

La tos Ferina y la Prevención con Vacunas

MARCELA POTIN

La tos Ferina y la Prevención con Vacunas

Marcela Potin, MD

Profesora adjunta de Pediatría, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile

Introducción

La tos ferina es una enfermedad respiratoria aguda causada por un coco bacilo Gram negativo llamado *Bordetella pertussis*, de difícil desarrollo en medios de cultivo (fastidioso), cuya identificación adecuada exige de técnicas que no implican el cultivo, como la RCP o la serología. La enfermedad puede ser grave en niños menores de seis meses de vida. Los últimos brotes de casos de tos ferina en muchos países en los que se administran vacunas celulares y acelulares, incluso con cobertura de vacunación alta, representan un desafío. Diversas estrategias y vacunas mejoradas son necesarias para lograr el control mundial adecuado de la enfermedad.

Patogenia e inmunidad

La infección se transmite por contacto directo con las secreciones respiratorias de los individuos enfermos. Si la exposición es prolongada y cercana, el 80 a 100 % de los individuos susceptibles puede adquirir la infección. Por cada caso se infectarán 17 individuos susceptibles (tasa de reproducción)¹. El período de contagio puede ser de tres o más semanas ante la falta de tratamiento antimicrobiano.

La bacteria se disemina en gotas respiratorias por el epitelio ciliado del tracto respiratorio superior y se adhiere mediante adhesinas como hemaglutinina filamentosa, fimbria y pertactina. La toxina pertussis, por otra parte, penetra el epitelio y produce alteraciones graves de la respuesta inmune inespecífica como la quimiotaxis, el complemento y la fagocitosis y de la inmunidad específica, al suprimir la respuesta de los linfocitos B y T. La patogenia de la encefalopatía no es del todo clara y podría ser secundaria a hipoxia, microhemorragias o acción directa de la toxina pertussis¹.

La respuesta inmune frente a la infección natural o al uso de vacunas no se describe totalmente y parece implicar tanto la respuesta inmune humoral como la de tipo celular. No existe un correlato serológico de protección definido. La infección natural produce una respuesta inmune de tipo celular con secreción de interferón gamma pero no interleuquina 5 (IL5), patrón clásico de respuesta de los linfocitos auxiliares tipo 1 (Th1), lo cual genera una inmunidad más prolongada que la de las vacunas, pero no definitiva^{1,2}.

La enfermedad

El espectro de la infección puede ir desde un cuadro asintomático hasta la forma clásica caracterizada por tres períodos: catarral, paroxístico y convaleciente. Su período de incubación es de 7 a 10 días.

El período catarral es el de mayor contagio, pero rara vez se diagnostica la enfermedad en esta fase. Ésta dura entre 1 y 2 semanas y es indiferenciable de cualquier infección de las vías respiratorias superiores.

El período paroxístico es el que da el sello a la enfermedad y se caracteriza por tos no productiva en accesos, seguida de estridor inspiratorio ("gallito") y vómito postusígeno. No produce fiebre a menos que ocurra una sobreinfección y entre las crisis de tos el paciente se ve perfectamente bien. La tos puede durar hasta 3 meses y, más adelante, durante años, puede ser evocada por otras infecciones respiratorias.

La tos ferina afecta a personas de cualquier edad, pero su presentación es más grave en los menores de un año y, en especial, en menores de 3 meses, los que presentan complicaciones como: apneas, neumonía, convulsiones o encefalopatía, alcanzando una letalidad del 1,3% en el primer mes de vida. Se requiere de al menos tres dosis de la vacuna contra la tos ferina para lograr una protección cercana al 80-90%.

En adolescentes y adultos, la infección puede ser asintomática; sin embargo, puede manifestarse como tos prolongada inespecífica, pero también como un cuadro más clásico de tos paroxística con vómitos y estridor postusígeno. Los estudios en estas poblaciones muestran que el 25% de los adolescentes y el 40% de los adultos mayores de 60 años presentan complicaciones³ como trastornos del sueño, fracturas costales, incontinencia urinaria y síncope tusígeno. La enfermedad también se asocia a pérdida de días laborales⁴. Entre el 1% y el 4% de los casos en adultos requieren hospitalización^{3,4}.

