, Vally H. Who gives pertussis to infants? Source of infection for laboratory confirmed cases less than 12 months of age during an epidemic, Sydney, 2009. *Commun Dis Intell* 2010;34(2):116-121.
8. Cherry JD, Grimpel 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,
9. Zepp F, Heininger U, Mertsola J, Bernatowska E, Guiso N, Roord J, et al. Van Damme P. Rationale for pertussis booster vaccination throughout life in Europe. *Lancet Infect Dis* 2011; 11(7):557-70.

10. Senzilet LD, Scott A, Halperin S, Spika JS, Alagaratnam M, Morris A, et al. Pertussis is a frequent cause of prolonged cough illness in adolescent and adults. *Clin Infect Dis* 2001;32:1691-97.
11. World Health Organization. Pertussis surveillance: a global meeting Geneva. [cited 2012 Jan 20]. Available from:  
<http://www.who.int/vaccinesdocuments/DocsPDF01/www605.pdf>
12. Centers for Disease Control and Prevention. Pertussis (whooping cough): outbreaks. [cited 2012 Jan 18]. Available from:  
<http://www.cdc.gov/pertussis/outbreaks.html>
13. European Centre for Disease Prevention and Control. Pertussis surveillance report 2010. Stockholm: ECDC; 2010. [cited 2011 Oct 15]. Available from:  
<[http://ecdc.europa.eu/en/publications/publications/pertussis\\_report\\_2010\\_eucavnet.pdf](http://ecdc.europa.eu/en/publications/publications/pertussis_report_2010_eucavnet.pdf)
14. Strebel PM, Bardenheier B, Brennam M, Tachdjian R, Finch E, Wharton M, et al. Changing Epidemiology of Pertussis in the United States: increasing reported incidence among adolescents and adults, 1990-1996. *Clin Infect Dis* 1999; 28:1230-7.
15. Gilberg N, Njamkepo E, DU Châtelet IP, Partouche H, Gueirard P, Ghasarossian C, et al. Evidence of *Bordetella pertussis* infection in adults presenting with persistent cough in a French area with very high whole –cell vaccine coverage. *J Infect Dis* 2002;186(3): 415-418.
16. Tatti KM, Wu KH, Tondella ML, Cassiday PK, Cortese MM, Wilkins PP, et al. Development and evaluation of dual-target real-time polymerase chain reaction assays to detect *Bordetella* spp. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2008;61:264-272.
17. Public Health Agency of Canada. Proceedings of National Microbiology Laboratory Pertussis Workshop. *CCDR: Canada Communicable Disease*

Report Winnipeg 2006;32S4:1-22. [cited 2011 Nov 12]. Available from:  
<http://www.phac-aspc.gc.ca/publicat/ccdr-rmtc/06vol32/32s4/index-eng.php>>.

18. Ministério da Saúde (Brasil). Secretaria de Vigilância em Saúde. Guia de Vigilância epidemiológica. 7<sup>a</sup> ed. Brasília, DF. Normas e Manuais Técnicos; 2009. 813p
19. Cardoso AV, Santos ZMG. Coqueluche: cenário mundial e no Brasil, estratégias de eliminação e controle: informe técnico. [cited 2012 Jan 12]. Available from <http://www.cve.saude.sp.gov.br/htm/resp/pdf/IFM>
20. Baptista PN, Magalhães VS, Rodriguez LC. The role of adults in household outbreaks of pertussis. *Int J Infect Dis* 2010;14(2):111-4.
21. Birkebaek NH, Kristiansen M, Seefeldt T, Degn J, Moller A, Heron I, et al. Bordetella pertussis and Chronic Cough in Adults *Clin Infect Dis* 1999;29:1239-42
22. Jenkinson D. Duration of effectiveness of pertussis vaccine: evidence from a 10 year community study. *Br Med J (Clin Res Ed)* 1988;296(6622): 612-614.
23. Kusters K, Riffelmann M, Wirsing von Konig CH. Evaluation of a real-time PCR assay for detection of Bordetella pertussis and B.parapertussis in clinical samples. *J Med.Microbiol* 2001; 50:436-440.
24. Chan LE, Antonishyn N, McDonald R, Maksymiw T, Pieroni P, Nagle E, et al. The use of TaqMan PCR Assay for detection of Bordetella Pertussis Infection Clinical Specimens. *Arch Pathol Lab Med* 2002;126:173-6.
25. Campins-Marti M, Cheng HK, Forsyth K, Guiso N, Halperin S, Huang LM, et al. Recommendations are needed for adolescent and adult pertussis immunization: rationale and strategies for consideration. *Vaccine* 2002;20:641-6.



Grupo de Pesquisa de Coqueluche:

**Andrea Rosane Sousa Silva** – Enfermeira, Mestre pela Universidade de Pernambuco.

**Nadjla Ferreira Souza** – Biomédica do Laboratório Central de Pernambuco (LACEN).

**Deize Gomes Cavalcanti de Matos** - Biomédica do Laboratório Central de Pernambuco (LACEN).

**Ana Kelly Lins Pessoa** - Mestre Bacteriologista do Laboratório Marcelo Magalhães.

## 8.2 ARTIGO 2

Artigo submetido à revista Bio Med. Central Infect Diseases

**Título: Reação em cadeia da polimerase em tempo real (PCR) para diagnóstico da coqueluche em adolescentes e adultos atendidos nos ambulatórios da rede pública de Saúde do Recife**

**Autores:** Analíria Moraes Pimentel<sup>1</sup>, Paulo Neves Baptista<sup>2</sup>, Ricardo Arraes de Alencar Ximenes<sup>3</sup>, Laura Cunha Rodrigues<sup>4</sup>, Vera Magalhães<sup>5</sup>, Grupo de Pesquisa de Coqueluche<sup>6</sup>.

Mestre. Doutoranda. Professora Adjunta da Universidade de Pernambuco<sup>1</sup>

Doutor. Professor Adjunto da Universidade de Pernambuco<sup>2</sup>

Doutor. Professor Adjunto da Universidade de Pernambuco<sup>3</sup>

Doutora. Professora de Epidemiologia das Doenças Infecciosas, Diretora da Faculdade de Epidemiologia da Universidade de Londres<sup>4</sup>.

Doutora. Professora Titular da Disciplina de Medicina Tropical da Universidade de Pernambuco<sup>5</sup>

### **Correspondência para o autor:**

Analíria Moraes Pimentel

Rua Apipucos, nº 355, Apto. 502

Bairro de Apipucos, Recife, Pernambuco, Brasil

CEP. 52.071-000

Telefone: +558132675078

Email: analiriapimentel@terra.com.br

## Resumo

**Objetivo:** Estimar a frequência da positividade da PCR e cultura para *Bordetella pertussis* entre adolescentes e adultos com tosse prolongada por mais de 14 dias e menos de 30 dias. **Métodos:** Foram selecionadas aleatoriamente para a pesquisa 10 Unidades Ambulatoriais do Sistema Público de Saúde na cidade do Recife, Brasil. Indivíduos maiores de 10 anos com tosse há mais de 14 dias e menos que 30 dias foram incluídos. Coletou-se secreção de nasofaringe com “swab” de todos os participantes da pesquisa, para realização de cultura e reação em cadeia de polimerase em tempo real (PCR) para identificação da *Bordetella pertussis*. A definição de caso de coqueluche utilizada na pesquisa atual foi a mesma empregada pelo Centro para Controle e Prevenção de Doenças dos Estados Unidos (CDC)<sup>1</sup>.

**Resultados:** Foram identificados 192 indivíduos que preenchiam os critérios de inclusão, no período de agosto de 2010 a julho de 2011. A média de idade foi de 40,7 anos, variando de 10 a 84 anos com  $dp \pm 17,8$  anos, sendo 55,7% (107/192) maior de 40 anos de idade, 27,6% (53/192) entre 20 e 39 anos e 16,7% (32/192) entre 10 e 19 anos. Entre os casos suspeitos, 70% (134/192) foram do sexo feminino. A coqueluche foi confirmada em 5% (10/192) dos casos suspeitos. A PCR propiciou o diagnóstico de 100% dos casos e a cultura confirmou 10% (1/10) dos casos. Todos os casos confirmados por PCR e por vínculo epidemiológico preenchiam o critério clínico de definição de caso de coqueluche do CDC.

**Conclusão:** O uso da PCR para o diagnóstico da coqueluche pode aumentar o número de casos confirmados entre adolescentes e adultos, mesmo quando coletados entre o 14º e 30º dia após início dos sintomas e em períodos interepidêmico.

**Palavra Chave:** Coqueluche; Tosse prolongada; Adolescentes e adultos; Diagnóstico laboratorial

## Introdução

Nas últimas décadas, vários países têm notificado surtos e epidemias de coqueluche<sup>2</sup>. Esses fatos têm chamado a atenção por vários motivos: as epidemias têm ocorrido em países com boa cobertura vacinal<sup>3</sup>, a coqueluche é importante causa de hospitalização e óbitos em menores de um ano de idade<sup>4</sup>. Adolescentes e adultos têm sido identificados como principais fontes de infecção da doença.<sup>3,4,5</sup>

A variedade e limitações nos métodos diagnósticos utilizados nos diversos países constituem algumas das principais dificuldades encontradas pela Organização Mundial de Saúde (OMS) para avaliar as informações fornecidas e elaborar estratégias de controle da coqueluche.<sup>1,3,6,7</sup>

A maioria dos Centros de Vigilância Epidemiológica dos países desenvolvidos utiliza, para confirmação de casos de coqueluche, além da cultura de nasofaringe, métodos diagnósticos mais sensíveis, como a reação em cadeia de polimerase (PCR) e, em algumas regiões, a sorologia<sup>1,3,8</sup>. Um caso suspeito de coqueluche é confirmado por isolamento da *Bordetella pertussis* por cultura, por PCR, sorologia para identificação de anticorpos antipertussis ou vínculo epidemiológico. A sensibilidade desses testes laboratoriais varia, principalmente, com a idade do paciente, fase da doença, uso prévio de antibiótico e estado vacinal<sup>3,7</sup>.

Em 2011, o grupo técnico assessor para doenças preveníveis por vacina da Organização Pan Americana de Saúde (TAG) recomendou maior empenho dos países da América Latina na vigilância epidemiológica da coqueluche<sup>6</sup>.

Para melhor vigilância epidemiológica, é necessário que novos métodos diagnósticos para confirmação de casos de coqueluche sejam incorporados à rotina dos Serviços Públicos de Saúde. Em adolescentes e adultos, o diagnóstico é geralmente tardio<sup>8, 9,10</sup>. A cultura, considerada padrão ouro, tem positividade muito baixa, quando coletada a partir da segunda semana após o início da tosse<sup>11</sup>. O uso da cultura como único exame laboratorial para confirmação de casos de coqueluche leva a uma subestimativa da real prevalência da doença<sup>1</sup>. Diversos estudos demonstram que o uso de PCR e da sorologia aumenta o número de casos

confirmados<sup>12, 13,14</sup>. A positividade da PCR varia de 73% a 100% e, da cultura, de 30 a 50%<sup>1,9,15</sup>. A PCR não sofre influência com uso prévio de antibiótico e fornece resultado mais rápido que a cultura. No Brasil, a PCR não é utilizada de rotina como método diagnóstico na Rede Pública de Saúde<sup>16, 17</sup>.

Este estudo tem como objetivo estimar a frequência da positividade da PCR e cultura entre adolescentes e adultos com tosse por mais de 14 dias e menos de 30 dias assistidos pelas Unidades de Saúde da Rede Pública da cidade do Recife.

## Material e Método

O estudo foi realizado em dez unidades ambulatoriais do Sistema de Saúde Pública na cidade do Recife, Brasil. As Unidades de Saúde de cada um dos seis Distritos Sanitários da cidade foram aleatoriamente selecionadas com probabilidade proporcional ao número de atendimentos. O número de indivíduos selecionados em cada Unidade de Saúde foi proporcional à população do Distrito Sanitário ao qual pertencia a Unidade. Antes da coleta da secreção de nasofaringe para PCR e cultura, os participantes responderam a um questionário- padrão com informações sobre idade, data do início da tosse e outros sinais e sintomas. No período de agosto de 2010 a julho de 2011, os indivíduos maiores de 10 anos, com tosse há mais de 14 e menos de 30 dias foram considerados casos suspeitos de coqueluche e incluídos no estudo. Foram excluídos os indivíduos imunodeprimidos, ou que apresentavam: tuberculose, bronquite crônica, outras doenças crônicas que evoluem com tosse ou uso de drogas que causem tosse. Dez graduandos de Enfermagem foram treinados por uma enfermeira para a coleta do “swab” nasal.

