



L'odissea lunga 112 anni della pertosse e dei vaccini contro la pertosse: errori commessi e implicazioni per il futuro

James D. Cherry

Dipartimento di Pediatria, David Geffen School of Medicine presso l'UCLA

Vaccini efficaci contro difterite, tetano e pertosse a cellule intere (DTwP) divennero disponibili negli anni '30 e divennero di uso comune negli Stati Uniti negli anni '40. Il loro utilizzo ridusse il tasso medio di casi di pertosse segnalati da 157 su 100.000 nell'era pre-vaccinazione a <1 su 100.000 negli anni '70. A causa di presunte reazioni (encefalopatia e decesso), diversi paesi interruppero (Svezia) o ridussero notevolmente (Regno Unito, Germania, Giappone) l'uso del vaccino. Nel corso del XX secolo, *Bordetella pertussis* è stato ampiamente studiato nei sistemi modello animali e sono state descritte molte "tossine" e antigeni protettivi. Un leader in *B. pertussis* la ricerca è stata condotta da Margaret Pittman del National Institutes of Health/US Food and Drug Administration. Ha pubblicato due articoli che suggerivano che la pertosse fosse una malattia mediata dalla tossina pertussiva (PT). Le opinioni della Dott.ssa Pittman hanno portato all'idea che si potessero produrre vaccini acellulari meno reattogeni. I primi vaccini contro difterite, tetano e pertosse (DTaP) sono stati sviluppati in Giappone e lì sono entrati in uso di routine. Successivamente, i vaccini DTaP sono stati sviluppati nel mondo occidentale e negli anni '90 sono stati condotti studi di efficacia definitivi. Questi vaccini erano tutti meno reattogeni dei vaccini DTwP e, nonostante la loro efficacia fosse inferiore a quella dei vaccini DTwP, sono stati approvati negli Stati Uniti e in molti altri paesi. I vaccini DTaP hanno sostituito i vaccini DTwP negli Stati Uniti nel 1997. Negli ultimi 13 anni, si sono verificate importanti epidemie di pertosse negli Stati Uniti e numerosi studi hanno dimostrato le carenze dei vaccini DTaP, tra cui il numero limitato di antigeni contenuti nei vaccini e il tipo di risposta immunitaria cellulare che suscitano. Il tipo di risposta cellulare, prevalentemente la risposta T2, determina una minore efficacia e una durata della protezione più breve. A causa del numero limitato di antigeni (3-5 nei vaccini DTaP contro >3000 nei vaccini DTwP), si verifica una soppressione dell'epitopo legato. A causa della soppressione dell'epitopo legato, tutti i bambini vaccinati con vaccini DTaP saranno più suscettibili alla pertosse per tutta la vita e non esiste un modo semplice per ridurre questa maggiore suscettibilità nel corso della vita.

Parole chiave. risposta cellulare; DTaP; DTwP; soppressione dell'epitopo legato.

Nel corso del XX secolo, *Bordetella pertussis* è stato ampiamente studiato nei topi e sono state descritte numerose tossine e "antigeni protettivi" [1,2]. Una delle figure più influenti nella ricerca sulla pertosse fu Margaret Pittman, che lavorò presso il National Institutes of Health/US Food and Drug Administration (FDA) dal 1936 al 1990. Suggerì che la pertosse fosse una malattia mediata dalla tossina pertussiva (PT) [3,4]. Poiché i vaccini moderni contro la difterite, il tetano e la pertosse a cellule intere (DTwP) erano associati a significativi effetti avversi, le opinioni del dott. Pittman portarono all'idea che si potessero produrre vaccini acellulari contro la difterite, il tetano e la pertosse (DTaP) meno reattogeni.

Yuji Sato, formatosi presso il National Institutes of Health/FDA e influenzato dal dottor Pittman, tornò in Giappone e sviluppò il primo vaccino acellulare contro la pertosse (aP) [5]. L'obiettivo del dottor Sato era quello di produrre un vaccino tossoide PT, ma il suo

I vaccini contenevano anche emoagglutinina filamentosa (FHA), pertactina (PRN) e fimbrie 2 (FIM-2). Negli anni '80, furono sviluppati molti vaccini aP e, negli anni '90, furono condotti studi di efficacia definitiva con molti vaccini aP e contro difterite, tetano e pertosse acellulare (DTaP) in Europa e Africa [1,2, 6-20].

Nonostante il fatto che in tutti gli studi di efficacia, tranne due, i vaccini DTwP abbiano mostrato una maggiore efficacia rispetto ai vaccini DTaP in fase di studio, i vaccini DTaP sono stati autorizzati e utilizzati in molti paesi in tutto il mondo; i vaccini DTaP hanno sostituito i vaccini DTwP. L'urgenza di adottare i vaccini DTaP è stata spinta in gran parte da gruppi di attivisti antivaccinisti come "Dissatisfied Parents Together". Durante la corsa all'adozione dei vaccini DTaP e dei vaccini contro tetano, difterite e pertosse acellulare per adulti (Tdap), gran parte della storia relativa alla pertosse umana è stata trascurata [1,2,21-23].

Dal 1997, la politica di vaccinazione DTaP ha creato una coorte di persone (il cui numero aumenta ogni anno) che sono più suscettibili a malattie cliniche ripetute con *B. pertussis* infezione rispetto ai bambini vaccinati con DTwP. Non esiste un modo fattibile per rendere questa coorte meno suscettibile.

In questa revisione affronto l'epidemiologia, i fatti, le leggende, i miti e le idee sbagliate relativi alla pertosse umana e suggerisco un approccio per il futuro.

Ricevuto il 19 ottobre 2018; decisione editoriale 11 gennaio 2019; accettato il 22 gennaio 2019.

Corrispondenza: JD Cherry, MD, MSc, UCLA, Department of Pediatrics, Infectious Disease, 10833 Le Conte Ave, 22-442, Los Angeles, CA 90095-1752 (jcherry@mednet.ucla.edu).

Rivista della Società delle Malattie Infettive Pediatriche 2019;XX(X):1-8

© Autori 2019. Pubblicato da Oxford University Press per conto del Journal of the Pediatric Infectious Diseases Society. Tutti i diritti riservati. Per le autorizzazioni, si prega di inviare un'e-mail a: journals.permissions@oup.com.

DOI: 10.1093/jpids/piz005

EPIDEMIOLOGIA

L'epidemiologia della pertosse segnalata è diversa da quella della *B. pertosse* infezione e malattia [24]. Nel 2012, negli Stati Uniti, sono stati segnalati 48.277 casi di pertosse. Si tratta del numero più alto di casi segnalati dal 1955. Circa 35 anni fa, il numero di casi e i tassi di pertosse segnalati hanno iniziato a salire, con picchi significativi nel 2005, 2010, 2012 e 2014 (Figura 1).

Pertosse segnalata negli Stati Uniti

Nell'era pre-vaccinazione, la pertosse segnalata presentava picchi ciclici ogni 2-5 anni [1,2,24-26]. La vaccinazione contro la pertosse ha ridotto il tasso medio di pertosse segnalata da 157 per 1.000.000 a <1 per 1.000.000 [25]. Nell'era del vaccino contro la pertosse (sia a cellule intere che acellulari), i picchi ciclici di casi di pertosse segnalati sono stati gli stessi di quelli dell'era pre-vaccinazione. Poiché i cicli di pertosse sono oggi gli stessi di quelli dell'era pre-vaccinazione, sappiamo che *B. pertosse* circola oggi in modo simile a quello dell'era pre-vaccinazione [1,2,26-29]. Numerosi studi dal 2004 hanno osservato che la pertosse negli adulti è comune e rappresenta la principale fonte di infezioni nei neonati [1,2,7,30-40].

In passato, praticamente tutti i casi di pertosse negli adulti venivano diagnosticati erroneamente [37]. Si pensava che si trattasse di asma con tosse, reflusso gastrointestinale o infezione virale respiratoria. Analogamente, anche la pertosse nei neonati è stata erroneamente diagnosticata come malattia virale respiratoria [25,35].