La presentación clínica de la enfermedad no sólo es modificada por la edad, sino también, por la vacunación, así, los casos en sujetos inmunizados son más leves y menos transmisibles que los casos en no vacunados⁵. El grado de contagio se reduce con el uso de antimicrobianos, como los macrólidos, pero los síntomas no se modifican, a menos que la terapia se inicie precozmente en el período catarral.

La inmunidad otorgada por la infección natural es más prolongada que la producida por vacunas. Un estudio de contactos domiciliarios en Alemania demostró reinfecciones sintomáticas sólo 15 a 20 años después de haber cursado una tos ferina⁶.

Diagnóstico

La OMS ha definido el caso clínico confirmado como la presencia de tos persistente por más de 14 días, asociados al menos a uno de los siguientes síntomas (tos paroxística, tos emetizante, gallito inspiratorio) y, en neonatos, cuadro respiratorio con apneas. Si existe un cultivo, reacción en cadena de la polimerasa (RCP) o serología positiva se considera un caso confirmado por laboratorio. Algunos países han adaptado la definición agregando el nexa epidemiológico con un caso confirmado por laboratorio^{8,9}.

Los exámenes de laboratorio general no son de ayuda salvo en niños no vacunados en los que se observa leucocitosis marcada con linfocitosis. La confirmación de la infección requiere de la detección del ADN o del

propio agente o de la respuesta inmune. De este modo, la reacción en cadena de polimerasa (RCP) es considerada la prueba de referencia porque posee una alta sensibilidad y especificidad. Es muy útil en el período catarral y paroxístico, aunque el ADN de *Bordetella* se negativiza después de la tercera semana de enfermedad. En adolescentes y adultos es de gran ayuda, pero la serología (Ig A) en ellos tiene mejor rendimiento ya que la sospecha diagnóstica es más tardía. El cultivo es muy específico, pero poco sensible y rara vez está disponible para uso clínico. La inmunofluorescencia no es un examen recomendable por su variable sensibilidad y especificidad⁸.

Epidemiología mundial

La tos ferina continúa siendo un problema de salud pública incluso en países con coberturas de vacunación altas. Se presenta con un patrón endémico con brotes epidémicos cada 2 a 5 años. Es importante considerar, al analizar cifras de incidencia y distribución etérea de casos, que si bien es una enfermedad de notificación obligatoria, existe una subnotificación muy importante en especial en grupos de escolares, adolescentes y adultos en los que aún no hay sospecha a pesar del cuadro clásico. Los estudios con búsqueda activa de casos sugieren entre 10 y 1.000 casos no diagnosticados por cada caso confirmado^{9,10}. En América Latina existe una importante subnotificación de la tos ferina; en 2012 la OMS comunicó 23.489 casos en las Américas y, ese año, los CDC confirmaron 49.000 casos sólo en los Estados Unidos¹¹.

En los últimos treinta años, se ha observado un aumento progresivo en las notificaciones, especialmente en el grupo de niños en edad escolar, en países desarrollados. A partir de 2011 - 2012 se observa una importante reemergencia de la infección en Canadá, los Estados Unidos, el Reino Unido, Suiza, Alemania, Australia y Japón, a pesar de altas coberturas de vacunas, con una proporción elevada de casos en adolescentes y adultos¹¹. Este cambio epidemiológico se ha atribuido a que la protección otorgada por las vacunas acelulares en uso en países desarrollados es más breve (5 a 7 años) y existe una mayor sospecha y confirmación de casos por exámenes de laboratorio mejorados. La emergencia de cepas mutantes de *B. pertussis* para las que la vacuna no protegería es tema de controversia, pues un estudio reciente muestra la presencia de una alta proporción de cepas sin pertactina. Esto no modificaría la efectividad de la vacuna¹².

En países en desarrollo que usan vacunas celulares, los brotes han sido menos evidentes y los casos reportados se concentran solo en menores de un año¹¹. Argentina, Chile y Colombia han descrito brotes en lactantes y no reportan casos en otros grupos etarios probablemente por falta de sospecha clínica más que por ausencia de ellos⁸.

La fuente de infección en lactantes menores de un año es identificable entre el 31 y 70% de los casos, siendo el origen de la infección los padres, usualmente la madre y también los hermanos mayores y abuelos^{13,14}. También ha sido bien documentado el rol del personal de salud en la transmisión de *BP* a los pacientes, en especial frente a brotes comunitarios¹⁵.