Foi considerado como critério de definição de caso clínico de coqueluche: tosse por mais de 14 dias, associada a pelo menos um dos sintomas: tosse paroxística, guincho inspiratório, vômitos pós-tosse; sem outra causa aparente da tosse. Os casos suspeitos de coqueluche foram confirmados por cultura positiva para *B. pertussis* ou indivíduos que preenchiam os critérios de definição de caso clínico de coqueluche e PCR positiva. Foram considerados, também, casos confirmados, os indivíduos que preenchiam os critérios de definição de caso clínico e eram contatos domiciliares de casos confirmados por cultura ou PCR.

O material para cultura e PCR foi coletado por “swab” de nasofaringe em narinas individuais para cada procedimento. O swab coletado para cultura foi inoculado no meio de transporte equivalente a 50% da concentração do meio de Regan-Lowe (Oxoid Ltd., Columbia, Md.), e no laboratório semeado no meio de Reagan Lowe (Oxoid Ltd., Columbia, Md.), tornado seletivo pela adição de cefalexina 40mg/L. As colônias suspeitas de serem *B. pertussis* foram confirmadas através de provas bioquímicas. A PCR em tempo real utilizou *primers* e sonda TaqMan® específicos para a região IS 481<sup>18,19</sup>.

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Oswaldo Cruz, protocolo nº 029/2008. Todos os participantes assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

Os dados obtidos foram codificados e processados no “software” de estatística Epi-info versão 6.0.4 (CDC). Foi realizada uma análise descritiva dos dados por meio de distribuição de frequência e média com seus respectivos desvios-padrões. Na análise comparativa da idade dos suspeitos segundo a positividade para coqueluche foi aplicado o Teste t de *student* para amostras independentes e testada a normalidade pelo Teste de Komogorov-Smirnov. Na análise das associações, quando a variável independente era categórica, foi utilizado o Teste Exato de Fischer. A significância estatística adotada para análise das hipóteses foi de 5% ( $p < 0,05$ ).

## Resultados

Foram selecionados 192 indivíduos suspeitos de coqueluche. Entre eles, 5% (10/192) tiveram o diagnóstico de coqueluche confirmado por cultura e PCR (Tabela 1). A média de idade foi de 40,7 anos, variando de 10 a 84 anos com  $dp \pm 17,8$  anos, sendo 55,7% (107/192) maior de 40 anos de idade, 27,6% (53/192) entre 20 e 39 anos e 16,7% (32/192) entre 10 e 19 anos. O sexo feminino correspondeu a 70,0% (134/192) dos indivíduos. A cultura e a PCR foram positivas para *B. pertussis* em um paciente (Tabela 1). A sensibilidade da PCR foi de 94%.

Entre os 10 casos confirmados de coqueluche, cinco foram casos índices que levaram à identificação de cinco novos casos.

**Tabela 1.** Critérios de confirmação do diagnóstico de coqueluche em adolescentes e adultos com tosse prolongada.

	Positivos	(%)	IC (95%)
Cultura	1/10	10%	0,25%-44,5%
CR em tempo real	7/10	70%	34,7%-93,3%
Vínculo epidemiológico	3/10	30%	6,7%-65,2%

## Discussão

Este estudo foi realizado em um período interepidêmico, podendo ter influenciado no baixo número de indivíduos elegíveis<sup>16, 17</sup>. A secreção de nasofaringe foi coletada a partir de 14 dias do início da tosse, podendo ter dificultado o diagnóstico etiológico da coqueluche, através da cultura e PCR em nosso estudo. Entre os casos suspeitos de coqueluche, 10,5% (21/192) apresentavam tosse por mais de 21 dias. Esses dois eventos podem ter levado a resultados falso-negativos da cultura e PCR<sup>1</sup>.

O uso da PCR possibilitou a confirmação de 100% dos casos. Entre eles, 70% foram confirmados por PCR positiva e 30%, por vínculo epidemiológico com um caso confirmado por cultura e PCR. Caso tivesse sido utilizada apenas a cultura, a confirmação dos casos seria de 10 %. Tozzi et al., em 2005, em revisão de cinco estudos de coqueluche em adultos sintomáticos, observou que nesses estudos a sensibilidade da cultura variou de 1-30% e a PCR, de 3-50%<sup>11</sup>. Schläpfer (1995), em estudo prospectivo em indivíduos com tosse, utilizando simultaneamente cultura e PCR para *B. pertussis*, obteve quatro vezes mais resultados positivos através da PCR, quando comparado com a cultura<sup>20</sup>.

Em nosso estudo, a cultura foi positiva para *B. pertussis* em apenas um paciente que também teve a PCR positiva. Vários estudos têm demonstrado a baixa

sensibilidade da cultura para confirmação de caso de coqueluche quando comparada com a PCR e sorologia<sup>12,13,15,24</sup>. Schmidt – Schläpfer (1997), observou em seu estudo, aumento de 2,6 vezes mais casos confirmados por PCR quando comparado com os casos confirmados por cultura<sup>21</sup>. Birkebaek, em estudo semelhante, confirmou 2% dos casos por cultura e 5,5% com PCR<sup>22</sup>. Knorr et al. (2006), de 808 espécimes testados por PCR, cultura e imunofluorescência direta, 79 foram casos positivos pelos três métodos. A cultura confirmou 48,1% dos casos e a PCR, 83,5% dos casos.

Quando comparados PCR com os casos confirmados pela cultura, a PCR detectou 1,7 vezes mais casos<sup>23</sup>. A *B. pertussis* é de difícil cultivo. Sua positividade é maior no final do período de incubação, durante a fase catarral e início da fase paroxística da doença. A menor positividade da cultura acontece quando as amostras são coletadas durante a fase paroxística entre três e seis semanas de doença. Nos adultos, em que a doença tem diagnóstico tardio, a positividade da cultura é baixa, variando de zero a trinta por cento<sup>1,11</sup>. A PCR, embora em uma intensidade menor que a cultura, até a terceira semana dos sintomas (tosse) apresenta maior positividade em relação à cultura<sup>24</sup>. Após 14 dias de doença, a positividade da PCR tende a cair<sup>1,9</sup>.

Em alguns laboratórios, a PCR tem sido o único teste diagnóstico utilizado para confirmação de caso de coqueluche, pela elevada sensibilidade e facilidade de execução em relação à cultura<sup>1</sup>.

## **Conclusão**

O uso da PCR para o diagnóstico da coqueluche pode aumentar o número de casos confirmados entre adolescentes e adultos, mesmo quando coletados entre o 14º e 30º dia após início dos sintomas e em períodos interepidêmicos.



## Referências

1. FAULKNER A, et al. Pertussis. In: Centers for Disease Control and Prevention. Manual for the surveillance of vaccine-preventable Disease. 5<sup>th</sup> ed. Atlanta: CDC; 2011. cap. 10. [cited 2011 Oct 15]. Available from: <http://www.cdc.gov/pertussis/outbreaks.html>
2. Hellenbrand W, Beier D, Jensen E, Littmann M, Meyer C, Littmann M, et al. The epidemiology of pertussis in Germany: past and present. BMC Infect Dis 2009; 9:22.
3. World Health Organization. Pertussis (whooping cough): immunization, vaccines and biologicals. [cited 2012 Jan 20]. Available from: <http://www.who.int/immunization/topics/pertussis/en/>.
4. Hewlett EL, Edwards KM. Pertussis-not just kids. N Engl J Med 2005; 352:1215-22.
5. Baptista PN, Magalhães VS, Rodrigues LC, Rocha MAW, Pimentel AM. Source of infection in household transmission of culture-confirmed pertussis in Brazil. Pediatr Infect Dis J 2005;24(11):1027-28.
6. Pan American Health Organization. XIX TAG meeting: vaccinate your family: protect your community. Immunization Newsletter, 2011;33(4):1-8.
7. Wendelboe AM, Van Rie A. Diagnosis of pertussis: a historical review and recent developments. Expert Rev Mol Diagn 2006;6:857-864.
8. Ulloa Gutierrez R, Avila-Aguero ML. Pertussis in Latin America: current situation and future vaccination challenges. Expert Rev Vaccines 2008;7:1569-1580.
9. Public Health Agency of Australia. Department of Health and Ageing. Pertussis Laboratory Case. Consensus: date 18 April 2011. Winnipeg; 2011. [cited 2011 Nov 12]. Available from:

<http://www.health.gov.au/internet/main/publishing.nsf/content/cda-phlncd-pertussis.html>

10. Cherry JD, Grimpel 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.
11. Tozzi AE, Celentano LP, Ciofi degli Atti ML, Salmaso S. Diagnosis and management of pertussis. *CMAJ* 2005;172:509-515.
12. Bejuk D, Begovac J, Bace A, Kuzmanovic-Sterk N, Aleraj B. Culture of *Bordetella pertussis* from three upper respiratory tract specimens. *Pediatr Infect Dis J* 1995;14:64–5.
13. Sintchenko V. The re-emergence of pertussis: implications for diagnosis and surveillance. *NSW Public Health Bull* 2008;19:143-18.
14. Campins-Marti M, Cheng HK, Forsyth K, Guiso N, Halperin S, Huang LM, et al. Recommendations are needed for adolescent and adult pertussis immunization: rationale and strategies for consideration. *Vaccine* 2002;20:641-646.
15. Centers for Disease Control and Prevention. Best practices for health care professionals on the use of polymerase chain reaction (PCR) for diagnosing pertussis. 2011. Atlanta: CDC; 2011. [cited 2012 Abr. 18]. Available from: <http://www.cdc.gov/pertussis/clinical/diagnostic-testing/diagnosis-pcr-bestpractices.html>
16. Ministério da Saúde (Brasil). Secretaria de Vigilância em Saúde. Guia de Vigilância epidemiológica. 7ª ed. Brasília, DF. Normas e Manuais Técnicos; 2009. 813p.
17. Cardoso AV, Santos ZMG. Coqueluche: cenário mundial e no Brasil, estratégias de eliminação e controle: informe técnico. [cited 2012 Jan. 12]. Available from: <http://www.cve.saude.sp.gov.br/htm/resp/pdf/IFM>

18. Kösters K, Riffelmann M, Wirsing von König, CH. Evaluation of a real-time PCR assay for detection of *Bordetella pertussis* and *B. parapertussis* in clinical samples. *J Med. Microbiol* 2001;50:436-440.
19. Tatti KM, Slade B, Patel M, Messonnier N, Kirkland KB, Talbot EA, et al. Real Time polymerase chain reaction detection of *Bordetella pertussis*. *Pediatr Infect Dis J* 2008;27(1):73-4
20. Schläpfer G, Cherry JD, Heininger U et al. Polymerase chain reaction identification of *Bordetella pertussis* infections in vaccinees and family members in pertussis vaccine efficacy trial in Germany. *Pediatr Infect Dis J* 1995; 14:209-214.
21. Schmidt-Schläpfer G, Liese JG, Porter F, Stojanov S, Just M, Belohradsky BH. Polymerase chain reaction (PCR) compared with conventional identification in culture for detection of *Bordetella pertussis* in 7153 children. *Clin Microbiol Infect.* 1997;3(4):462-467.
22. Birkebaek NH, Kristiansen M, Seefeldt T, Degn J, Møller M, Heron I, et al. *Bordetella pertussis* and chronic cough in adults. *Clin Infect Dis* 1999;29(5):1239-1242.
23. Knorr L, Fox JD, Tilley PAG, Bentley J. Evaluation of real-time PCR for diagnosis of *Bordetella pertussis* infection. *BMC Infect Dis* 2006;6:62.
24. Riffelmann M, Caro V, Guiso N, Wirsing von König CH. Nucleic acid amplification tests for diagnosis of *Bordetella* infections. *J Clin Microbiol* 2005;43:4925-29.

Grupo de Pesquisa de Coqueluche:

**Andrea Rosane Sousa Silva** – Enfermeira, Mestre pela Universidade de Pernambuco.

**Nadjla Ferreira Souza** – Biomédica do Laboratório Central de Pernambuco (LACEN).

**Deize Gomes Cavalcanti de Matos** - Biomédica do Laboratório Central de Pernambuco (LACEN)

**Ana Kelly Lins Pessoa** - Mestre Bacteriologista do Laboratório Marcelo Magalhães.

## 9 CONCLUSÃO

Apesar da limitação dos estudos de prevalência, foi possível estimar a prevalência da coqueluche entre adolescentes e adultos com tosse por mais de 14 e menos de 30 dias atendidos em Unidades de Saúde da cidade do Recife.

A realização da pesquisa em um período interepidêmico da coqueluche e o critério de inserção no estudo – tosse por mais de duas semanas – pode ter influenciado na baixa prevalência observada.

A PCR foi responsável por 100% dos diagnósticos de coqueluche confirmados.

É importante informar que, durante o período da pesquisa, a Secretaria de Saúde do Recife, que utiliza apenas a cultura como teste diagnóstico, não identificou nenhum paciente adolescente ou adulto com coqueluche.

## 10 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A prevalência da coqueluche estimada em 5% entre adolescentes e adultos em um período interepidêmico torna-se importante porque estudos anteriores identificaram essa faixa etária como principal fonte de infecção para os menores de seis meses de idade. O uso da PCR possibilitou o diagnóstico de 100% dos casos.