Esistono diverse ragioni per la ricomparsa della pertosse segnalata all'inizio del XXI secolo. Come osservato nell'introduzione, i vaccini DTaP sono meno efficaci dei vaccini DTwP (discussi in dettaglio più avanti in questa revisione). Tuttavia, la ricomparsa è iniziata circa 15 anni prima del passaggio dai vaccini DTwP a quelli DTaP. Pertanto, ritengo che

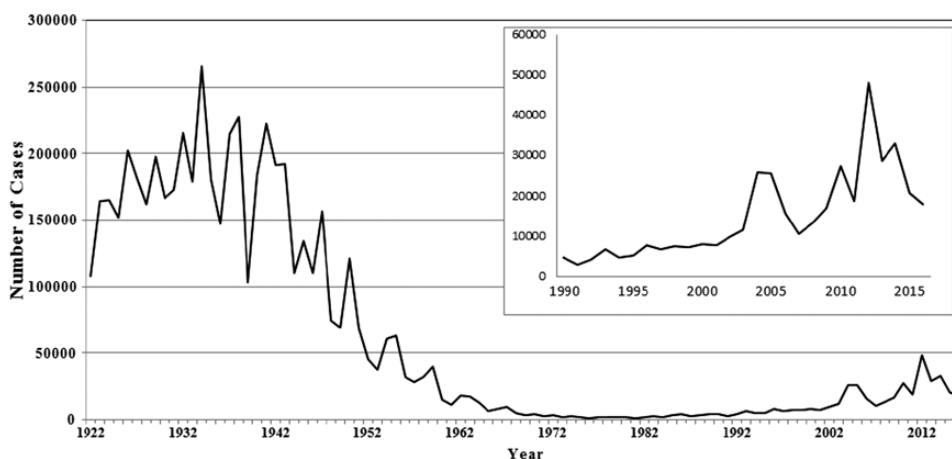
La ragione principale della ripresa iniziale è stata una maggiore consapevolezza della pertosse. Tale maggiore consapevolezza è stata dovuta alla maggiore attenzione dei media alle reazioni DTwP, reali e percepite, all'aumento del numero di articoli sulla pertosse in letteratura relativi alle reazioni al vaccino, alla conduzione di numerosi studi di fase 2 sul vaccino DTaP e, negli anni '90, all'esecuzione dei trial definitivi sull'efficacia del vaccino. A mio parere, anche l'introduzione della reazione a catena della polimerasi (PCR) per la diagnosi, avvenuta intorno al 2005, ha contribuito alla ripresa delle segnalazioni di pertosse. È stata inoltre resa disponibile la diagnosi sierologica su un singolo siero per la pertosse adolescenziale e adulta.

Bordetella pertussis infezione

Dalla fine degli anni '80 fino al 2008, gli studi su *B. pertosse* l'infezione è stata eseguita in 3 modi: (1) la percentuale di malattie da tosse prolungata negli adolescenti e negli adulti causate da *B. pertosse* infezione; (2) i tassi di *B. pertosse* infezione negli adolescenti e negli adulti; e (3) i tassi di *B. pertosse* malattie della tosse negli adolescenti e negli adulti.

Tra il 1983 e il 1999 sono stati condotti 13 studi sulla percentuale di tosse prolungata negli adolescenti e negli adulti attribuibile a *B. pertosse* infezione sono stati pubblicati [24]. Nella maggior parte di questi studi, la diagnosi è stata formulata rilevando un aumento significativo del titolo anticorpale o un titolo elevato per PT, FHA, PRN, FIM, mediante saggio immunoenzimatico o agglutinazione. I tassi di positività variavano dal 12% al 52% (mediana 26%).

Tuttavia, poiché solo l'anticorpo al PT è specifico per *B. pertosse* infezione, questi tassi includono malattie attribuibili ad altri *Bordetella* specie, *Mycoplasma pneumoniae*, e *Chlamydia pneumoniae* [41]. In 7 studi è stato possibile trovare solo casi determinati da aumenti del titolo anticorpale delle immunoglobuline A (IgA) o IgG, titoli PT elevati o coltura o un



Source: 1922-1949 passive reports to the Public Health Service. 1950 to 2017 Centers for Disease Control and Prevention (CDC) yearly National Notifiable Diseases Surveillance System reports.

Figura 1. Casi di pertosse segnalati, 1922-2016.

Positività al test di reazione a catena della polimerasi. In questo caso, i tassi variavano dal 7% al 17% (mediana: 13%). Il nostro gruppo ha condotto il primo di questi studi su studenti della UCLA tra il 1986 e il 1989.

Un aspetto interessante di tutti gli studi è che *B. pertosse* Le malattie si sono verificate durante tutto l'anno. Pertanto, questi dati suggeriscono che la pertosse sia endemica negli adolescenti e negli adulti.

Sette studi pubblicati contengono dati relativi al tasso annuale di *B. pertosse* infezioni. In 6 di questi studi, i tassi sono stati determinati riscontrando aumenti significativi del titolo tra 2 punti temporali. Nell'altro studio, i tassi di infezione sono stati determinati dal valore anticorpale PT superiore al limite di cutoff [41]. La qualità dei dati variava considerevolmente tra gli studi. Il nostro gruppo ha eseguito il primo di questi studi [42], in cui abbiamo ottenuto campioni di siero annuali dagli stessi soggetti per un periodo di 5 anni. Il tasso annuale è stato sorprendentemente del 6%. In 2 studi in cui i tassi sono stati determinati solo in 2 periodi di tempo, i tassi annuali erano compresi tra l'1% e il 2,2%.

A Cleveland, Ohio, abbiamo raccolto campioni di siero ogni 4 mesi per 3 anni da un gruppo di 100 adulti di età ≥ 65 anni che vivevano nella comunità [43]. In questo gruppo, il tasso annuale era del 3%. I risultati di uno studio di de Melker et al [44] studio supportato trovato nei nostri 2 studi precedenti [42,43]. Nello specifico, le tariffe annuali nella fascia di età di 65 anni del 3% e il tasso del 6% nel nostro studio in cui abbiamo ottenuto sieri dagli stessi soggetti in un periodo di 5 anni corrispondevano a quelli notati da de Melker et al..

Due studi in cui gli autori hanno determinato i tassi di *B. pertosse* Sono stati condotti studi sulla tosse in adolescenti e adulti. Il primo è stato uno studio dei Centers for Disease Control and Prevention negli studi medici partecipanti a Minneapolis e St Paul, Minnesota [45]. In quello studio, il tasso annuo era di 500 ogni 100.000. Il secondo di questi studi ha coinvolto circa 1.400 persone che fungevano da controlli in uno studio sull'efficacia del vaccino su adolescenti e adulti. In quello studio, il tasso annuo era di 370 ogni 100.000 [46]. In entrambi questi 2 studi, esisteva un considerevole "bias dell'osservatore" [47], un termine coniato dal nostro gruppo di Erlangen, in Germania. Nello specifico, se si ha un'idea preconcepita di cosa sia la pertosse, si tende a trascurare i casi meno gravi. Il bias dell'osservatore è stato chiaramente un problema significativo nello studio del Minnesota. Gli autori hanno effettivamente studiato solo circa il 5% di coloro che soddisfacevano i criteri di ammissione allo studio; la malattia lieve è stata chiaramente trascurata. Anche nel nostro studio dell'UCLA, il bias dell'osservatore è stato un problema, poiché gli infermieri dello studio tendevano a ignorare i casi lievi, sebbene soddisfacessero i criteri dello studio.