Medidas de controle da coqueluche nessa faixa etária com o objetivo de proteger os menores de seis meses de idade, que apresentam as formas graves da doença e não têm tempo de vida suficiente para completar o esquema básico de vacina devem ser analisadas com atenção.

Para melhor reconhecimento de casos a vigilância da doença em nossa cidade deve refletir sobre a necessidade da inserção de métodos diagnósticos mais sensíveis, como a PCR, para confirmação de casos de coqueluche, incorporando o mesmo à rotina dos Serviços Públicos de Saúde.

## REFERÊNCIAS

ALTUNAIJI, S. et al. Antibiotics for whooping cough (pertussis). **Cochrane Database syst. rev.**, Oxford, v. 18, n. 3, p. 1-60, July 2007.

ANTICO, A.; FABOZZI, F.; SCIPIOTTI, C. Pertussis in adults: a study in an Italian population with chronic cough. **Monaldi arch. chest. dis.**, Pavia, v. 57, n. 5/6, p. 247-52, Oct./Dec. 2002.

AUSTRÁLIA. Department of Health and Ageing. **Notifications of a selected disease by month and year: pertussis**. Disponível em: <[http://www9.health.gov.au/cda/source/Rpt\\_3\\_sel.cfm](http://www9.health.gov.au/cda/source/Rpt_3_sel.cfm)>. Acesso em: 10 dez. 2011a.

\_\_\_\_\_. **Pertussis laboratory case definition (LCD)**: consensus date 2011. Disponível em: <<http://www.health.gov.au/internet/main/publishing.nsf/Content/cda-phlncd-pertussis.htm>>. Acesso em: 3 nov. 2011b.

BARRET, A. S. et al. Pertussis outbreak in North West Ireland, january-june, 2010. **Euro surveill.**, Saint-Maurice, v. 15, n. 35, p. 1-5, Sept. 2010. Disponível em: <<http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=19654>>. Acesso em: 10 dez. 2011.

BEJUK, D. et al. Culture of Bordetella pertussis from three upper respiratory tract specimens. **Pediatr. infect. dis. J.**, Baltimore, v. 14, p. 64-65, 1995.

BÍBLIA. A. T. O livro de provérbios. Português. In: BÍBLIA **sagrada contendo o antigo e novo testamento**. Versão traduzida por João Ferreira de Almeida. 2. ed. rev. e atual. Santo André: Geográfica, 2011. p. 719.

\_\_\_\_\_. \_\_\_\_\_. Versão traduzida por João Ferreira de Almeida. 2. ed. rev. e atual. Santo André: Geográfica, 2011. p. 738.

BIDET, P. et al. Real-Time PCR measurement of persistence of Bordetella pertussis DNA in nasopharyngeal secretions during antibiotic treatment of young children with pertussis. **J. clin. microbiol.**, Washington, v. 46, n. 11, p. 3636-3638, Nov. 2008.

BIRKEBAEK, N. H. et al. Bordetella pertussis and chronic cough in adults. **Clin. infect. dis.**, Chicago, v. 29, n. 5, p. 1239-42, Nov. 1999.

BISGARD, K. M. et al. Infant pertussis: who was the source? **Pediatr. infect. dis. J.**, Baltimore, v. 23, n. 11, p. 985-989, Nov. 2004.

BLACK, S. Epidemiology of pertussis. **Pediatr. infect dis J.**, Baltimore, v. 16, supl. 4, p. S85-S89, Apr. 1997.

BORDET, J.; GENGOU, O. Le microbe de la coqueluche. **Ann. Inst. Pasteur**, Paris, v. 20, p. 731-741, 1906.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Doenças infecciosas e parasitárias**: guia de bolso. 8. ed. rev. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Guia de vigilância epidemiológica**. 7. ed. Brasília, DF. Normas e Manuais Técnicos, 2009. 813 p.

\_\_\_\_\_. **Informe técnico sobre coqueluche no Brasil em 2011**. Disponível em: <<http://dtr2004.saude.gov.br/sinanweb/tabnet/tabnet/sinannet/coqueluche/bases/coquebrnet.def>>. Acesso em: 10 dez. 2011.

\_\_\_\_\_. **SINAN (Sistema de Informação de Agravos de Notificação)**. Brasília, DF, 2010. Disponível em: <[http://www.who.int/immunization\\_monitoring/en/globalsummary/tim/series/TSincidencebycountry.cfm/country=Brazil](http://www.who.int/immunization_monitoring/en/globalsummary/tim/series/TSincidencebycountry.cfm/country=Brazil)>. Acesso em: 10 dez. 2011.

BRICKS, L. F. Coqueluche. In: AMATO NETO, V. (Ed.). **Imunizações**. São Paulo: Segmento Farma, 2011. p. 168-175.

BAPTISTA, P. N. et al. Source of infection in household transmission of culture-confirmed pertussis in Brazil. **Pediatr infect. dis. J.**, Baltimore, v. 24, n. 11, p. 1027-28, Nov. 2005.

BAPTISTA, P. N.; MAGALHÃES, V. S.; RODRIGUES, L. S. The role of adults in household outbreaks of pertussis. **Int. J. Infect. Dis.**, Hamilton, v. 14, n. 2, p. 11-4, Feb. 2010.

BRODER, K. R. et al. Preventing tetanus, diphtheria and pertussis among adolescents: use of tetanus toxoid, reduced diphtheria toxoid and acellular pertussis vaccines recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). **MMWR recomm. rep.**, Atlanta, v. 24, n. 55, p. 1-34, Mar. 2006.

CAMPINS-MARTI, M. et al. Recommendations are needed for adolescent and adult pertussis immunization: rationale and strategies for consideration. **Vaccine**, Kidlington, v. 20, n. 5/6, p. 641-646, Dec. 2002.

\_\_\_\_\_. Current epidemiologic situation of whooping cough-global scenario. **BEPA**, São Paulo, v. 9, n. 97, p. 26-36, Jan. 2012. Disponível em: <<http://www.cve.saude.sp.gov.br/bepa/pdf/bepa9712.pdf>>. Acesso em: 18 mar. 2012.

CARDOSO, A. V.; SANTOS, Z. M. G. **Coqueluche**: cenário mundial e no Brasil, estratégias de eliminação e controle. Disponível em: <<http://www.cve.saude.sp.gov.br/htm/resp/pdf/IFM>>. Acesso em: 12 jan. 2012.

CARVALHANAS, T. R. M. **Coqueluche**: uma doença reemergente. Disponível em: <<http://prophylaxis.com.br/coqueluche-uma-doenca-reemergente-novas-recomendacoes/>>. Acesso em: 22 fev. 2012.



CARVALHANAS, T. R. M. et al. **Real-Time Polymerase chain reaction (RT-PCR) improved pertussis diagnosis in São Paulo State in 2009/2010, Brazil.**

Disponível em: <<http://www.kenes.com/esp/2011/cd/pdf/P285.pdf>>. Acesso em: 22 nov. 2011.

CARVALHO, A. P. de; PEREIRA, E. M. Acellular pertussis vaccine for adolescent. **J. pediatr.**, Porto Alegre, v. 82, n. 3, p. 3S15-S24, July 2006.

CARVALHO, L. H. F.; PRESA, J. V. Coqueluche. In: FARHAT, C. K. et al. (Ed.). **Imunizações, fundamentos e práticas**. 5.ª ed. São Paulo: Atheneu, 2008. p. 263-296.

CELENTANO, L. P. et al. Resurgence of pertussis in Europe. **Pediatr. infect. dis. J.**, Baltimore, v. 24, n. 9, p. 761-765, Sept. 2005.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **Best practices for health care professionals on the use of polymerase chain reaction (PCR) for diagnosing pertussis**. Atlanta: CDC, 2011a. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/pertussis/clinical/diagnostic-testing/diagnosis-pcr-bestpractices.html>>. Acesso em: 18 abr. 2012.

\_\_\_\_\_. Morbidity and mortality weekly report. **MMWR morb. mortal. wkly. rep.**, Atlanta, v. 59, n. 6, p. 797-833, July, 2010. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm5926a5.htm>>. Acesso em: 10 dez. 2011.

\_\_\_\_\_. **Pertussis**: epidemiology and prevention of vaccine-preventable diseases. 12th ed. [S. l.]: The Pink Book: Course Textbook, 2012a. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/vaccines/pubs/pinkbook/pert.html>>. Acesso em: 22 maio 2012.

\_\_\_\_\_. **Pertussis (whooping cough)**: immunization, vaccines and biologicals. Disponível em: <<http://www.who.int/immunization/topics/pertussis/en/>>. Acesso em: 20 jan. 2012b.

\_\_\_\_\_. **Pertussis (whooping cough)**: outbreaks. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/pertussis/outbreaks.html>>. Acesso em: 18 jan. 2012c.

\_\_\_\_\_. **Pertussis (whooping cough)**: vaccine preventable diseases. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/vaccines/pubs/surv-manual/chot10-pertussis.html>>. Acesso em: 18 ago. 2011b.

CHAN, L. E. et al The use of TaqMan PCR Assay for detection of Bordetella Pertussis infection clinical specimens. **Arch. pathol. lab. med.**, Chicago, v. 126, n. 2, p.173-176, Feb. 2002.

CHERRY, D. et al. Defining pertussis epidemiology clinical, microbiologic and serologic perspectives. **Pediatr. infect. dis. J.**, Baltimore, v. 24, supl. 5, p. S25-34, May 2005.

CORTESE, M. M. et al. "New age" in pertussis prevention new opportunities through adult vaccination. **Am. j. prev. med.**, New York, v. 32, n. 3, p. 177-185, 2007.

\_\_\_\_\_. Pertussis hospitalizations among infants in the United States, 1993 to 2004. **Pediatrics**, Evanston, v. 121, n. 3, p. 484-92, Mar. 2008.

CRESPO, I. et al. Epidemiology of pertussis in a country with high vaccination coverage. **Vaccine**, Kidlington, v. 29, n. 25, p. 4244-4248, June 2011.

CROWCROFT, N. S.; PEBODY, R. G. Recent developments in pertussis. **Lancet**, London, v. 367, n. 9526, p. 1926-1936, June 2006.

DEVILLE, J. G. et al. Frequency of unrecognized Bordetella pertussis infections in adults. **Clin. infect. dis.**, Chicago, v. 21, n. 3, p. 639-642, Sept. 1995.

DILLI, D. et al. Recent findings on pertussis epidemiology in Turkey. **Eur. j. clin. microbiol. infect. dis.**, Berlin, v. 27, n. 5, p. 335-341, Jan. 2008.

DRAGSTED, D. M. et al. Comparison of culture and PCR for detection of Bordetella pertussis and Bordetella parapertussis under routine laboratory conditions. **J. med. microbiol.**, London, v. 53, pt. 8, p. 749-754, Aug. 2004.

EDWARDS, K. M.; DECKER, M. D. Pertussis vaccines. In: PLOTKIN, A. S.; ORENSTEIN, W. A.; OFFIT, P. A. **Vaccines**. 5<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Saunders, 2008. p. 467-517.

EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL. **Annual epidemiological report 2011**: reporting on 2009 surveillance data and 2010 epidemic intelligence data. Stockholm: ECDC, 2011. Disponível em: <[http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/1111\\_SUR\\_Annual\\_Epidemiological\\_Report\\_on\\_Communicable\\_Diseases\\_in\\_Europe.pdf](http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/1111_SUR_Annual_Epidemiological_Report_on_Communicable_Diseases_in_Europe.pdf)>. Acesso em: 15 out. 2011.

\_\_\_\_\_. **Pertussis surveillance report 2010**. Stockholm: ECDC, 2010. Disponível em: <[http://ecdc.europa.eu/en/publications/publications/pertussis\\_report\\_2010\\_eucavnet.pdf](http://ecdc.europa.eu/en/publications/publications/pertussis_report_2010_eucavnet.pdf)>. Acesso em: 15 out. 2011.

FARAH, S. B. **DNA**: segredos e mistérios. 2<sup>a</sup> ed. São Paulo: Sarvier, 2007.

FAULKNER, A. et al. Pertussis. In: CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **Surveillance manual**. 5<sup>th</sup> ed. Atlanta: CDC, 2011. cap. 10. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/pertussis/outbreaks.html>>. Acesso em: 15 out. 2011.

GILBERG, N. et al. Evidence of Bordetella pertussis infection in adults presenting with persistent cough in a French area with very high whole-cell vaccine coverage. **J. infect. dis.**, Chicago, v. 186, n. 3, p. 415-418, July 2002.

GUIISO, N. et al. The global pertussis initiative: report from a round table meeting to discuss the epidemiology and detection of pertussis, Paris, France. **Vaccine**, Kidlington, v. 29, n. 6, p. 1115-1121, Feb. 2011.

GÜRIS, D. et al. Changing epidemiology of pertussis in the United States: increasing reported incidence among adolescents and adults, 1990–1996. **Clin. infect. dis.**, Chicago, v. 28, n. 6, p. 1230–1237, June 1999.

GZYL A, A. E. et al. Pertussis in Poland. **Int. j. epidemiol.**, Oxford, v. 33, n. 2, p. 358-365, Apr. 2004.

HAMPL, S. D.; OLSON, L. C. Pertussis in young infant. **Semin. respir. infect.**, Philadelphia, v. 10, n. 1, p. 58-62, Mar. 1995.

HEININGER, U. What the pediatric infectious disease specialist should know. **Pediatric. infect. dis. J.**, Baltimore, v. 31, n. 1, p. 78-79, Jan. 2012.

HELLENBRAND, W. et al. The epidemiology of pertussis in Germany: past and present. **BMC infect. dis.**, London, v. 9, p. 1-11, Feb. 2009.

HEWLETT EL, B. Species. In: MANDELL, G. L.; BENNET, J. E.; DOLIN, R. **Principles and practices of infectious diseases**. 6<sup>th</sup> ed. USA: Churchill Livingstone, 2004. cap. 227, p. 2701-2707.

HEWLETT, E. L.; EDWARDS, K. M. Pertussis: not just for kids. **N. Engl. j. med.**, Boston, v. 352, p. 1215-1222, Mar. 2005.

HU, J. J. et al. Survey of Pertussis in patients with prolonged cough. **J. microbiol. immunol. infect.**, Hong Kong, v. 39, n. 1, p. 54-58, Feb. 2006.

JARDINE, A. et al. Who gives pertussis to infants? Source of infection for laboratory confirmed cases less than 12 months of age during an epidemic, Sydney, 2009. **Commun. dis. intell.**, Canbera, v. 34, n. 2, p. 116-121, June 2010.

JENKINSON, D. Duration of effectiveness of pertussis vaccine: evidence from a 10 year community study. **Br. med. j. Clin. res. ed.**, London, v. 296, p. 612-14, Feb. 1988.

KNORR, L. et al. Evaluation of real-time PCR for diagnosis of Bordetella pertussis Infection. **BMC infect. dis.**, London, v. 6, p. 1-12, Mar. 2006. Disponível em: <<http://www.biomedcentral.com/content/pdf/1471-2334-6-62.pdf>>. Acesso em: 9 ago. 2011.

KÖSTERS, K.; RIFFELMANN, M.; WIRSING VON KONIG, C. H. Evaluation of a real-time PCR assay for detection of Bordetella pertussis and B.parapertussis in clinical sample. **J. med. microbiol.**, London, v. 50, p. 436-440, 2001.

KOWALZIK, F. et al. Prospective multinational study of pertussis infection in hospitalized infants and their household contacts. **Pediatr. infect. dis. j.**, Baltimore, v. 26, n. 3, p. 238-242, Mar. 2007.

LASSERRE, A. et al. Pertussis incidence among adolescents and adults surveyed in general practices in the Paris area, France, May 2008 to March 2009. **Euro surveill.**, Saint-Maurice, v. 16, n. 5, p. 1-6, Feb. 2011.

LEITE, D. et al. **Comparative analysis of 3.961 nasopharyngeal sample for pertussis diagnosis using RT-PCR and culture in 2010/2011, São Paulo -Brazil.** [S. l.]: ESPID, 2012. Disponível em: <<http://www.kenes.com/esp2012/cdc/pdf/P233.pdf>>. Acesso em: 3 jun. 2012.

LIN, Y. C. et al. Epidemiological shift in prevalence of pertussis in Taiwan: implications for pertussis vaccination. **J. med. microbiol.**, London, v. 56, pt. 4, p. 533-537, Apr. 2007.

MASSAY, S. C. A. Survey of State Public Health Laboratories for Pertussis Diagnostics. **Lab. med. American Society for Clinical Pathology**, [S. l.], v. 38, n. 3, p. 169-171, Mar. 2007.

MERTENS, P. L. J. M. et al. A epidemic of pertussis among elderly people in a religious institution in the Netherlands. **Eur. j. clin. microbiol. infect. dis.**, Berlin, v. 18, n. 4, p. 242-247, 1999.

MINK, C. M.; SIROTA, N. M.; NUGENT, S. Outbreak of pertussis in a fully immunized adolescent and adult population. **Arch. Pediatr. Adolesc. Med.**, Chicago, v. 148, n. 2, p. 153-157, 1994.

MULLER, F. C. et al. Laboratory diagnosis of pertussis: state of art in 1997. **J. clin. microbiol.**, Washington, v. 35, n. 10, p. 2435-2443, Oct. 1997.

MUNOZ, F.; ENGLUND, J. Infant pertussis: is cocooning the answer? **Clin. infect. dis.**, Chicago, v. 53, n. 9, p. 893-896, Sept. 2011.

NENNIG, M. E.; SHINEFIELD, H. R.; EDWARDS, K. M. Prevalence and incidence of adult pertussis in an urban population. **JAMA**, Chicago, v. 275, n. 21, p. 1672-1674, June 1996.

OLIVEIRA E SILVA, R. B. et al. Diagnóstico laboratorial da coqueluche: frequência 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. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 66, n. 2, p. 194-200, 2007.

OLSON, L. C. Pertussis. **Medicine**, Baltimore, v. 54, n. 6, p. 427-469, Nov. 1975.

PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION. **Alerta epidemiológica:** tos ferina (coqueluche) 2 de marzo de 2012. [Washington], 2012. Disponível em: <[http://new.paho.org/hq/index.php?option=com\\_docman&task=doc\\_view&gid=17053&Itemid=>](http://new.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&task=doc_view&gid=17053&Itemid=>)>. Acesso em: 3 abr. 2012.

\_\_\_\_\_. XIX TAG meeting: vaccinate your family: protect your community. **Immunization Newsletter**, [S. l.], v. 33, n. 4 p. 1-8, Aug. 2011.

PERNAMBUCO. Secretaria de Saúde. Secretaria Executiva de Vigilância em Saúde. Diretoria Geral de Controle de Doenças e Agravos. **Boletim informativo**. Recife, 2011.

PLOTKIN, S. The global pertussis initiative: process overview. **Pediatr. infect. dis. J.**, Baltimore, v. 24, supl. 5, p. S7-S9, July 2005.

POSTELS-MULTANI S, S. H. J. et al. Symptoms and complications of pertussis in adults. **Infection**, Munchen, v. 23, n. 3, p. 39-42, May/June 1995.

PUBLIC HEALTH AGENCY OF AUSTRALIA. Department of Health and Ageing Pertussis Laboratory case. **Consensus**: date 18 April 2011. Winnipeg, 2011. Disponível em: <<http://www.health.gov.au/internet/main/publishing.nsf/content/cda-phlncd-pertussis.html>>. Acesso em: 12 nov. 2011.

PUBLIC HEALTH AGENCY OF CANADÁ. Proceedings of National Microbiology Laboratory Pertussis Workshop. **CDCR**: Canadá Communicable Disease Report Winnipeg, v. 32S4, supl., p. 1-22, Nov. 2006. Disponível em: <<http://www.phac-aspc.gc.ca/publicat/ccdr-rmtc/06vol32/32s4/index-eng.php>>. Acesso em: 12 nov. 2011.

\_\_\_\_\_. **Vaccine-preventable diseases**: pertussis. Winnipeg, 2011. Disponível em: <<http://www.phac-aspc.gc.ca/im/vpd-mev/pertussis-eng.php>>. Acesso em: 8 dez. 2011.

QUINN, H. E.; MCINTYRE, P. B. Pertussis epidemiology in Australia over the decade 1995-2005 trends by region and age group. **Commun dis. intell.**, Canberra, v. 31, n. 2, p. 205-15, June 2007.

RECIFE. Secretaria de Saúde. **Informe epidemiológico de doenças imunopreveníveis**: coqueluche. Recife, 2011.

RENOINER, E. I. M. et al. **Coqueluche**: análise de morbimortalidade no Brasil, período de 2000-2006. [S. l.: s. n.], 2006.

RIFFELMANN, M. et al. Nucleic acid amplification tests for diagnosis of Bordetella infections. **J. clin. microbiol.**, Washington, v. 43, n. 10, p. 4925-4929, Oct. 2005.

ROSENTHAL, S. et al. Pertussis infection among adults during the 1993 outbreak in Chicago. **J. infect. dis.**, Chicago, v. 171, n. 6, p. 1650-1652, June 1995.

ROTHSTEIN, E.; EDWARDS, K. Health burden of pertussis in adolescents and adults. **Pediatric. infect. dis. J.**, Baltimore, v. 24, n. 5, p. S44-S47, May 2005.

SCHLÄPFER, G. et al. Polymerase chain reaction identification of Bordetella pertussis infections in vaccinees and family members in pertussis vaccine efficacy trial in Germany. **Pediatr. infect. dis. J.**, Baltimore, v. 14, p. 209-214, 1995.

SCHMIDT-SCHLÄPFER, G. et al. Polymerase chain reaction (PCR) compared with conventional identification in culture for detection of *Bordetella pertussis* in 7153 children. **Clin. microbiol. infect.**, Paris, v. 3, n. 4, p. 462-467, Aug. 1997.

SCHMITT-GROHÉ, S. et al. Pertussis in German adults. **Clin. infect. dis.**, Chicago, v. 21, n. 4, p. 860-866, Oct. 1995.

SENZILET, L. D. et al. Pertussis is a frequent cause of prolonged cough illness in adults and adolescents. **Clin. infect. dis.**, Chicago, v. 32, n. 12, p. 1691-1697, June 2001.

SERRES, G. de et al. Morbidity of pertussis in adolescents and adults. **J. infect. dis.**, Chicago, v. 182, n. 1, p. 174-179, July 2000.

SINTCHENKO, V. The re-emergence of pertussis: implications for diagnosis and surveillance. **N. S. W. public health bull.**, Sydney, v. 19, p. n. 7/8, 143-145, July/Aug. 2008.

STREBEL, P. M. et al. Changing epidemiology of pertussis in the United States. increasing reported incidence among adolescents and adults, 1990-1996. **Clin. infect. dis.**, Chicago, v. 28, n. 6, p. 1230-7, June 1999.

TAN, T.; TRINDADE, E.; SKOWRONSKI, D. Epidemiology of pertussis. **Pediatr. infect. dis. J.**, Baltimore, v. 24, supl. 5, p. S10-18, May 2005.

TATTI, K. M. et al. Development and evaluation of dual-target real-time polymerase chain reaction assays to detect *Bordetella* spp. **Diagn. microbiol. infect. dis.**, New York, v. 61, p. 264-272, July 2008.

\_\_\_\_\_. Real Time polymerase chain reaction detection of *Bordetella pertussis*. **Pediatr. infect. dis. J.**, Baltimore, v. 27, n. 1, p. 73-74, Jan. 2008.

TEMPLETON, K. E. et al. Evaluation of real-time PCR for detection of and discrimination between *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* and *Bordetella holmesii* for Clinical Diagnosis. **J. clin. microbiol.**, Washington, v. 41, n. 9, p. 4121-4126, Sept. 2003.

TOZZI, A. E. et al. Diagnosis and management of pertussis. **CMAJ**, Ottawa, v. 172, n. 4, p. 509-515, Feb. 2005.

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**, Rio de Janeiro, v. 24, n. 1, p. 93-102, jan. 2008.

TROLLFORS, B.; RABO, E. Whooping cough in adults. **BMJ.**, London, v. 283, n. 6293, p. 696-697, Sept. 1981.

ULLOA-GUTIERREZ, R.; ÁVILA-AGUERO, M. L. Pertussis in Latin America: current situation and future vaccination challenges. **Expert rev. vaccines**, [S. l.], v. 7, n. 10, p. 1569-1580, Dec. 2008.

ULLOA-GUTIERREZ, R. et al. The global pertussis initiative. meeting report from the Regional Latin America Meeting, Costa Rica, 5-6 December, 2008. **Human Vaccines**, [S. l.], v. 6, n. 11, p. 876-880, Nov. 2010.

VAN RIE, A. L.; WENDELBOE, A. M.; ENGLUND, J. A. Role of maternal pertussis antibodies in infants. **Pediatr. infect. dis J.**, Baltimore, v. 24, n. 5, p. S62-S65, May 2005.

VON KÖNIG, C. et al. Pertussis of adults and infants. **Lancet infect. dis.**, New York, v. 2, n. 12, p. 744-750, Dec. 2002.

WENDELBOE, A. M. et al. Duration of immunity against pertussis after natural infection or vaccination. **Pediatr. infect. dis. J.**, Baltimore, v. 24, supl. 5, p. S58-S61, May 2005.

\_\_\_\_\_. Transmission of Bordetella pertussis to young infants. **Pediatr. infect. dis. J.**, Baltimore, v. 26, n. 4, p. 293-299, Apr. 2007.

WENDELBOE, A. M.; VAN RIE, A. Diagnosis of pertussis: a historical review and recent developments. **Expert rev. mol. diagn.**, London, v. 6, n. 6, p. 857-864, Nov. 2006.