Immunità dopo *B. pertosse* infezione e vaccinazione DTwP

Una credenza comune è che *B. pertosse* infezione provoca un'immunità permanente e che l'immunità del vaccino DTwP è relativamente di breve durata [48]. Mentre lavoravo in Germania negli anni '90, ho visto molti casi di pertosse negli adulti [49]. Si presumeva che la maggior parte di queste malattie si verificasse negli adulti che erano stati inizialmente preparati da *B. pertosse* infezione nell'infanzia. Il nostro gruppo ha precedentemente studiato la pertosse negli studenti dell'UCLA [50], e si presumeva

quindi che la maggior parte di questi studenti fosse stata inizialmente vaccinata con il vaccino DTwP. La mia impressione e i risultati di un'analisi dei dati di 2 dei nostri studi pubblicati suggeriscono che la malattia nei partecipanti tedeschi precedentemente vaccinati fosse generalmente più grave rispetto a quella negli studenti americani che erano stati vaccinati inizialmente con il vaccino DTwP. Utilizzando sieri di adulti tedeschi di 21 anni e di studenti di 21 anni negli Stati Uniti, abbiamo esaminato gli anticorpi IgG e IgA contro agglutinoeni, FIM-2, FHA, PRN e PT [51]. È importante notare che gli anticorpi IgA si formano solo dopo l'infezione e non dopo la vaccinazione DTwP. Poiché la pertosse era un'epidemia in Germania al momento di questo studio e non veniva osservata negli adulti negli Stati Uniti, ci si aspetterebbe che i titoli di IgG e IgA fossero più alti nei tedeschi che negli americani. Tuttavia, non è stato così. I titoli di IgG per tutti e 5 gli antigeni erano significativamente più alti negli americani, mentre i titoli di IgA erano simili nei partecipanti tedeschi e americani.

I risultati delle IgG suggeriscono che la vaccinazione contro il virus DTwP fornisce una protezione migliore rispetto all'infezione naturale. I dati delle IgA indicano che *B. pertosse* circolava in entrambi i Paesi in modo simile, nonostante la pertosse fosse un'epidemia riconosciuta in Germania e non fosse stata osservata negli Stati Uniti.

Esaminando le pubblicazioni degli anni '20, '30 e '40, è chiaro che le malattie ricorrenti causate da *B. pertosse* non era raro e che la pertosse negli adulti veniva trascurata [52-58].

Un riepilogo dei casi di pertosse segnalati è presentato in Tabella 1.

L'ERA DEI VACCINI A CELLULE INTERE

Storia dei vaccini DTwP

Come accennato nell'introduzione, l'uso universale dei vaccini DTwP, iniziato alla fine degli anni '40, ha portato a una riduzione di 157 volte dell'incidenza dei casi di pertosse segnalati. *B. pertosse* fu isolato nel 1906 [59], e poiché la pertosse era spesso fatale a quel tempo, si tentò di realizzare vaccini per il trattamento e la protezione [4,21,25,26,36,53-55]. Nel 1923-1924 in Danimarca, Madsen [55] ha mostrato una certa protezione dalla vaccinazione. Negli anni '30, furono sviluppati molti vaccini candidati e nel 1944, la vaccinazione contro la pertosse fu approvata dall'American Academy of Pediatrics [26].

Tabella 1. Riepilogo dei casi di pertosse segnalati nel periodo pre-vaccino e vaccinale

1. <i>B. pertosse</i> infezioni negli adolescenti e negli adulti sono molto comuni ed endemiche nell'attuale era vaccinale
2. I dati provenienti dalla Germania all'inizio degli anni '90, quando pochi bambini venivano immunizzati e la pertosse era un'epidemia, e le prime osservazioni negli Stati Uniti suggeriscono che le infezioni negli adolescenti e negli adulti erano comuni ed endemiche anche nell'era pre-vaccinazione.
3. I tassi di pertosse segnalati sono da 40 a 160 volte meno comuni dei tassi effettivi di malattia
4. L'infezione asintomatica è 4-22 volte più comune dell'infezione sintomatica
5. Gli adolescenti e gli adulti sintomatici sono attualmente la principale fonte di infezione nei bambini non vaccinati

Negli anni '30, ci si rese conto che una buona risposta anticorpale e la protezione clinica dopo l'immunizzazione dipendevano dal numero di organismi uccisi nel vaccino e, a causa delle reazioni (tossicità), il numero di organismi che potevano essere somministrati in una singola dose era limitato. Già negli anni '40, studi clinici suggerivano che i vaccini causassero gravi malattie neurologiche (encefalopatia da vaccino) [60–62]. Uno di questi studi, condotto a Londra nel 1974, ha portato ad una drastica diminuzione dell'uso del vaccino DTwP e ad una grave epidemia di malattia 3 anni dopo [62]. Studi basati sulla popolazione in Svezia, Inghilterra e Galles hanno rilevato tassi molto elevati di encefalopatia da vaccino [63,64]. La preoccupazione per l'encefalopatia da vaccino portò all'interruzione dell'uso del vaccino DTwP in Svezia e Giappone. Negli Stati Uniti, l'uso del vaccino rimase relativamente stabile, ma negli anni '80 si diffuse un'epidemia di cause legali contro il vaccino contro la pertosse, che portò all'emanazione del National Childhood Vaccine Injury Act del 1986 [65]. Questa legge ha fornito alle persone presumibilmente danneggiate da un'immunizzazione infantile di routine un'alternativa senza colpa alle azioni legali tramite il tradizionale sistema di responsabilità civile.

I risultati di numerosi studi controllati condotti tra il 1979 e il 2004 hanno indicato che non esisteva alcun rischio di gravi malattie neurologiche dopo la vaccinazione DTwP [66–76]. È stato notato da me e Shields [77] (un neurologo pediatrico) che quella che veniva chiamata encefalopatia da vaccino contro la pertosse non era un evento simile all'encefalite, bensì il primo o i primi attacchi di epilessia infantile.

Si pensava anche che la sindrome della morte improvvisa del lattante (SIDS) fosse una complicanza della vaccinazione DTwP. Tuttavia, l'età di picco di insorgenza della SIDS è di circa 10 settimane e, poiché la prima dose di DTwP negli Stati Uniti è stata somministrata a circa 8 settimane di età, l'associazione temporale tra SIDS e vaccinazione sarebbe prevedibile. Tra la fine degli anni '70 e gli anni '80, una considerevole copertura mediatica ha dedotto una relazione causa-effetto. Studi controllati del 1987 [78] e 1988 [79] non è stata trovata alcuna relazione causale tra la vaccinazione con DTwP e la SIDS. È ormai noto che la SIDS è in gran parte dovuta alla posizione prona durante il sonno.

B. PERTOSSE, L'ORGANISMO E LA SUA PATOGENESI

Nelle infezioni batteriche, la patogenesi si articola solitamente in quattro fasi: (1) ingresso nell'ospite e adesione, (2) elusione o interruzione delle difese dell'ospite, (3) sviluppo di danno locale e (4) instaurazione di una malattia sistemica in virtù della disseminazione degli organismi o dei loro prodotti. Nel 1940, William H. Holmes [22] ha scritto un libro sulle infezioni bacillari e rickettsiane, e il capitolo sulla pertosse è di notevole interesse. Ha fatto le seguenti 5 importanti osservazioni: (1) a differenza di altre malattie come la poliomielite o il morbillo, la pertosse non ha una storia antica, (2) la pertosse non provoca alterazioni caratteristiche come eruzioni cutanee o meningite, (3) la tosse parossistica è distintiva, ma la sua causa è sconosciuta, (4) la pertosse uccide più femmine che maschi, e (5)

nonostante si tratti di una malattia infettiva, durante la fase spasmodica non si manifesta febbre né si riscontrano segni fisici.

Patologia

Nel 1912, FB Mallory e AA Hornor pubblicarono un articolo sulle lesioni istologiche del tratto respiratorio dei pazienti con pertosse [23]. Hanno studiato il tratto respiratorio di 3 bambini deceduti a causa della pertosse. Tutti e 3 questi bambini hanno avuto un decorso piuttosto prolungato con infezione secondaria; tuttavia, gli autori hanno notato aree di cellule ciliate normali nella trachea, nei bronchi e nei bronchioli. Le cellule ciliate presentavano coccobacilli attaccati alle ciglia. Nel 2008, Paddock, Sanden e io [80] hanno riportato la patologia polmonare di 15 neonati deceduti a causa della pertosse. Da questo studio abbiamo proposto un meccanismo di morte nei neonati. La nostra ipotesi era che la leucocitosi con linfocitosi causasse aggregati di cellule nelle arteriole, con conseguente ipertensione polmonare irreversibile. I risultati degli studi condotti dal nostro esteso gruppo di ricercatori californiani supportano tale ipotesi [36,40,80–86]. Abbiamo scoperto che il grado di leucocitosi con linfocitosi e la rapidità dell'aumento della conta leucocitaria sono correlati all'insorgenza di ipertensione polmonare irreversibile e alla morte. Va inoltre notato che questo processo non è infiammatorio [81]. Gli aggregati sono costituiti da neutrofili e linfociti maturi che riflettono le cellule circolanti nel sangue. La risposta immunitaria nel polmone è un afflusso di macrofagi intra-alveolari; i neutrofili giovani (forme a banda) non sono visibili.