WIRSING VON KÖNIG, C. H.; TACKEN, A.; FINGER, H. Whooping cough in adults. **Dtsch. med. wochenschr.**, Stuttgart, v. 116, n. 17, p. 649-653, Apr. 1991.

WOOD, N.; MCINTYRE, P. Pertussis: review of epidemiology, diagnosis, management and prevention. **Paediatr. respir. rev.**, London, v. 9, n. 3, p. 201-212, Sept. 2008.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Case definition**. Disponível em: <<http://www.who.int/immunization-monitoring/disease/pertussis-surveillance/en/>>. Acesso em: 5 dez. 2011a.

\_\_\_\_\_. **Pertussis surveillance**: a global meeting Geneva. Disponível em: <<http://www.who.int/vaccines-documents/DocsPDF01/www605.pdf>>. Acesso em: 20 nov. 2011b.

\_\_\_\_\_. Pertussis vaccines-WHO position paper. **Wkly. epidemiol. rec.**, Geneve, v. 80, n. 4, p. 31-39, Jan. 2005.

\_\_\_\_\_. **Pertussis (whooping cough)**. Disponível em: <<http://www.who.int/immunization/topics/pertussis/en/>>. Acesso em: 20 jan. 2012.  
WRIGHT, S. W. et al. Pertussis infection in adults with persistent cough. **JAMA**, Chicago, v. 273, n. 13, p. 1044-1046, Apr. 1995.

YEH, S. H.; MINK, C. M. Shift in the epidemiology of pertussis infection: an indication for pertussis vaccine boosters for adults? **Drugs**, New York, v. 66, n. 6, p. 731-41, 2006.

YIH, W. K. et al. Increasing incidence of pertussis in Massachusetts adolescents and adults, 1989-1998. **J. infect. dis.**, Chicago, v. 182, n. 5, p. 1409-1416, Nov. 2000.

ZEPP, F. et al. Rationale for pertussis booster vaccination throughout life in Europe. **Lancet. infect. dis.**, New York, v. 11, n. 7, p. 557-70, July 2011.



**Apêndice A – Termo de consentimento livre e esclarecido para o menor de idade e adolescente**

**Pesquisa de Coqueluche**  
**Unidades de Saúde da Cidade do Recife**  
**Carta de Consentimento Livre e Esclarecido**

Tem ocorrido epidemia de coqueluche mesmo em populações vacinadas. Conhecer o papel do adolescente e do adulto na disseminação da doença é muito importante para o controle dessa doença e para sua prevenção, principalmente nas crianças menores de um ano com o esquema vacinal incompleto. Este estudo tem o objetivo de verificar a prevalência de coqueluche entre os adolescentes e adultos com tosse há mais de 14 dias. O senhor (a) caso concorde na participação do seu filho menor no estudo a ser realizado, responderá a um questionário contendo informações sobre a doença do mesmo, seu local de moradia, de trabalho e sala de aula de seu filho (a). Precisarás ainda de informações sobre seus contatos domiciliares e estado de saúde dos mesmos, em relação aos sintomas da doença a ser pesquisada. Para a realização dos exames ligados à pesquisa, a coleta de secreção da nasofaringe para cultura e PCR em tempo real será feita tanto no participante, como deverá ser também estendida ao contato de interesse ao estudo. Eu,..... responsável pelo (a) menor ..... concordo em que ele(a) participe da pesquisa sobre coqueluche, realizada na Unidade Básica de Saúde ..... da Cidade do Recife. Neste período autorizo a realização do exame para confirmação da coqueluche, que será feito por médico ou por técnico de Enfermagem treinado, através da colocação de um cotonete ultrafino e flexível na narina do menor sob minha responsabilidade para retirada de secreção (catarro), necessária à realização do exame. Fui avisado e estou consciente de que, no momento do exame, meu (a) filho (a) poderá apresentar crises de tosse semelhante às que já vêm apresentando. Fui avisado que o exame não provoca dor nem risco quando realizado de forma adequada, no entanto, caso aconteça qualquer intercorrência durante a coleta deste e haja necessidade de intervenção específica, haverá pessoal e material para prestar assistência devida. Ainda concordo com uma posterior publicação e utilização dos dados pessoais, dados familiares e da doença, obtidos através de formulário por mim respondido. A identificação (nome, endereço)

não será revelada, estando assegurada a privacidade das informações colhidas. Tenho a liberdade de retirar o meu consentimento em qualquer fase da pesquisa sem nenhuma penalidade e sem prejuízo aos cuidados da criança.

Recife, ..... de ..... de 20.....

---

Responsável

---

Testemunhas

**Apêndice B – Termo de consentimento livre e esclarecido para o adulto**

**Pesquisa de Coqueluche**  
**Unidades de Saúde da Cidade do Recife**  
**Carta de Consentimento Livre e Esclarecido**

Tem ocorrido epidemia de coqueluche mesmo em populações vacinadas. Conhecer o papel do adolescente e do adulto na disseminação da doença é muito importante para o controle dessa doença e para sua prevenção, principalmente nas crianças menores de um ano com o esquema vacinal incompleto. Este estudo tem o objetivo de verificar a prevalência de coqueluche entre os adolescentes e adultos com tosse há mais de 14 dias. O senhor (a) caso concorde em participar do estudo, responderá a um questionário contendo informações sobre sua doença, local de moradia, de trabalho e sala de aula. Ainda serão necessário informações sobre seus contatos domiciliares e estados de saúde dos mesmos em relação aos sintomas da doença a ser pesquisada. Para a realização dos exames ligados à pesquisa, a coleta de secreção da nasofaringe para cultura e PCR em tempo real será feita tanto no participante, como deverá ser também estendida ao contato de interesse ao estudo.

Eu, ..... concordo em participar da pesquisa sobre coqueluche, realizada na Unidade Básica de Saúde ..... da Cidade do Recife. Neste período, autorizo a realização do exame para confirmação da coqueluche, que será feito por médico ou por técnico de enfermagem treinado, através da colocação de um cotonete ultrafino e flexível na minha narina, para retirada de secreção (catarro), necessária à realização do exame. Estou consciente de que no momento do exame poderei apresentar crises de tosse semelhante às que venho apresentando. Fui informado que o exame não provoca dor nem riscos quando realizado de forma adequada, porém, em casos de necessidade, haverá pessoal e material para prestar assistência. Ainda concordo com uma posterior publicação e utilização dos dados pessoais, dados familiares e da doença, obtidos através de formulário por mim informados e respondido através do questionário da pesquisa. A identificação (nome, endereço) não será revelada, estando assegurada a privacidade das informações colhidas. Tenho a liberdade de

retirar o meu consentimento em qualquer fase da pesquisa sem penalidade alguma e sem prejuízo, cuidados e condução no meu tratamento clínico.

Recife, ..... de ..... de 20.....

---

Responsável

---

Testemunhas

### Apêndice C – Questionário da Pesquisa

Prevalência da Coqueluche e Avaliação da Reação em cadeia de Polimerase em Tempo Real para seu Diagnóstico em Adolescentes e Adultos com tosse prolongada, assistidos em Unidades de Saúde da Rede Pública, da cidade do Recife, no período de agosto de 2010 á julho de 2011.

DADOS GERAIS					Data: ____/____/____		
Identificação do Local da Unidade de saúde:				Registro Ambulatório			
Nome Paciente:					Sexo	M	F
Nome Responsável:							
Profissão:							
Endereço:					Fone		
Local trabalho/escola:							
Endereço:					Fone		
Data Nasc: ____/____/____		Idade	□□ anos	□□ meses	□□ dias		
Existe mais alguém com tosse na sua casa? 1-sim 2-não 9-não informado							□□□
Caso Índice número							□□□
Contato do Caso Índice de número							□□□
Contato do Caso Índice não aplicado							□
SINAIS E SINTOMAS							
O (a) Senhor(a) sabe informar a quantos dias seguidos (diariamente, sem melhora) senhor(a) / seu (sua) filho(a) vem apresentando essa tosse?							
Número de dias							□□
Na semana anterior ao início dessa tosse mais forte o senhor (a) / seu filho (a) apresentou:							
Coriza ( nariz escorrendo ) 1-sim 2-não 9-não informado.							□
Lacrimejamento (olhos chorando) 1-sim 2-não 9-não informado							□
Inflamação nos olho (, olhos remelando 1-sim 2-não 9-não informado).							□
Febre 1-sim 2-não 9-não informado							□
Tosse 1-sim 2-não 9-não informado							□
O (a) senhor(a) (seu/sua filho/a) apresenta crise de tosse comprida sem parar para respirar entre as tossidas? (entrevistador deve simular acesso de tosse paroxística) 1-sim 2-não 9-não informado							□
O(a) senhor(a) (seu/sua filho/a) apresenta algum barulho, um guincho no final da crise de tosse? (entrevistador simula o guincho) 1-sim 2-não 9-não informado							□
O(a) senhor(a) (seu/sua filho/a) fica com os lábios roxos durante a crise de tosse? 1-sim 2-não 9-não informado							□

O(a) senhor(a) (seu/sua filho/a) após a crise de tosse passa algum tempo sem conseguir respirar, ficando roxo e desfalecido? 1-sim                                  2-não                                  9- não informado	<input type="checkbox"/>
O senhor (a) (seu filho/a) vomita após o acesso de tosse? 1-sim                                  2-não                                  9-não informado	<input type="checkbox"/>
<b>INFORMAÇÕES SOBRE DOMICÍLIO</b>	
Quantas pessoas passam o dia em sua casa?	<input type="checkbox"/>
Quantas pessoas dormem em sua casa?	<input type="checkbox"/>
Quantos cômodos são usados como dormitório?	<input type="checkbox"/>
Quantas pessoas trabalham no mesmo ambiente em que você trabalha?	<input type="checkbox"/>
Quantas pessoas estudam na mesma sala de aula em que você estuda?	<input type="checkbox"/>
<b>IMUNIZAÇÃO</b>	
Data da última dose de vacina antioqueluche ____/____/____	
Data da última dose da vacina contra coqueluche administrada: 1-Menos de três doses 2-Três doses 3- 4 doses. 4- 5 doses 5 - Não vacinado 9- não informada Idade da última dose:	<input type="checkbox"/>
<b>USO PRÉVIO DE MEDICAMENTOS</b>	
1- sim                                  2 – não                                  9 – não afirmativo	<input type="checkbox"/>
Se afirmativo, qual o nome do medicamento?	<input type="checkbox"/>
Sintomático? Fito medicamento? Antibióticos?	<input type="checkbox"/>
<b>EXAMES COMPLEMENTARES</b>	
Data coleta ____/____/____	
<b>Cultura -</b>	<b>cepa:</b>
1-Positiva 2-Negativa 3-Não Informado	<input type="checkbox"/>
PCR TR - 1-Positiva      2-Negativa                  3-Não Informado	<input type="checkbox"/>
<b>Confirmação do caso</b>	
1 - Caso confirmado por cultura.    2 - Caso confirmado por PCR_TR. 3 - Caso confirmado por ligação epidemiológica.    4 - Caso confirmado em situação de surto. 9 - não informado.	<input type="checkbox"/>
<b>Classificação do caso</b>	
1-Caso índice 2-Caso primário 3-Caso coprimário 4-Caso secundário 5- Não caso de coqueluche                                  9- não informado	<input type="checkbox"/>

**Apêndice D – Versão do Artigo 1 em Inglês**

Submetido à revista International Journal of Infectious Diseases

**Title: Pertussis may the cause of prolonged cough in adolescents in and adults in the interepidemic period**

**Authors:** Analíria Moraes Pimentel, Paulo Neves Baptista, Ricardo Arraes de Alencar Ximenes, Laura Cunha Rodrigues, Vera Magalhães, Pertussis Study Group.

**Author to correspondence:**

Analíria Moraes Pimentel

Rua Apipucos, nº 355, Apto 502

Bairro de Apipucos,

Recife, Pernambuco, Brazil ZIP Code: 52071-000

Telephone: +558132675078

Email: analiriapimentel@terra.com.br

## Abstrat

**Objectives:** To identify the prevalence of pertussis (whooping cough) in adolescents and adults with a prolonged cough lasting more than 14 days and less than 30 days.

**Methods:** Ten public health outpatient clinics in the city of Recife, Brazil, were randomly selected for the study. The study included individuals over 10 years of age with a cough that had lasted for more than 14 days and less than 30 days. Nasopharyngeal swabs were collected from all participants for culture and real-time PCR in order to identify *Bordetella pertussis*. The definition employed in this study for cases of pertussis was that adopted by the Center for Disease Control and Prevention in the US (CDC). **Results:** A total of 192 individuals were identified with a cough for more than 14 days and less than 30 days. The mean age was 40.7 years and 70.0% were female. Amongst the suspected cases, 62.5% presented inspiratory whooping, 14.1% cyanosis and 79.1% post-tussive vomiting. Pertussis was confirmed in 10 of the 192 suspected cases, with an estimated prevalence of 5.21% (CI 2.03 to 8.38). Culture and PCR were positive in one patient. All cases confirmed by PCR (7/10) and epidemiologically (3/10) corresponded to CDC guidelines for defining pertussis. **Conclusion:** Even during an interepidemic period, pertussis may be identified as an important cause of prolonged cough in adolescents and adults. PCR was responsible for identifying 100% of the cases.

**Keywords:** Pertussis (whooping cough), prolonged cough, Adolescents and adults, Prevalence.



## Introduction

Over the past few decades, epidemics of pertussis have been reported in several regions of the world<sup>1</sup>. Such outbreaks have occurred regardless of vaccination coverage in these regions. The World Health Organization estimates that in 2008 there were around 16 million cases of pertussis and 195.000 deaths worldwide, 95% of which were in developing countries<sup>2</sup>. An increase was also observed in the number of pertussis cases reported in adolescents, adults and infants aged 6 months. In this latter age range pertussis may be a very serious disease<sup>3, 4</sup>. Adolescents and adults have often been identified as the main source of pertussis outbreaks amongst household members<sup>5,6,7</sup>. The diagnosis of pertussis in adolescents and adults is seldom considered; within these age groups the clinical forms of its course are atypical, characterized by a prolonged, persistent, nonspecific cough<sup>8,9</sup>.

Although a number of studies have reported that a prolonged cough in adolescents and adults may be caused by pertussis, the actual prevalence of pertussis in this age group remains underestimated<sup>10</sup>. Since 2001, WHO has drawn attention to the changes observed in the epidemiology of pertussis<sup>11</sup>. In 2010, the CDC registered 27.550 cases of pertussis in the US, and in Europe the European Center for the Control and Prevention of Diseases registered 15.749 cases, with a higher prevalence in adolescents between the ages of 10 and 14 years<sup>12,13</sup>. In studies conducted in different regions of the world the prevalence of pertussis amongst adolescents and adults has varied from 10% to 32%<sup>14,15</sup>. The variety of diagnostic methods and case definitions used may be one of the major reasons for the differences in the observed prevalences<sup>10,16,17</sup>. Nonetheless, these studies have contributed to strategies for controlling the surveillance of pertussis in these countries.

In some Latin American countries, pertussis is not a disease of compulsory notification and other countries have no complementary methods of diagnosis. Thus, these factors are responsible for underestimating the prevalence of pertussis on this continent<sup>4</sup>. In 2000, the Brazilian Health Ministry declared pertussis a disease of compulsory notification, standardized a case definition, introduced nasopharyngeal

swab cultures as the diagnostic method and implanted epidemiological surveillance centers<sup>19</sup>. These actions have therefore brought about better monitoring of the disease trends, as well as facilitating early detection of outbreaks and epidemics.

In Brazil, since the introduction of the pertussis vaccine in 1980, reports of cases have fallen sharply and maintained a downward trend. A number of isolated outbreaks were reported in Brazil, in 2010. In 2011, 583 cases of pertussis were confirmed. Amongst the confirmed cases, 76.3% were infants under one year and under six months of age, which are the groups that continue to present both the highest incidences and mortality rates<sup>18,19</sup>.

In the city of Recife, most notifications of the disease are from inpatients. A study carried out in Recife on the role of adults in transmitting pertussis in household outbreaks revealed the home as the epidemic unit of the disease. It was identified that 45.6% of the 349 contacts of the children hospitalized with pertussis were adults; from amongst these 32 (21%) had pertussis<sup>20</sup>. Furthermore, it was observed that adults and adolescents older than 11 ½ years were the source of infections for 70% of pertussis cases<sup>5</sup>. However, this study analyzed cases of pertussis in adult contact of infants under one year. Pertussis may present different behavior patterns in households where there are no children. The objective of the present study was to estimate the prevalence of pertussis amongst adolescents and adults with a prolonged cough, attended in National Health Service outpatient centers.

## **Material and Methods**

The study was conducted in 10 public health outpatient clinics in the city of Recife, Brazil. The clinics, from within the city's 6 Health Districts, were randomly selected with proportional probability of the number of visits. Ten nursing students, under the supervision of a fully-qualified nurse were trained to collect nasal swabs for culture and PCR. Each member of the group became responsible for collecting data from at least one health clinics. All health professionals and individuals attending the health clinics were informed of the study. During the period from August 2010 to July 2011, those over the age of 10, with a cough for more than 14 days and less than 30 days were identified. All participants were interviewed using a standardized

questionnaire with information regarding age, data on when the cough began, other signs and symptoms and the number of pertussis vaccine doses taken. Nasopharyngeal swabs were collected from all participants for cultures and PCR.

The number of individuals selected for the study in each health clinic was proportional to the population of the health district in which the clinic was located. The teams remained at the health clinics until the required sample size was attained for each unit. Individuals excluded from the study were those who were immunocompromised, suffering from TB, chronic bronchitis, other chronic diseases that evolve with a cough or the use of drugs that cause coughing. A suspected case of pertussis was considered as a confirmed case if the individual presented a cough and a positive nasopharyngeal swab culture, or individuals who met the case definition criteria for pertussis and a positive PCR. The criteria for defining a clinical case of pertussis were: individuals who, regardless of age and vaccination status, presented a cough for more than 14 days, associated with at least one other symptom: paroxysmal cough, inspiratory whooping, post-tussive vomiting. An epidemiologically confirmed case was considered when the individual met the clinical criteria of a pertussis case, had a negative culture and/or PCR, but was in contact with an individual with pertussis confirmed by culture or PCR.

Material for the culture and PCR was collected by nasopharyngeal swab from individual nostrils for each procedure. The swabs for collecting the culture were inoculated in a transport medium of 50% of the Regan-Lowe concentration medium (Oxoid Ltd., Columbia, Md.) for the culture and for the laboratory in a Reagan Lowe medium (Oxoid., Ltd., Columbia, Md.), made selective by the addition of 40mg/L cephalexin. The colonies suspected as being *B. pertussis* were confirmed by biochemical tests. The real-time PCR used primers and TaqMan® probes, specifically for the IS 481 region<sup>16,17</sup>.

The study was approved by the Ethics Committee at Hospital Oswaldo Cruz, registration number 029/2008. All participants signed the Terms of Free, Informed Consent.

Data were coded and processed using Epi-info 6.0.4 (Center for Disease Control and Prevention). The descriptive analysis of the data was conducted by frequency distribution and the means with the respective standard deviations. In the comparative age analysis of the suspected cases, according to positivity for pertussis, the student t-test was applied to independent samples tested for normality by the Komogorov-Smirnov test. In the analysis of associations, when the independent variable was categorical, the Fisher exact test was applied. The statistical significance adopted for the study was 5% ( $p < 0.05$ ). A prevalence of 25% was employed for calculating the sample size<sup>25</sup>, an acceptable maximum error of 6% and a confidence interval of 95%. The estimated sample was made up of 201 patients.

## Results

The study was conducted in 10 outpatient clinics from amongst the 12 randomly selected clinics. Two clinics were excluded since it was not possible to select patients due to operational difficulties. The patients programmed at the excluded clinics were transferred to other clinics in the same district, which made part of the selected clinics and corresponded to 5.26% (10/192) of the selected sample total. A total of 192 individuals were identified aged over 10 years and with a cough for more than 14 days. The mean age was 40.7 years, ranging from 10 to 84 years and a SD  $\pm$  17.8 years. Of these, 55.7% (107/192) were over 40 years of age, 27.6% (53/192) were aged between 20 and 39 years and 16.7% (32/192) between 10 and 19 years. A total of 70.0% (134/192) of the suspected cases were female. Of the 192 suspected cases, 182 were able to inform their vaccination status. The remaining 10 individuals who reported taking a series of 4-dose DPT vaccine were aged between 10 and 19 years. Of these, one was diagnosed with pertussis by culture and PCR, and another by PCR.

Of the 192 suspected pertussis cases, 171/192 (89%) presented a cough of between 14 and 21 days and 21/192 (11%) for more than 21 days. Whoop was referred to in 120/192 (62,5%), cyanosis in 27/192 (14.1%) and post-tussive vomiting in 152/192 (79.1%).

Amongst the 192 suspected cases, pertussis was confirmed in 10 individuals, thus estimating a prevalence of 5.21% IC (2.03 to 8.38).

The culture and PCR were positive for *B. pertussis* in 1 patient (Table 1) and all confirmed cases by PCR and epidemiologically met the clinical criteria for defining a case of pertussis. (Table 2).

Amongst the 10 confirmed cases of pertussis, five were primary cases, four were co-primary and one was secondary. Of these, 5 were index cases that led to the identification of five new cases.

**Table 1.** Criteria for confirming the diagnosis of pertussis in adolescents and adults with a prolonged cough.

	Positive for pertussis		
	Positive	(%)	CI (95%)
Criteria for confirmation			
Culture	1/10	10%	0.25%-44.5%
Real-time PCR	7/10	70%	34.7%-93.3%
Epidemiological	3/10	30%	6.7%-65.2%

**Table 2.** Clinical and epidemiological characteristics of adolescents and adults with a prolonged cough and diagnosed with pertussis.

	Cases									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Sex	F	F	F	M	M	F	F	M	F	M
Age (years)	28	14	20	43	43	45	15	29	34	24
Days with cough	18	14	15	20	14	14	14	15	14	18
Paroxysm	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Whoop	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Cyanosis	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-
Apnea	+	-	-	-	-	+	+	-	+	+
Post-tussive vomiting	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+
Suffocation	+	-	+	-	-	-	-	+	+	+

F – female; M – male

## Discussion

Two health outpatient centers at the same health district were replaced. Since patients from the same health district shared similar characteristics and the number of patients was around 5% of the overall sample, the probability of a selection bias is low. This study was conducted during an interepidemic period<sup>19</sup>.

This fact may possibly have influenced the number of individuals eligible for the study and in estimating the prevalence of pertussis. The mean age of the individuals with a cough for more than 14 days was 40.7 years. Studies undertaken in Canada, Denmark and France reported a mean age of between 41 and 49 years.

Most of the suspected pertussis cases were observed in the females, a fact which has also been reported by other studies<sup>21,15,10</sup>.

In the present study, only 10 patients were able to inform whether they had taken a series of 4-dose DPT vaccine against pertussis. Of these, one was diagnosed with pertussis by culture and PCR and the other by PCR. As the participants of this study were aged over 10 years, the final dose of the vaccine for pertussis should have been applied more than 8 years previously. The immunity provided by the vaccine decreases over the years and approximately 10 years after the final dose it is very low or indeed non-existent<sup>22</sup>. The pertussis vaccine was first introduced into the Brazilian vaccine program in 1983 and since 2003; vaccine coverage for 3 doses of the vaccine has remained above 95%<sup>19</sup>.

In around 90% of the suspected cases, the cough had lasted for a period of 14 to 21 days and 110 (57.29%) met the clinical criteria for pertussis. Gilberg et al, in France, during a period of low prevalence of pertussis, reported that 79% of confirmed cases met the clinical criteria. Strebel, in the US, observed that 85% of confirmed cases of pertussis met clinical criteria<sup>15, 14</sup>. The high prevalence of cases that met clinical criteria may be explained by the fact that suffering from stronger symptoms led patients to seek medical assistance. This in turn, could possibly explain why the prevalence of pertussis in adolescents and adults who only present a cough is underestimated.

Culture only confirmed the diagnosis in just one patient of the ten cases of pertussis (10%). PCR confirmed 100% of the cases. Several studies have demonstrated low culture sensitivity for confirming a case of pertussis as compared to PCR and blood test<sup>16,24</sup>. Culture presents a high positivity in the initial phases of the disease (the first week)<sup>18</sup>. The patients included in the present study had suffered a cough for more than 14 days. It is believed that the moment when the material was collected for the culture and the technical difficulties involved in conducting the test contributed to the low sensitivity of the study.

The present study observed a prevalence of pertussis of 5.21% in adolescents and adults with a cough for more than 14 days. Studies conducted in Australia,

Canada, Denmark, France and the US reported a prevalence of 10% to 32%<sup>11,25</sup>. The fact that this study was carried out during an interepidemic period, and did not use serology to confirm the diagnosis and that the material for the culture and PCR was collected between 14 and 30 days after the cough began, may have influenced the low prevalence of pertussis when compared to the prevalence encountered in other countries. One further fact that should be considered is that the sample was selected from 12 of the 34 health service outpatient centers. This prevalence is relevant due to the information obtained that adults and adolescents are the main source of infection for infants under one year of age<sup>5,6,7</sup>. In this age range, pertussis carries a higher risk of developing complications and death<sup>3,8</sup>.

## CONCLUSION

Even in an interepidemic period, pertussis may be identified as an important cause of prolonged cough in adolescents and adults, especially when PCR is used in conjunction with culture for confirming diagnosis.