Forse ancora più importante è che abbiamo replicato i risultati di Mallory e Hornor [23] da quasi 100 anni fa. Abbiamo notato cellule ciliate normali con *B. pertosse* cellule attaccate alle ciglia.

Se ora torniamo indietro e osserviamo i passaggi della patogenesi per *B. pertosse*, notiamo che non si verificano danni locali (a meno che non vi sia un'infezione batterica o virale secondaria) e che non vi è alcuna malattia sistemica.

PERTOSSE CLINICA

La pertosse clinica è una malattia mediata da tossine causata dalla PT, che inibisce le proteine G delle cellule ospiti, e da una seconda tossina ancora non identificata che provoca una tosse unica [2,40]. Non vi è alcun processo infiammatorio a meno che non sia presente un'infezione secondaria. Il PT causa leucocitosi con linfocitosi, che porta a ipertensione polmonare, shock e insufficienza d'organo nei neonati [80–86]. Dopo l'esposizione primaria al PT tramite malattia o immunizzazione, le manifestazioni cliniche del PT (leucocitosi con linfocitosi) non si ripresentano mai con le infezioni successive, presumibilmente a causa della rapida risposta anticorpale.

Le manifestazioni della malattia nelle persone che hanno precedentemente risposto alla terapia fisica sono attribuibili esclusivamente alla "tossina della tosse" ancora non identificata. Poiché persone di tutte le età soffrono di tosse con *B. pertosse* infezione, sembrerebbe che o questa tossina sia scarsamente immunogena oppure che l'immunità ad essa diminuisca rapidamente.

Infezione da *B. pertosse* è facilitata da diverse proteine. Queste proteine facilitano l'adesione (FIM-2/3) o interrompono le risposte immunitarie innate.

Dal 1909, numerosi *B. pertosse* tossine sono state identificate in studi sui topi. Tuttavia, due di queste tossine (tossine dermonecrotiche e citotossina tracheale) probabilmente non svolgono alcun ruolo significativo nell'infezione umana [2].

VACCINI aP

Come accennato nell'introduzione, i vaccini aP e DTaP sono stati sviluppati negli anni '80 e ampiamente testati negli anni '90. Questi vaccini contengono tra 1 e 5 antigeni, a differenza dei vaccini DTwP, che ne contengono più di 3000. *B. pertosse* antigeni. Tutti i vaccini DTaP sono meno reattogeni dei vaccini DTwP perché non contengono praticamente alcun lipopolisaccaride (LPS).

Quattro motivi per cui i vaccini DTaP sono inferiori ai vaccini DTwP

Ci sono 4 motivi per cui i vaccini DTaP sono inferiori ai vaccini DTwP, (1) cambiamenti genetici in *B. pertosse* hanno contribuito ad aumentare la suscettibilità, (2) la risposta immunitaria cellulare Th17/Th1 dopo la vaccinazione DTwP è più efficace della risposta T-helper (Th2) dopo la vaccinazione DTaP, (3) i vaccini DTaP hanno un equilibrio subottimale degli antigeni e (4) la soppressione dell'epitopo legato [2,40,87-97].

Cambiamenti genetici in *B. pertosse*

Cambiamenti genetici che contribuiscono ad aumentare la suscettibilità a *B. pertosse* non si è verificato nell'era del DTwP. Il numero totale di antigeni protettivi nei vaccini DTwP non è noto, ma è probabile che ne esistano più di 20. Al contrario, i vaccini DTaP contengono al massimo 5 proteine. Recenti cambiamenti *B. pertosse*. Nell'era dei vaccini acellulari, le seguenti alterazioni includono: (1) un cambiamento dall'allele ptx P1 a quello ptx P3, (2) lo sviluppo di mutanti con deficit di PRN e (3) un aumento dei ceppi FIM-3B. Di queste 3 alterazioni genetiche, solo la presenza di mutanti con deficit di PRN è importante. Negli Stati Uniti, la maggior parte dei vaccini circolanti *B. pertosse* ceppi sono attualmente carenti di PRN. Poiché l'anticorpo contro PRN è il più importante nella protezione [93,94], la circolazione di questi ceppi dovrebbe contribuire al fallimento dei vaccini DTaP e Tdap. Attualmente non esistono prove di tali fallimenti; l'anticorpo contro la subunità B del PT offre una notevole efficacia contro la "pertosse tipica". Lo sappiamo perché in Danimarca un vaccino tossoide PT è in uso da 20 anni e ha controllato la pertosse grave. Pertanto, per dimostrare che i mutanti con deficit di PRN contribuiscono al fallimento dei vaccini DTaP e Tdap, è necessaria una ricerca *B. pertosse* sarebbero necessarie infezioni nei pazienti con tosse afebrile meno grave.

Tipo di risposta immunitaria delle cellule T

Le informazioni provenienti dagli studi sui babuini hanno fornito informazioni preziose relative alle risposte immunitarie delle cellule T [87-89]. Dopo l'infezione o la vaccinazione DTwP, un Th17 e Th1 specifici

Viene indotta una risposta di memoria, mentre dopo l'immunizzazione con DTaP viene indotta una risposta Th1/Th2. La risposta Th17/Th1 previene infezioni e malattie e fornisce anche una protezione più duratura rispetto alla risposta Th1/Th2.

Equilibrio errato degli antigeni nei vaccini DTaP

In 2 degli studi sull'efficacia del vaccino degli anni '90, gli investigatori hanno condotto i loro studi in modo da consentire la determinazione dei correlati sierologici della protezione [93,94]. In entrambi gli studi è stato osservato che gli anticorpi anti-PRN o anti-FIM hanno portato a un'efficacia di circa il 70%. È stato inoltre osservato in entrambi gli studi che livelli più elevati di anticorpi anti-PT hanno ridotto l'efficacia degli anticorpi anti-FIM. Nello studio svedese (ma non in quello tedesco), è stata riscontrata anche l'evidenza che livelli elevati di anticorpi anti-PT hanno ridotto l'efficacia degli anticorpi anti-PRN (dati non pubblicati di Storsaeter J, Hallander HO, Gustafsson L, Olin P).

Soppressione dell'epitopo collegato

In uno studio sulla tossina dell'adenilato ciclasi (ACT), gli autori hanno notato che i bambini con una malattia primaria *B. pertosse* infezione ha avuto una vigorosa risposta anticorpale all'ACT [95]. Al contrario, la risposta anticorpale all'ACT in coloro il cui vaccino DTaP aveva fallito era attenuata. A quel tempo, gli autori suggerirono che questo fosse simile al "peccato antigenico originale" nell'influenza. Il concetto di peccato antigenico originale nell'influenza è stato suggerito più di 60 anni fa. La memoria immunologica dei bambini è tale che, in caso di una seconda infezione da influenza A, la principale risposta anticorpale è diretta al ceppo con cui sono stati infettati originariamente e non al nuovo ceppo infettante. Utilizzando sieri provenienti da 2 studi vaccinali in Svezia, abbiamo osservato che gli individui che non erano protetti da un vaccino tossoide PT non sviluppavano anticorpi contro FHA e coloro per i quali un vaccino PT/FHA aveva fallito non sviluppavano anticorpi né contro PRN né contro FIM [96]. Nella "soppressione dell'epitopo collegato", le cellule B della memoria superano in competizione le cellule B naive per l'accesso al *Bordetella* epitopi perché sono più numerosi e i loro recettori mostrano una maggiore affinità antigenica. La soppressione degli epitopi legati si verifica poiché la risposta immunitaria ai nuovi epitopi viene soppressa dalla forte risposta ai componenti iniziali se vengono introdotti insieme.