Pertussis Study Group:

**Andrea Rosane Sousa Silva** – Nurse, Master Degree from Universidade de Pernambuco.

**Nadjla Ferreira Souza** – Biomedical Scientist at the Laboratório Central de Pernambuco (LACEN)

**Deize Gomes Cavalcanti de Matos** - Biomedical Scientist at the Laboratório Central de Pernambuco (LACEN)

**Ana Kelly Lins Pessoa** – Bacteriologist (Master Degree) at Laboratório Marcelo Magalhães

## Acknowledgements

We are grateful to the Laboratório Marcelo Magalhães for conducting the PCRs for this study.



## References

1. Quinn HE, Mc Intyre PB. Pertussis epidemiology in Australia over the decade 1995-2005 trends by region and age group. *Commun Dis Intell* 2007;31(2):205-15.
2. World Health Organization. Pertussis: (whooping cough). [cited 2012 Jan 20]. Available from: <http://www.who.int/immunization/topics/pertussis/en/>
3. Hewlett EL, Edwards KM. Pertussis-not just kids. *N Engl J Med* 2005;352:1215-22.
4. Ulloa Gutierrez R, Avila-Aguero ML. Pertussis in Latin America: current situation and future vaccination challenges. *Expert Ver. Vaccines* 2008;7:1569-1580.
5. Baptista PN, Magalhães VS, Rodrigues LC, Rocha MAW, Pimentel AM. Source of infection in household transmission of culture-confirmed pertussis in Brazil. *Pediatr Infect Dis J* 2005;24(11):1027-28.
6. Bisgard K, Pascual B, Ehresmann K, Miller CA, Cianfrini C, Jennings CE, et al. Infant pertussis: who was the Source? *Ped Infect Dis J* 2004;23:985-9.
7. Jardine A, Conaty SJ, Lowbridge C, Staff M, Vally H. Who gives pertussis to infants? Source of infection for laboratory confirmed cases less than 12 months of age during an epidemic, Sydney, 2009. *Commun Dis Intell* 2010;34(2):116-121.
8. Cherry JD, Grimpel 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,
9. Zepp F, Heininger U, Mertsola J, Bernatowska E, Guiso N, Roord J, et al. Van Damme P. Rationale for pertussis booster vaccination throughout life in Europe. *Lancet Infect Dis* 2011; 11(7):557-70.

10. Senzilet LD, Scott A, Halperin S, Spika JS, Alagaratnam M, Morris A, et al. Pertussis is a frequent cause of prolonged cough illness in adolescent and adults. *Clin Infect Dis* 2001;32:1691-97.
11. World Health Organization. Pertussis surveillance: a global meeting Geneva. [cited 2012 Jan 20]. Available from: <http://www.who.int/vaccinesdocuments/DocsPDF01/www605.pdf>
12. Centers for Disease Control and Prevention. Pertussis (whooping cough): outbreaks. [cited 2012 Jan 18]. Available from: <http://www.cdc.gov/pertussis/outbreaks.html>
13. European Centre for Disease Prevention and Control. Pertussis surveillance report 2010. Stockholm: ECDC; 2010. [cited 2011 Oct 15]. Available from: <[http://ecdc.europa.eu/en/publications/publications/pertussis\\_report\\_2010\\_eucavn et.pdf](http://ecdc.europa.eu/en/publications/publications/pertussis_report_2010_eucavn et.pdf)
14. Strebel PM, Bardenheier B, Brennam M, Tachdjian R, Finch E, Wharton M, et al. Changing Epidemiology of Pertussis in the United States: increasing reported incidence among adolescents and adults, 1990-1996. *Clin Infect Dis* 1999; 28:1230-7.
15. Gilberg N, Njamkepo E, DU Châtelet IP, Partouche H, Gueirard P, Ghasarossian C, et al. Evidence of Bordetella pertussis infection in adults presenting with persistent cough in a French rea with very high whole –cell vaccine coverage. *J Infect Dis* 2002;186(3): 415-418.
16. Tatti KM, Wu KH, Tondella ML, Cassiday PK, Cortese MM, Wilkins PP, et al. Development and evaluation of dual-target real-time polymerase chain reaction assays to detect Bordetella spp. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2008;61:264-272.
17. Public Health Agency of Canada. Proceedings of National Microbiology Laboratory Pertussis Workshop. CCDC: Canadá Communicable Disease Report

Winnipeg 2006;32S4:1-22. [cited 2011 Nov 12]. Available from: <http://www.phac-aspc.gc.ca/publicat/ccdr-rmtc/06vol32/32s4/index-eng.php>>.

18. Ministério da Saúde (Brasil). Secretaria de Vigilância em Saúde. Guia de Vigilância epidemiológica. 7<sup>a</sup> ed. Brasília, DF. Normas e Manuais Técnicos; 2009. 813p
19. Cardoso AV, Santos ZMG. Coqueluche: cenário mundial e no Brasil, estratégias de eliminação e controle: informe técnico. [cited 2012 Jan 12]. Available from <http://www.cve.saude.sp.gov.br/htm/resp/pdf/IFM>
20. Baptista PN, Magalhães VS, Rodriguez LC. The role of adults in household outbreaks of pertussis. *Int J Infect Dis* 2010;14(2):111-4.
21. Birkebaek NH, Kristiansen M, Seefeldt T, Degn J, Moller A, Heron I, et al. Bordetella pertussis and Chronic Cough in Adults *Clin Infect Dis* 1999;29:1239-42
22. Jenkinson D. Duration of effectiveness of pertussis vaccine: evidence from a 10 year community study. *Br Med J (Clin Res Ed)* 1988;296(6622): 612-614.
23. Kusters K, Riffelmann M, Wirsing von Konig CH. Evaluation of a real-time PCR assay for detection of Bordetella pertussis and B.parapertussis in clinical samples. *J Med.Microbiol* 2001; 50:436-440.
24. Chan LE, Antonishyn N, McDonald R, Maksymiw T, Pieroni P, Nagle E, et al. The use of TaqMan PCR Assay for detection of Bordetella Pertussis Infection Clinical Specimens. *Arch Pathol Lab Med* 2002;126:173-6.
25. Campins-Marti M, Cheng HK, Forsyth K, Guiso N, Halperin S, Huang LM, et al. Recommendations are needed for adolescent and adult pertussis immunization: rationale and strategies for consideration. *Vaccine* 2002;20:641-6.

**Apêndice E – Versão do Artigo 2 em Inglês**

Artigo submetido à revista Bio Med Central

**Title: Diagnosis of whooping cough using real-time polymerase chain reaction (PCR) in adolescents and adults attending polyclinics**

**Authors:** Analíria Moraes Pimentel, Paulo Neves Baptista, Ricardo Arraes de Alencar Ximenes, Laura Cunha Rodrigues, Vera Magalhães, Pert - Study Group on pertussis

**Author to correspondence:**

Analiria Moraes Pimentel

Rua Apipucos, nº 355, apto 502

Bairro de Apipucos

Recife, Pernambuco, Brazil ZIP Code: 52071-000

Telephone: +558132675078

Email: analiriapimentel@terra.com.br

## Abstract

**Objective:** To estimate the frequency of PCR positivity and culture positivity for *Bordetella pertussis* in adolescents and adults with prolonged cough for more than 14 days and less than 30. **Methods:** Ten polyclinics were randomly selected in the city of Recife, Brazil. Individuals over ten years of age with a cough for more than 14 days and less than 30 days were included in the study. Nasopharyngeal swab samples were collected from all study participants to perform culture and real-time polymerase chain reaction (PCR) in order to identify *Bordetella pertussis*. The definition for a case of pertussis in the present study was the same as that employed by the Center for Disease Control and Prevention in the USA (CDC)<sup>1</sup>. **Results:** A total of 192 individuals met the inclusion criteria, during the period from August 2010 to July 2011. The mean age was 40.7 years, ranging from 10 to 84 years with a SD  $\pm$  17.8 years, with 55.7% (107/192) aged over 40 years, 27.6% (53/192) aged between 20 and 39 years and 16.7% (32/192) 10-19 years. A total of 70% (134/192) of the suspected cases were female. Pertussis was confirmed in 5% (10/192) of the suspected cases. PCR provided a diagnosis for 100% of cases and culture confirmed 10% (1/10) of cases. All cases confirmed by PCR and epidemiological linkage met the clinical case definition criteria for pertussis. **Conclusion:** The use of PCR for diagnosing pertussis can increase the number of confirmed cases in adolescents and adults, even when collected between the fourteenth and thirtieth day after the onset of symptoms and in interepidemic periods.

**Key words:** Pertussis (whooping cough), prolonged cough, adolescents and adults, laboratory diagnosis.

## Introduction

In recent decades, several countries have reported outbreaks and epidemics of pertussis (whooping cough)<sup>2</sup>. These facts have drawn attention because the epidemics have occurred in countries with high vaccine coverages<sup>3</sup>; and pertussis is an important cause of hospitalization and death in infant younger one year<sup>4</sup>. Adolescents and adults have been identified as the primary source of infection for the disease<sup>3,4,5</sup>.

The limitations of diagnostic methods used in many countries constitutes one of the main difficulties encountered by the World Health Organization (WHO) in assessing the supplied data and in developing strategies for controlling pertussis<sup>1,3,6,7</sup>.

In order to confirm cases of pertussis, most epidemiological surveillance centers in developed countries not only use nasopharyngeal culture, but also more sensitive diagnostic methods, such as polymerase chain reaction (PCR), and in some regions serology is also used<sup>1,3,8</sup>. A suspected case of pertussis is confirmed with the isolation of *Bordetella pertussis* by culture, by PCR or a case that meets the clinical definition and is epidemiologically linked to a case confirmed by culture or PCR. The sensitivity of these laboratory tests varies, mainly with respect to the age of the patient, the stage of the disease, previous use of antibiotics and vaccination status<sup>3,7</sup>.

In 2011, the technical advisory group for vaccine-preventable diseases from the Pan American Health Organization (PAHO) recommended a greater commitment on the part of Latin American countries to the epidemiological surveillance of pertussis<sup>6</sup>.

For better epidemiological surveillance it is necessary to incorporate new diagnostic methods for confirming cases of pertussis as routine practice in public health services. In adolescents and adults, diagnosis is generally delayed<sup>8,9,10</sup>. Culture has a very low positivity when collected from the second week after onset of cough<sup>11</sup>. The use of culture, as the only laboratory test to confirm cases of pertussis,

leads to an underestimation of the real prevalence of the disease<sup>1</sup>. Many studies have demonstrated that the use of PCR and serology increases the number of confirmed cases<sup>12,13,14</sup>. The positivity of PCR varies from 73% to 100% and culture from 30 to 50%<sup>1,9,15</sup>. PCR results are not influenced by the previous use of antibiotics, and it also provides faster results than culture. In Brazil, PCR is not routinely used as a diagnostic method within the public health system<sup>16,17</sup>.

The aim of this study is to estimate the frequency of PCR positivity and culture positivity in adolescents and adults with a cough for more than 14 days and less than 30 days attended at polyclinics in the city of Recife.

## **Material and Methods**

The study was conducted in 10 polyclinics in the city of Recife, Brazil. Polyclinics from each of the 6 health district of Recife were randomly selected by probability proportional to the number of attendances. The number of individuals selected at each health center was proportional to the population of the health district in which the center is located. Prior to the collection of nasopharyngeal secretion for PCR and culture, all participants answered a standardized questionnaire with information concerning age, date of onset of cough and other signs and symptoms. During the period from August 2010 to July 2011, individuals aged 10 years and over, with a cough for more than 14 days and less than 30 days were considered suspected cases of pertussis and were included in the study. Individuals were excluded if they were immunosuppressed or if they presented: tuberculosis, chronic bronchitis, other chronic diseases that develop with cough or use of drugs that cause a cough. Ten undergraduate nurses were trained by a qualified nurse to collect nasal swabs.

Criteria for a clinical case definition of pertussis were: cough for more than 14 days, associated with at least one of the symptoms: paroxysmal cough, inspiratory winch, post-tussive vomiting without any other apparent cause of cough. Suspected cases of pertussis were confirmed by culture-positive for *B. pertussis* or individuals who met the criteria for clinical case definition of pertussis and PCR-positive.

Individuals were also considered confirmed cases if they met the criteria for clinical case definition and were household contacts of cases confirmed by culture or PCR.

Material for culture and PCR was collected by nasopharyngeal swab from individual nostrils for each procedure. The swab collected for culture was inoculated in a transport medium equivalent to 50% of the concentration of Regan-Lowe medium (Oxoid Ltd., Columbia, Md.), and in the laboratory seeded in a Reagan Lowe medium (Oxoid Ltd., Columbia, Md.), made selective by the addition of cephalixin 40mg/L. Suspected colonies of *B. pertussis* were confirmed through biochemical tests. Real-time PCR used primers and TaqMan® probes specific for the IS 481 region<sup>18,19</sup>.

The study was approved by the Research Ethics Committee at Hospital Universitário Oswaldo Cruz, under registration number 029/2008. All participants signed the Informed Consent Forms.

Data were coded and processed with Epi-info 6.0.4 (CDC). A descriptive analysis of the data was conducted by frequency distribution and mean values and their respective standard deviations. In the comparative analysis of the age of suspects according to positivity for pertussis, the student t-test was applied to independent samples, and normality tests were conducted with the Komogorov-Smirnov test. The Fisher exact test was used in the association analysis, when the independent variable was categorical. The statistical significance adopted for analyzing the hypothesis was 5% ( $p < 0.05$ ).

## Results

A total of 192 individuals with suspected pertussis were selected. Among these, 5% (10/192) were diagnosed with pertussis confirmed by culture and PCR (Table 1). The mean age was 40.7 years, ranging between 10 and 84 years with a SD  $\pm$  17.8 years, of which 55.7% (107/192) was older than 40 years, 27.6% (53/192) was between 20 and 39 years and 16.7% (32/192) 10-19 years. Of the overall total, 70.0% (134/192) were female. Culture and PCR were positive for *B. pertussis* in one patient (Table 1). Sensitivity of PCR was 94%.



Among the 10 confirmed cases of pertussis, 5 were index cases that led to the identification of 5 more cases.

**Table 1.** Diagnostic criteria for the confirmation of pertussis in adolescents and adults with prolonged cough.

	Positive	(%)	CI (95%)
Culture	1/10	10%	0.25%-44.5%
Real-time PCR	7/10	70%	34.7%-93.3%
Epidemiological linkage	3/10	30%	6.7%-65.2%

## Discussion

The present study was conducted during an interepidemic period, which may therefore, have influenced the low number of eligible individuals<sup>16,17</sup>. Nasopharyngeal secretion was collected from day 14 after the onset of cough, which may have impeded the etiological diagnosis of pertussis with culture and PCR. In the present study, among the suspected cases of pertussis, 10.5% (21/192) presented a cough for more than 21 days. These two events may have led to false-negative results of the culture and PCR<sup>1</sup>.

The use of PCR made it possible to confirm 100% of the diagnosed cases. Among these, 70% were confirmed by PCR-positive and 30% by epidemiological linkage, with one case confirmed by culture. If culture alone had been used then there would have only been a 10% confirmation of cases. Tozzi et al, 2005, in a review of 5 studies of pertussis in symptomatic adults, observed that the sensitivity of culture varied from 1-30% and PCR from 3-50%<sup>11</sup>. Schlöpfer, 1995, in a prospective study of individuals with a cough using culture and PCR simultaneously for *B pertussis*, obtained four times more positive results with PCR, when compared to culture<sup>20</sup>.

In the present study, culture was positive for *B. pertussis* in only one patient, whose PCR was also positive. Many studies have demonstrated a low sensitivity of culture in the confirmation of pertussis cases when compared to PCR and serology<sup>12,13,15,24</sup>. Schmidt – Schlöpfer, 1997, observed an increase of 2.6 times more confirmed cases by PCR when compared to culture<sup>21</sup>. Birkebaek in a similar study confirmed 2% of the cases by culture and 5.5% with PCR<sup>22</sup>. Knorr et al in 2006, observed that from 808 specimens tested by PCR, culture and direct immunofluorescence, 79 were positive cases with all three methods. Culture confirmed 48.1% of the cases and PCR 83.5% of the cases.

When PCR was compared to confirmed cases by culture, PCR detected 1.7 times more cases<sup>23</sup>. *B. pertussis* is difficult to cultivate. Its positivity is greater in the final stages of incubation, during the catarrhal stage and early paroxysmal stage of the disease. The lowest positivity of culture occurs when the samples are collected during the paroxysmal stage between three and six weeks of the disease. In adults where there is a delay in diagnosing the disease culture positivity is low, and varies between zero and 30%<sup>1,11</sup>. PCR, although at a lower intensity than culture, until the third week of symptoms (cough) presents greater positivity in relation to culture<sup>24</sup>. After 14 days of the disease, the positivity of PCR tends to decrease<sup>1,9</sup>.

In some laboratories, PCR has been the only diagnostic test used to confirm cases of pertussis, because of its high sensitivity and because it is easier to perform than culture<sup>1</sup>.

## Conclusion

The use of PCR for the diagnosis of pertussis can increase the number of confirmed cases in adolescents and adults, even when samples are collected between the fourteenth and thirtieth day after onset of symptoms and in interepidemic periods.

Pert - Study Group on Pertussis:

**Andrea Rosane Sousa Silva** – Nurse, Masters Degree at Universidade de Pernambuco.

**Nadjla Ferreira Souza** – Biomedical Scientist at Laboratório Central de Pernambuco (LACEN)

**Deize Gomes Cavalcanti de Matos**- Biomedical Scientist at Laboratório Central de Pernambuco (LACEN)

**Ana Kelly Lins Pessoa** – Bacteriologist (Masters Degree) at Laboratório Marcelo Magalhães

### **Acknowledgements**

We are grateful to the Laboratório Marcelo Magalhães for conducting the PCRs for this study.

## References

1. FAULKNER A, et al. Pertussis. In: Centers for Disease Control and Prevention. Manual for the surveillance of vaccine-preventable Disease. 5<sup>th</sup> ed. Atlanta: CDC; 2011. cap. 10. [cited 2011 Oct 15]. Available from: <http://www.cdc.gov/pertussis/outbreaks.html>
2. Hellenbrand W, Beier D, Jensen E, Littmann M, Meyer C, Littmann M, et al. The epidemiology of pertussis in Germany: past and present. BMC Infect Dis 2009; 9:22.
3. World Health Organization. Pertussis (whooping cough): immunization, vaccines and biologicals. [cited 2012 Jan 20]. Available from: <http://www.who.int/immunization/topics/pertussis/en/>.
4. Hewlett EL, Edwards KM. Pertussis-not just kids. N Engl J Med 2005;352:1215-22.
5. Baptista PN, Magalhães VS, Rodrigues LC, Rocha MAW, Pimentel AM. Source of infection in household transmission of culture-confirmed pertussis in Brazil. Pediatr Infect Dis J 2005;24(11):1027-28.
6. Pan American Health Organization. XIX TAG meeting: vaccinate your family: protect your community. Immunization Newsletter, 2011;33(4):1-8.
7. Wendelboe AM, Van Rie A. Diagnosis of pertussis: a historical review and recent developments. Expert Rev Mol Diagn 2006;6:857-864.
8. Ulloa Gutierrez R, Avila-Aguero ML. Pertussis in Latin America: current situation and future vaccination challenges. Expert Rev Vaccines 2008;7:1569-1580.
9. Public Health Agency of Australia. Department of Health and Ageing. Pertussis Laboratory Case. Consensus: date 18 April 2011. Winnipeg; 2011. [cited 2011 Nov 12]. Available from:

<http://www.health.gov.au/internet/main/publishing.nsf/content/cda-phlncd-pertussis.html>

10. Cherry JD, Grimpel 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.
11. Tozzi AE, Celentano LP, Ciofi degli Atti ML, Salmaso S. Diagnosis and management of pertussis. *CMAJ* 2005;172:509-515.
12. Bejuk D, Begovac J, Bace A, Kuzmanovic-Sterk N, Aleraj B. Culture of *Bordetella pertussis* from three upper respiratory tract specimens. *Pediatr Infect Dis J* 1995;14:64–5.
13. Sintchenko V. The re-emergence of pertussis: implications for diagnosis and surveillance. *NSW Public Health Bull* 2008;19:143-18.
14. Campins-Marti M, Cheng HK, Forsyth K, Guiso N, Halperin S, Huang LM, et al. Recommendations are needed for adolescent and adult pertussis immunization: rationale and strategies for consideration. *Vaccine* 2002;20:641-646.
15. Centers for Disease Control and Prevention. Best practices for health care professionals on the use of polymerase chain reaction (PCR) for diagnosing pertussis. 2011. Atlanta: CDC; 2011. [cited 2012 Abr. 18]. Available from: <http://www.cdc.gov/pertussis/clinical/diagnostic-testing/diagnosis-pcr-bestpractices.html>
16. Ministério da Saúde (Brasil). Secretaria de Vigilância em Saúde. Guia de Vigilância epidemiológica. 7ª ed. Brasília, DF. Normas e Manuais Técnicos; 2009. 813p.
17. Cardoso AV, Santos ZMG. Coqueluche: cenário mundial e no Brasil, estratégias de eliminação e controle: informe técnico. [cited 2012 Jan. 12]. Available from: <http://www.cve.saude.sp.gov.br/htm/resp/pdf/IFM>

18. Kösters K, Riffelmann M, Wirsing von König, CH. Evaluation of a real-time PCR assay for detection of *Bordetella pertussis* and *B. parapertussis* in clinical samples. *J Med. Microbiol* 2001;50:436-440.
19. Tatti KM, Slade B, Patel M, Messonnier N, Kirkland KB, Talbot EA, et al. Real Time polymerase chain reaction detection of *Bordetella pertussis*. *Pediatr Infect Dis J* 2008;27(1):73-4
20. Schläpfer G, Cherry JD, Heininger U et al. Polymerase chain reaction identification of *Bordetella pertussis* infections in vaccinees and family members in pertussis vaccine efficacy trial in Germany. *Pediatr Infect Dis J* 1995;14:209-214.
21. Schmidt-Schläpfer G, Liese JG, Porter F, Stojanov S, Just M, Belohradsky BH. Polymerase chain reaction (PCR) compared with conventional identification in culture for detection of *Bordetella pertussis* in 7153 children. *Clin Microbiol Infect.* 1997;3(4):462-467.
22. Birkebaek NH, Kristiansen M, Seefeldt T, Degn J, Møller M, Heron I, et al. *Bordetella pertussis* and chronic cough in adults. *Clin Infect Dis* 1999;29(5):1239-1242.
23. Knorr L, Fox JD, Tilley PAG, Bentley J. Evaluation of real-time PCR for diagnosis of *Bordetella pertussis* infection. *BMC Infect Dis* 2006;6:62.
24. Riffelmann M, Caro V, Guiso N, Wirsing von König CH. Nucleic acid amplification tests for diagnosis of *Bordetella* infections. *J Clin Microbiol* 2005;43:4925-29.

**Anexo A – Tabela 1** – Número de casos de Coqueluche notificados no segundo ano de início de sintomas e faixa etária. Recife, 2008 – 2011

Ano e Início dos Sintomas	FAIXA ETÁRIA					
	(em anos)					
	<1 Ano	1 - 4	5 - 9	10 - 14	35 - 49	Total
2008	29	5	2	-	-	36
2009	9	-	-	-	-	9
2010	5	-	-	-	-	5
2011	2	-	-	-	-	2

Nota: Dados provisórios, sujeitos a revisão (dados coletados em 17/07/2011)

Fonte: Pernambuco (2011)

**Anexo B – Tabela 2 – Coqueluche - Número de casos notificados no segundo ano de início de sintomas e faixa etária. Pernambuco, 2008 – 2011**

Ano e Início dos Sintomas	FAIXA ETÁRIA (em anos)							
	<1 Ano	1- 4	5 - 9	10-14	15-19	20-34	35-49	Total
2008	110	15	4	-	-	-	-	129
2009	30	7	1	-	-	-	-	38
2010	24	2	-	1	-	3	-	30
2011	10	-	-	2	1	2	2	17

Nota: Dados provisórios, sujeitos a revisão (dados coletados em 03/07/2012)

Fonte: SINAN/GPCAA/DGCDA/SEVS/SES-PE



## Anexo C – Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa em SERES HUMANOS COMPLEXO HOSPITALAR HUOC/PROCAPE



### COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA EM SERES HUMANOS COMPLEXO HOSPITALAR HUOC/PROCAPE

Reunião : 29/04/2008

Projeto CEP/HUOC: 029/2008

**Projeto : Prevalência da coqueluche entre adolescentes e adultos com tosse prolongada assistidos pelo programa de saúde da família da cidade de Recife e estimativa da efetividade da reação em polimerização em cadeia de tempo real para confirmação do diagnóstico da coqueluche – FR: 179669**

**Local da Pesquisa: HUOC – DIP**

**Pesquisador Principal: Analíria Moraes Pimentel**

**Mudança de Título do Projeto para: Prevalência da Coqueluche e Avaliação da Reação da Cadeia de Polimerase para seu Diagnóstico em Adolescentes e Adultos com Tosse Prolongada, assistidos em Unidades de Saúde na Rede Pública da Cidade do Recife**

#### Projeto Aprovado

- Observação: A aprovação da mudança de título deu-se em 26/10/2011

Recife, 27 de outubro de 2011.

  
**Raquel Roffé**  
 Coordenadora  
 CEP-HUOC/PROCAPE



Pavilhão Ovídio Montenegro – 1º andar  
 Rua Arnóbio Marques, 310 –  
 Santo Amaro – 50100-130 – Recife-PE.  
 Fone: (81) 3184.1460 – Fone/Fax: (81) 3184.1271  
 E-mail: cep\_huoc.procape@yahoo.com.br