Uno studio condotto in Australia da Sheridan et al [97] hanno dimostrato l'importanza pratica della soppressione dell'epitopo legato. Hanno esaminato i tassi di attacco della pertosse in 40.891 bambini nel Queensland tra il 1999 e il 2011. Nei bambini che erano stati inizialmente vaccinati con il vaccino DTwP, il tasso di attacco medio annuo era del 5,2% (intervallo di confidenza al 95%, 2,7%-9,1%); al contrario, il tasso di attacco medio annuo in quelli vaccinati con DTaP era del 13,2% (intervallo di confidenza al 95%, 7,0%-22,6%). Sebbene la vaccinazione con il vaccino DTwP fosse più arretrata nel tempo, il tasso di attacco annuo era significativamente inferiore in questi partecipanti rispetto a quelli vaccinati con DTaP.

La scoperta di un priming iniziale con il vaccino DTwP che porta a una maggiore efficienza rispetto al priming con il vaccino DTaP è spiegata dalla soppressione dell'epitopo legato causata dalle risposte preferenziali

delle cellule B della memoria dopo l'esposizione secondaria ai componenti del vaccino. I vaccini DTwP contengono >3000 proteine. Gli anticorpi contro molte di queste proteine contribuiscono alla protezione. I vaccini DTaP contengono fino a sole 5 proteine.

Studi recenti sul Tdap negli adolescenti che sono stati preparati con vaccini DTaP

Negli Stati Uniti sono stati condotti tre studi sull'efficacia del vaccino Tdap. I tassi di efficacia del vaccino durante il primo anno sono stati rispettivamente del 75,3%, 73,0% e 68,8%. Tuttavia, dopo 3 anni, non è stata riscontrata quasi nessuna prova di efficacia [98–100].

COSA SI DOVREBBE FARE PER MIGLIORARE LA COORTE DTAP

Dovremmo essere più vigili di quanto lo siamo stati in passato nel riconoscere e trattare la pertosse in tutte le fasce d'età, in modo da ridurre la trasmissione ai neonati. La cosa più importante (sebbene non discussa in questa revisione) è garantire che tutte le donne in gravidanza ricevano il vaccino Tdap tra la 27a e la 36a settimana di gestazione per ogni gravidanza. Inoltre, dovremmo considerare la somministrazione di routine del vaccino Tdap ogni 3 anni a tutti gli adolescenti e gli adulti che sono stati vaccinati con DTaP. Questo suggerimento è in contrasto con le attuali raccomandazioni del Comitato consultivo sulle pratiche di immunizzazione. Tuttavia, dai dati disponibili [98–100], si potrebbe prevedere che questo approccio riduca la circolazione di *B. pertossen* negli adolescenti e negli adulti. Inoltre, il Tdap deve essere somministrato a tutti gli adolescenti e gli adulti esposti a *B. pertossen* durante un'epidemia a scuola o in un altro gruppo.

NUOVI VACCINI CONTRO LA PERTOSSE PER PREVENIRE IL NOSTRO PROBLEMA ATTUALE

Nuovi vaccini DTaP

Dai dati discussi e presentati in questo rapporto, ritengo che un nuovo vaccino DTaP non sia un'opzione praticabile. Sarebbe difficile ottenere il numero e l'equilibrio corretti di antigeni sarebbe pressoché impossibile.

Vaccini vivi

A Lille, Francia, Locht et al [101–104] hanno sviluppato un vaccino vivo estremamente promettente che sembra essere sicuro ed efficace. Questo candidato vaccino vivo, somministrato per via intranasale, è stato sviluppato da Locht et al circa 12 anni fa [103]. Il vaccino, BPZE1, è stato attenuato dalla rimozione della tossina dermonecrotica, dalla riduzione della citotossina tracheale a un livello di fondo e dalla completa inattivazione del PT [104]. Si prevede che a breve inizieranno negli Stati Uniti le sperimentazioni con questo vaccino.

Vaccini DTwP meno reattogeni

In un progetto UCLA-FDA, le reazioni al vaccino relative a 15.752 immunizzazioni con vaccino DTwP sono state studiate in California tra il 1° gennaio 1978 e il 15 dicembre 1979 [105]. In un sottostudio, la reattogenicità in base al lotto del vaccino, al contenuto di endotossine, alla potenza del vaccino contro la pertosse e alla percentuale in peso

è stato analizzato l'aumento nei topi [106]. Da questo studio e da molti altri degli anni '80, si è capito che la causa principale della reazione dopo la vaccinazione DTwP nei neonati era l'LPS (endotossina) [1].

Dopo il riconoscimento generale che l'LPS nei vaccini DTwP era la causa principale delle reazioni ai vaccini, furono fatti tentativi di detossificare i vaccini. Nel 1974, Cooperstock [107] hanno scoperto che l'endotossina potrebbe essere inattivata dalla polimixina B. Studi di Bannatyne et al [108,109] hanno scoperto che l'esposizione dei vaccini DTwP alla polimixina B ha ridotto l'attività dell'endotossina, come valutato in un test di lisato di limulus. Questo trattamento non ha ridotto l'effetto protettivo del vaccino in un test di protezione sui topi [108].

Più recentemente, presso l'Istituto Butantan di San Paolo, in Brasile, è stato prodotto un vaccino DTwP dal quale l'LPS era stato rimosso mediante estrazione chimica [110,111].

L'immunizzazione dei bambini con il vaccino DTwP determina risposte anticorpali specifiche al LPS [1,26,112]. Studi sugli animali hanno dimostrato che l'LPS è un agglutinogeno. Pertanto, l'anticorpo contro l'LPS sarà un anti-adesina. L'anticorpo contro l'LPS ha un'attività battericida complemento-dipendente. È stato anche osservato che l'LPS è un potente adiuvante. Da questi dati, sembrerebbe che la rimozione dell'LPS dai vaccini DTwP non sia un buon approccio.

È disponibile la tecnologia per modificare l'LPS (lipide A) in modo che i suoi effetti benefici vengano mantenuti ma la sua reattogenicità venga eliminata [113–118].

Fernandez e io stiamo attualmente discutendo di questo approccio al vaccino DTwP con un'azienda produttrice di vaccini.

RIEPILOGO

L'uso di sistemi modello animali (in particolare quelli sui topi) ha portato a molti errori che hanno aperto la strada agli attuali problemi di DTaP. I paesi che attualmente utilizzano vaccini DTwP dovrebbero continuare a farlo. Dovremmo aumentare la nostra consapevolezza sulla pertosse negli adulti, perché sono il serbatoio per la continua circolazione di *B. pertossen* la fonte di infezioni nei neonati. Le future coorti trarrebbero beneficio dallo sviluppo e dall'uso di vaccini vivi e di vaccini DTwP meno reattogeni.

Nota

Potenziati conflitti di interesse. Tutti gli autori: nessun conflitto segnalato di interesse. Tutti gli autori hanno presentato il modulo ICMJE per la comunicazione di potenziali conflitti di interesse. I conflitti che i redattori ritengono rilevanti per il contenuto del manoscritto sono stati segnalati.

Riferimenti

1. Mattoo S, Cherry JD. Patogenesi molecolare, epidemiologia e manifestazioni cliniche delle infezioni respiratorie dovute a *Bordetella pertussis* altri *Bordetella* sottospecie. Clin Microbiol Rev. 2005; 18:326–82.
2. Cherry JD. La storia della pertosse: 1906-2015: fatti, miti e idee sbagliate. Curr Epidemiol Rep. 2015; 2:120–30.
3. Pittman M. Tossina della pertosse: la causa degli effetti nocivi e dell'immunità prolungata della pertosse. Un'ipotesi. Rev Infect Dis. 1979; 1:401–12.
4. Pittman M. Il concetto di pertosse come malattia mediata da tossine. Pediatr Infect Dis. 1984; 3:467–86.
5. Sato Y, Kimura M, Fukumi H. Sviluppo di un vaccino contro la pertosse in Giappone. Lancet. 1984; 1:122–6.

6. Edwards KM, Meade BD, Decker MD, et al. Confronto di 13 vaccini acellulari contro la pertosse: panoramica e risposta sierologica. *Pediatrics* **1995**; 96:548-57.
7. Cherry JD, Heininger U. Pertosse e altri *Bordetella* infezioni. In: Feigin e Cherry's Textbook of Pediatric Infectious Diseases. 8a ed., Vol. 1. Philadelphia, PA: Elsevier; **2019**; 1159-77.
8. Edwards KM, Decker MD, Montimer EA. Vaccini contro la pertosse. In: Plotkin SA, Orenstein WA eds. Vaccini. 3a edizione Filadelfia, Pennsylvania: Sanders; **1999**. pag. 293-344.
9. Gruppo ad hoc per lo studio dei vaccini contro la pertosse. Studio controllato con placebo su due vaccini acellulari contro la pertosse in Svezia: efficacia protettiva ed eventi avversi. *Lancet* **1988**; 1:955-60.
10. Gustafsson L, Hallander HO, Olin P, et al. Uno studio controllato di un vaccino antipertosse acellulare a due componenti, un vaccino acellulare a cinque componenti e un vaccino antipertosse a cellule intere. *N Engl J Med* **1996**; 334:349-55.
11. Gustafsson L, Hessel L, Storsaeter J, Olin P. Il follow-up a lungo termine di bambini svedesi vaccinati con vaccini acellulari contro la pertosse a 3, 5 e 12 mesi di età indica la necessità di una dose di richiamo tra i 5 e i 7 anni di età. *Pediatrics* **2006**; 118:978-84.
12. Heininger U, Cherry JD, Stehr K, et al. Efficacia comparativa del vaccino DTP (DTaP) acellulare Lederle/Takeda contro la pertosse e del vaccino DTP a cellule intere Lederle in bambini tedeschi dopo esposizione domestica. Pertussis Vaccine Study Group. *Pediatrics* **1998**; 102:546-53.
13. Liese JG, Meschievitz CK, Harzer E, et al. Efficacia di un vaccino acellulare bicomponente contro la pertosse nei neonati. *Pediatr Infect Dis J* **1997**; 16:1038-44.
14. Olin P, Rasmussen F, Gustafsson L, et al. Studio clinico randomizzato controllato di vaccini antipertosse acellulari a due, tre e cinque componenti rispetto al vaccino antipertosse a cellule intere. Gruppo ad hoc per lo studio dei vaccini antipertosse. *Lancet* **1997**; 350:1569-77.
15. Salmaso S, Mastrantonio P, Wassilak SG, et al. Persistenza della protezione fino a 33 mesi di età garantita dall'immunizzazione infantile con due vaccini acellulari antipertosse a tre componenti. Gruppo di lavoro di Fase II. *Vaccino* **1998**; 16:1270-5.
16. Simondon F, Preziosi MP, Yam A, et al. Uno studio randomizzato in doppio cieco che confronta un vaccino antipertosse acellulare a due componenti con un vaccino a cellule intere in Senegal. *Vaccino* **1997**; 15:1606-12.
17. Stehr K, Cherry JD, Heininger U, et al. Uno studio comparativo di efficacia in Germania su neonati che hanno ricevuto il vaccino DTP (DTaP) con componente acellulare della pertosse Lederle/Takeda, il vaccino DTP con componente cellulare intera Lederle o il vaccino DT. *Pediatrics* **1998**; 101:1-11.
18. Taranger J, Trollfors B, Lagergård T, et al. Efficacia invariata di un vaccino contro la pertosse nei due anni successivi alla terza vaccinazione dei neonati. *Pediatr Infect Dis J* **1997**; 16:180-4.
19. Trollfors B, Taranger J, Lagergård T, et al. Uno studio controllato con placebo su un vaccino contro il tosse della pertosse. *N inglese J Med* **1995**; 333:1045-50.
20. Schmitt HJ, von König CH, Neiss A, et al. Efficacia del vaccino acellulare contro la pertosse nella prima infanzia dopo esposizione domestica. *JAMA* **1996**; 275:37-41.
21. Cherry JD. Prospettiva storica sulla pertosse e l'uso dei vaccini per prevenirla. *Microbe* **2007**; 2:139-44.
22. Holmes WH. Infezioni bacillari e rickettsiane, acute e croniche. Un libro di testo: dalla peste nera alla peste bianca. New York, NY: Macmillan; **1940**:395-414.
23. Mallory FB, Hornor AA. Pertosse: la lesione istologica del tratto respiratorio. *J Med Res* **1912**; 27:115-24.3.
24. Cherry JD. L'epidemiologia della pertosse: un confronto tra l'epidemiologia della malattia della pertosse e l'epidemiologia della pertosse. *Bordetella pertussis* infezione. *Pediatrics* **2005**; 115:1422-7.
25. Cherry JD. L'epidemiologia della pertosse e la vaccinazione contro la pertosse nel Regno Unito e negli Stati Uniti: uno studio comparativo. *Curr Probl Pediatr* **1984**; 14:1-78.
26. Cherry JD, Brunell PA, Golden GS, et al. Rapporto della Task Force sulla pertosse e l'immunizzazione contro la pertosse—1988. *Pediatrics* **1988**; 81:939-84.
27. Fine PEM. Considerazioni epidemiologiche per l'eradicazione della pertosse. In: Wardlaw AC, Parton R, a cura di. Patogenesi e immunità nella pertosse. New York, NY: John Wiley; **1988**:451-67.
28. Fine PE, Clarkson JA. La recidiva della pertosse: possibili implicazioni per la valutazione dell'efficacia del vaccino. *Lancet* **1982**; 1:666-9.
29. Fine PE, Clarkson JA. Riflessioni sull'efficacia dei vaccini contro la pertosse. *Rev. Infect Dis* **1987**; 9:866-83.
30. Bisgard KM, Pascual FB, Ehresmann KR, et al. Pertosse infantile: chi ne era la fonte? *Pediatr Infect Dis J* **2004**; 23:985-9.
31. Kowalik F, Barbosa AP, Fernandes VR, et al. Studio prospettico multinazionale sull'infezione da pertosse nei neonati ospedalizzati e nei loro contatti familiari. *Pediatr Infect Dis J* **2007**; 26:238-42.
32. Wendelboe AM, Njamkepo E, Bourillon A, et al; Gruppo di studio sulla pertosse infantile. Trasmissione di *Bordetella pertussis* ai neonati. *Pediatr Infect Dis J* **2007**; 26:293-9.
33. deGreeff SC, Mooi FR, Westerhof A, et al. Carico della pertosse in famiglia: come proteggere i neonati. *Clin Infect Dis* **2010**; 50:1339-45.
34. Skoff TH, Kenyon C, Cocoros N, et al. Fonti di infezione da pertosse infantile negli Stati Uniti. *Pediatrics* **2015**; 136:635-41.
35. Cherry JD. Il controllo presente e futuro della pertosse. *Clin Infect Dis* **2010**; 51:663-7.
36. Cherry JD. Pertosse nei neonati in tutto il mondo. *Clin Infect Dis* **2016**; 63:119-22.
37. Cherry JD. Pertosse adulta nell'era pre e post vaccino: immunità permanente indotta dal vaccino? *Esperto Rev Vaccines* **2014**; 13:1073-80.
38. Cherry JD. Aspetti epidemiologici, clinici e di laboratorio della pertosse negli adulti. *Clin Infect Dis* **1999**; 28(Suppl 2):112-7.
39. Cherry JD. Pertosse nell'era preantibiotica e prevaccina, con particolare attenzione alla pertosse adulta. *Clin Infect Dis* **1999**; 28(Suppl 2):107-11.
40. Cherry JD. Pertosse: sfide odierne e future. *PLoS Pathog* **2013**; 9:e1003418.
41. Vincent JM, Cherry JD, Nauschuetz WF et al. Malattie prolungate con tosse febbrile non produttiva nei soldati americani in Corea: una ricerca sierologica per la causalità. *Clin Infect Dis* **2000**; 30:534-9.
42. Deville JG, Cherry JD, Christenson PD, et al. Frequenza di non riconosciuti *Bordetella pertussis* infezioni negli adulti. *Clin Infect Dis* **1995**; 21:639-42.
43. Hodder SL, Cherry JD, Mortimer EA Jr, et al. Risposte anticorpali a *Bordetella pertussis* antigeni e correlazioni cliniche negli anziani residenti nella comunità. *Clin Infect Dis* **2000**; 31:7-14.
44. de Melker HE, Versteegh FG, Schellekens JF, et al. L'incidenza di *Bordetella pertussis* infezioni stimate nella popolazione da una combinazione di indagini sierologiche. *J Infect* **2006**; 53:106-13.
45. Strebel P, Nordin J, Edwards K, et al. Incidenza della pertosse basata sulla popolazione tra adolescenti e adulti, Minnesota, 1995-1996. *J Infect Dis* **2001**; 183:1353-9.
46. Ward JI, Cherry JD, Chang SJ, et al; Gruppo di studio APERT. Efficacia di un vaccino acellulare contro la pertosse tra adolescenti e adulti. *N Engl J Med* **2005**; 353:1555-63.
47. Cherry JD, Heininger U, Stehr K, Christenson P. L'effetto della compliance del ricercatore (bias dell'osservatore) sull'efficacia calcolata in uno studio sul vaccino contro la pertosse. *Pediatrics* **1998**; 102:909-12.
48. Wendelboe AM, Van Rie A, Salmaso S, Englund JA. Durata dell'immunità contro la pertosse dopo infezione naturale o vaccinazione. *Pediatr Infect Dis J* **2005**; 24:558-61.
49. Schmitt-Grohé S, Cherry JD, Heininger U, et al. Pertosse negli adulti tedeschi. *Clin Infect Dis* **1995**; 21:860-6.
50. Mink CM, Cherry JD, Christenson P, et al. Una ricerca per *Bordetella pertussis* infezione negli studenti universitari. *Clin Infect Dis* **1992**; 14:464-71.
51. Cherry JD, Beer T, Chartrand SA, et al. Confronto dei valori degli anticorpi per *Bordetella pertussis* antigeni nei giovani uomini tedeschi e americani. *Clin Infect Dis* **1995**; 20:1271-4.
52. Mannerstedt G. Pertosse negli adulti. *J Pediatr* **1934**; 5:596-600.
53. Lapin JH. Pertosse. Springfield, IL: Charles C. Thomas; **1943**.
54. Sauer LW. Pertosse: nuove fasi del lavoro su immunizzazione e profilassi. *JAMA* **1939**; 112:305-8.
55. Madsen T. Pertosse: batteriologia, diagnosi, prevenzione e trattamento. *Boston Med Surg J* **1925**; 192:50-60.
56. Hess AF. Uso di una serie di vaccini nella profilassi e nel trattamento di un'epidemia di pertosse. *JAMA* **1914**; 63:1007.
57. Friedlander A. Pertosse. In: *Pediatrics*. Filadelfia, PA: WB Saunders Company; **1925**: 128-47.
58. Luttinger P. L'epidemiologia della pertosse. *Am J Dis Child* **1916**: 290-315.
59. Bordet J, Gengou O. Le microbe de la coqueluche. *Ann Inst Pasteur (Parigi)* **1906**; 20:48-68.
60. Byers RK, Moll FC. Encefalopatie a seguito di vaccino profilattico contro la pertosse. *Pediatrics* **1948**; 1:437-57.
61. Berg JM. Complicanze neurologiche della vaccinazione contro la pertosse. *Br Med J* **1958**; 2:24-7.
62. Kulenkampf M, Schwartzman JS, Wilson J. Complicanze neurologiche dell'inoculazione della pertosse. *Arch Dis Child* **1974**; 49:46-9.
63. Ström J. Ulteriori esperienze di reazioni, soprattutto di natura cerebrale, in concomitanza con la vaccinazione tripla: uno studio basato sulle vaccinazioni in Svezia 1959-65. *Br Med J* **1967**; 4:320-3.
64. Stewart GT. Vaccinazione contro la pertosse. Efficacia e rischi. *Lancet* **1977**; 1:234-7.
65. Hinman AR. Contenzioso sul vaccino DTP. *Am J Dis Child* **1986**; 140:528-30.
66. Alderslade R, Bellman MH, Rawson NSB, et al; The National Childhood Encephalopathy Study. Pertosse: Rapporti del Comitato per la Sicurezza dei Medicinali e del Comitato Congiunto per la Vaccinazione e l'Immunizzazione. Londra, Inghilterra: Ministero della Salute e della Sicurezza Sociale, Her Majesty's Stationery Office; **1981**:7.

67. Miller D, Wadsworth J, Diamond J, Ross E. Vaccino contro la pertosse e pertosse come fattori di rischio per malattie neurologiche acute e morte nei bambini piccoli. *Dev Biol Stand* **1985**; 61:389-94.
68. Miller D, Madge N, Diamond J, et al. Vaccinazione contro la pertosse e gravi malattie neurologiche acute nei bambini. *BMJ* **1993**; 307:1171-6.
69. Griffin MR, Ray WA, Mortimer EA, et al. Rischio di convulsioni ed encefalopatia dopo la vaccinazione con il vaccino contro difterite-tetano-pertosse. *JAMA* **1990**; 263:1641-5.
70. Gale JL, Thapa PB, Wassilak SG, et al. Rischio di grave malattia neurologica acuta dopo la vaccinazione con vaccino contro difterite-tetano-pertosse. Uno studio caso-controllo basato sulla popolazione. *JAMA* **1994**; 271:37-41.
71. Bellman MH, Ross EM, Miller DL. Spasmi infantili e vaccinazione contro la pertosse. *Lancet* **1983**; 1:1031-4.
72. Walker AM, Jick H, Perera DR, et al. Eventi neurologici successivi alla vaccinazione contro difterite, tetano e pertosse. *Pediatrics* **1988**; 81:345-9.
73. Shields MD, Claus N, Dorte B, et al. Relazione tra la vaccinazione contro la pertosse e l'insorgenza di disturbi neurologici: uno studio epidemiologico retrospettivo. *J Pediatr* **1988**; 113:801-5.
74. Cherry JD. "Encefalopatia da vaccino contro la pertosse": è ora di riconoscere che si tratta del mito che è. *JAMA* **1990**; 263:1679-80.
75. Moore L, Le Saux D, Scheifele N, et al. Mancanza di prove di encefalopatia correlata al vaccino contro la pertosse: sorveglianza attiva di IMPACT, Canada, e 1993-2002. *Pediatr Infect Dis J* **2004**; 23:568-71.
76. Cherry JD. Pertosse e la controversia sui vaccini. In: Root RK, Griffiss JM, Warren KS, et al, a cura di. *Immunization*. New York, NY: Churchill Livingstone; **1989**:47-63.
77. Cherry JD, Shields WD. Crisi epilettiche ricorrenti dopo vaccinazione contro difterite, tetano e pertosse. Associazione causa-effetto vs. Associazione temporale. *Am J Dis Child* **1984**; 138:904-7.
78. Hoffman HJ, Hunter JC, Damus K, et al. Vaccinazione contro difterite, tetano e pertosse e morte improvvisa del lattante: risultati dello studio epidemiologico cooperativo del National Institute of Child Health and Human Development sui fattori di rischio della sindrome della morte improvvisa del lattante. *Pediatrics* **1987**; 79:598-611.
79. Griffin MR, Ray WA, Livengood JR, Schaffner W. Rischio di sindrome della morte improvvisa del lattante dopo la vaccinazione con il vaccino contro difterite, tetano e pertosse. *N Engl J Med* **1988**; 319:618-23.
80. Paddock CD, Sanden GN, Cherry JD, et al. Patologia e patogenesi di eventi fatali *Bordetella pertussis* infezione nei neonati. *Clin Infect Dis* **2008**; 47:328-38.
81. Cherry JD, Paddock CD. Patogenesi e istopatologia della pertosse: implicazioni per l'immunizzazione. *Expert Rev Vaccines* **2014**; 13:1115-23.
82. Cherry JD. Trattamento della pertosse. *J Pediatric Infect Dis Soc* **2018**; 17:e123-5.
83. Winter K, Zipprich J, Harriman KH, et al. Fattori di rischio associati alla mortalità infantile per pertosse: uno studio caso-controllo. *Clin Infect Dis* **2015**; 61:1099-106.
84. Nieves D, Bradley JS, Gargas J, et al. Exanguinotrasfusione nella gestione della pertosse grave nei neonati. *Pediatr Infect Dis J* **2013**; 32:698-9.
85. Murray EL, Nieves D, Bradley JS, et al. Caratteristiche della grave *Bordetella pertussis* infezione tra i neonati di età ≤90 giorni ricoverati in unità di terapia intensiva pediatrica - California meridionale, settembre 2009-giugno 2011. *J Pediatric Infect Dis Soc* **2013**; 2:1-6.
86. Cherry JD, Wendorf K, Bregman B, et al. Uno studio osservazionale sulla pertosse grave in 100 neonati di età ≤120 giorni. *Pediatr Infect Dis J* **2018**; 37:202-5.
87. Warfel JM, Zimmerman LI, Merkel TJ. I vaccini acellulari contro la pertosse proteggono dalla malattia, ma non riescono a prevenire l'infezione e la trasmissione in un modello di primati non umani. *Proc. Natl Acad Sci USA* **2014**; 111:787-92.
88. Warfel JM, Merkel TJ. Il modello del babbuino per la pertosse: uso efficace e insegnamenti per i vaccini contro la pertosse. *Expert Rev Vaccines* **2014**; 13:1241-52.
89. Pinto MV, Merkel TJ. Pertosse, trasmissione e risposte dell'ospite: approfondimenti dal modello di pertosse del babbuino. *J Infect* **2017**; 74:S114-9.
90. Cherry JD. Perché i vaccini contro la pertosse falliscono? *Pediatrics* **2012**; 129:968-70.
91. Cherry JD. Pertosse epidemica e fallimento del vaccino contro la pertosse acellulare nel XXI secolo. *Pediatrics* **2015**; 135:1130-2.
92. Mills KH, Barnard A, Watkins J, Redhead K. Immunità mediata dalle cellule a *Bordetella pertussis*: ruolo delle cellule Th1 nella clearance batterica in un modello murino di infezione respiratoria. *Infettare Immun* **1993**; 61:399-410.
93. Cherry JD, Gornbein J, Heininger U, Stehr K. Una ricerca di correlati sierologici dell'immunità a *Bordetella pertussis* malattie della tosse. *Vaccino* **1998**; 16:1901-6.
94. Storsaeter J, Hallander HO, Gustafsson L, Olin P. Livelli di anticorpi antipertosse correlati alla protezione dopo l'esposizione domestica a *Bordetella pertussis*. *Vaccino* **1998**; 16:1907-16.
95. Cherry JD, Xing DX, Newland P, et al. Determinazione degli anticorpi sierici per *Bordetella pertussis* tossina dell'adenilato ciclasasi nei bambini vaccinati e non vaccinati e nei bambini e negli adulti con pertosse. *Clin Infect Dis* **2004**; 38:502-7.
96. Cherry JD, Heininger U, Richards DM, et al. Modelli di risposta anticorpale a *Bordetella pertussis* Antigeni nei bambini piccoli vaccinati (preparati) e non vaccinati (non preparati) con pertosse. *Clin Vaccine Immunol* **2010**; 17:741-7.
97. Sheridan SL, Ware RS, Grimwood K, Lambert SB. Numero e ordine dei vaccini contro la pertosse a cellule intere nell'infanzia e protezione dalla malattia. *JAMA* **2012**; 308:454-6.
98. Koepke R, Eickhoff JC, Ayele RA, et al. Stima dell'efficacia del vaccino contro tetano-difterite-pertosse acellulare (Tdap) nella prevenzione della pertosse: evidenza di un rapido declino dell'immunità e differenza di efficacia a seconda del tipo di Tdap. *J Infect Dis* **2014**; 210:942-53.
99. Acosta AM, DeBolt C, Tasslimi A, et al. Efficacia del vaccino Tdap negli adolescenti durante l'epidemia di pertosse nello Stato di Washington del 2012. *Pediatrics* **2015**; 135:981-9.
100. Klein NP, Bartlett J, Fireman B, Baxter R. Efficacia del Tdap in calo negli adolescenti. *Pediatrics* **2016**; 137:e20153326.
101. Loch C. Vaccini vivi contro la pertosse: proteggeranno dal trasporto e dalla diffusione della pertosse? *Clin Microbiol Infect* **2016**; 22(Suppl 5):S96-102.
102. Loch C, Papin JF, Lecher S, et al. Il vaccino vivo attenuato contro la pertosse BPZE1 protegge i babbuini contro *Bordetella pertussis* malattia e infezione. *J Infect Dis* **2017**; 216:117-24.
103. Mielcarek N, Debie AS, Raze D, et al. Vivo attenuato *B. pertussis* come vaccino nasale monodose contro la pertosse. *PLoS Pathog* **2006**; 2:e65.
104. Loch C, Mielcarek N. Vaccini vivi attenuati contro la pertosse. *Esperto Rev Vaccines* **2014**; 13:1147-58.
105. Cody CL, Baraff LJ, Cherry JD, et al. Natura e frequenza delle reazioni avverse associate alle vaccinazioni DTP e DT in neonati e bambini. *Pediatrics* **1981**; 68:650-60.
106. Baraff LJ, Manclark CR, Cherry JD, et al. Analisi delle reazioni avverse ai tossoidi difterico e tetanico e al vaccino contro la pertosse per lotto di vaccino, contenuto di endotossine, potenza del vaccino contro la pertosse e percentuale di aumento di peso nei topi. *Pediatr Infect Dis J* **1989**; 8:502-7.
107. Cooperstock MS. Inattivazione dell'endotossina da parte della polimixina B. *Agenti antimicrobici Chemother* **1974**; 6:422-5.
108. Bannatyne RM, Cheung R. Riduzione dell'attività endotossica del vaccino contro la pertosse. *J Hyg (Londra)* **1981**; 87:377-81.
109. Bannatyne RM, Jackowski J, Cheung R. Pulizia del vaccino contro la pertosse. *Vaccino* **1986**; 4:91-2.
110. Dias WO, van der Ark AA, Sakauchi MA, et al. Un vaccino antipertosse a cellule intere migliorato con ridotto contenuto di endotossina. *Hum Vaccin Immunother* **2013**; 9:339-48.
111. Zorzeto TQ, Higashi HG, da Silva MT, et al. Immunogenicità di un vaccino contro la pertosse a cellule intere con basso contenuto di lipopolisaccaridi nei neonati. *Clin Vaccine Immunol* **2009**; 16:544-50.
112. Cherry JD, Heininger U. Pertosse e altri *Bordetella* infezioni. In: Feigin e Cherry's *Textbook of Pediatric Infectious Disease*. 8a ed., Vol. 1. Philadelphia, PA: Elsevier; **2019**: 1159-78.
113. Nico M, Alina T, Didier B, et al. Glucosamina trovata come sostituito di entrambi i gruppi fosfato in *Bordetella* asina dorsale del lipide A: ruolo di un orologio ArnT attivato da BvgAS. *J Bacteriol* **2008**; 190:4281-90.
114. Marr N, Novikov A, Hajjar AM, et al. Variabilità nella struttura dei lipooligosaccaridi ed endotossicità tra *Bordetella pertussis* ceppi. *J Infect Dis* **2010**; 202:1897-906.
115. Marr N, Hajjar AM, Shah NR, et al. Sostituzione del *Bordetella pertussis* gruppi fosfato del lipide A con la glucosamina sono necessari per una robusta attivazione del NF-kappaB e il rilascio di citochine proinfiammatorie nelle cellule che esprimono il recettore Toll-like 4-MD-2-CD14 umano, ma non murino. *Infettare il sistema immunitario* **2010**; 78:2060-9.
116. Shah NR, Albitar-Nehme S, Kim E, et al. Piccole modifiche ai gruppi fosfato e alla lunghezza della catena acilica C3' del lipide A in due *Bordetella pertussis* ceppi, BP338 e 18-323, influenzano indipendentemente l'attivazione della proteina del recettore Toll-like 4. *J Biol Chem* **2013**; 288:11751-60.
117. Maeshima N, Fernandez RC. Riconoscimento delle varianti del lipide A da parte del complesso recettoriale TLR4-MD-2. *Front Cell Infect Microbiol* **2013**; 3:3.
118. Maeshima N, Evans-Atkinson T, Hajjar AM, et al. *Bordetella pertussis* il riconoscimento del lipide A da parte del recettore Toll-like 4 e MD-2 dipende da interfacce cariche e non cariche distinte. *J Biol Chem* **2015**; 290:13440-53.