Vacunas

En la era previa a la introducción de las vacunas contra tos ferina, prácticamente todas las cohortes de niños se infectaban, presentando el cuadro clásico de tos ferina. Los países con coberturas de vacunación altas han logrado disminuir la incidencia y mortalidad¹ asociada a la tos ferina en más de un 90%. Sin embargo, hoy en día, la tos ferina aún es un problema de salud pública pues no se ha logrado extender el período interepidémico que se mantiene

entre dos y cinco años, en forma similar a lo que ocurría antes de la vacunación. Esto se debería principalmente a que la inmunidad otorgada por las vacunas tiene una duración limitada, no superior a los cuatro a 12 años¹⁶ y a que la circulación de este agente no se ha reducido significativamente a pesar del uso de vacunas, debido a su acotado efecto en colonización e infección, como lo sugiere evidencia experimental en primates¹⁷.

Existen dos tipos de vacunas disponibles: de células enteras y acelulares. Las de células enteras, disponibles desde 1940, se fabrican sobre la base de la célula completa de la bacteria inactivada (muerta) y contienen aproximadamente 3.000 antígenos. Solo se administran a menores de 7 años por la mayor frecuencia de reacciones adversas a edades mayores. Se utilizan en combinación con el toxoide tetánico, diftérico, el antígeno de superficie de la hepatitis B y *H. influenzae* B conjugado.

El otro grupo de vacunas es el de las acelulares (Pa y pa según el nivel de contenido antigénico) que se formularon en la década del 70 como resultado de los temores de asociación de las vacunas de células enteras con trastornos neurológicos en el niño, muchos de los cuales fueron descartados posteriormente. A partir del año 1981 las acelulares se comercializan en Japón y, desde 1991, en EE. UU. En estas vacunas se eliminó la endotoxina y sólo contienen entre tres y cinco antígenos altamente purificados como toxina pertussis, hemaglutinina filamentosa, pertactina y fimbria. Se asocian a una menor frecuencia de reacciones locales y generales. Existen vacunas acelulares para uso pediátrico y otras para uso en adolescentes y adultos, estas últimas poseen un contenido antigénico menor, que reduce las reacciones adversas.

Las vacunas de células enteras y las acelulares poseen una eficacia similar, con la inducción de niveles altos de anticuerpos, los cuales inhiben la adhesión al epitelio respiratorio y neutralizan las toxinas. Sin embargo, la inmunidad humoral no es suficiente dado que *B. pertussis* no solo es un agente extracelular, sino que puede invadir células como macrófagos pulmonares y permanecer allí por meses. Una protección apropiada requiere de inmunidad mediada por células. Las vacunas de células enteras inducen una respuesta inmune dependiente de los linfocitos auxiliares tipo 1 (Th1) y, con ello, una inmunidad de memoria que genera protección más prolongada, por ello la Organización Panamericana de la Salud (OPS) recomienda el uso de esta vacuna en lactantes. Las acelulares en cambio inducen inmunidad de tipo Th 2 con escasa memoria^{18,19}.

Se ha demostrado que niños que reciben sólo vacunas acelulares en el primer año de vida tienen seis veces más riesgo de presentar tos ferina en la etapa escolar o adolescente, en comparación con los que han recibido al menos una dosis de vacuna de células enteras²⁰. Información reciente sobre el uso de la vacuna dTpa muestra que la efectividad no sería superior al 65 o 70% entre estudiantes de 11 a 19 años²¹.

En América Latina se utilizan vacunas de células enteras en el esquema primario a los dos, cuatro y seis meses, con un refuerzo en el segundo año de vida y otro entre los 4 y 6 años. Solo algunos países usan una dosis adicional de la vacuna acelular⁸.

El impacto de una vacuna depende de una alta cobertura y esto es especialmente crítico para esta infección, cuyo número reproductivo es muy alto y similar al del sarampión, por lo que se requiere lograr coberturas de 95% para un adecuado control. En América Latina, entre 2005 y 2013, la cobertura de las vacunas contra la tos ferina se mantuvo cercana al 90% en la región, pero el 2014 descendió al 88%, con una tendencia a la baja en los últimos cuatro años, aunque con gran variabilidad por países y sus municipios. De este modo, en 2014, sólo 20 de 40 países de América Latina tuvieron coberturas del 80% al 95% y tres de ellos sólo alcanzaron el 50% al 84%²².

Otras estrategias de control

La principal medida de control es mantener coberturas altas, idealmente más del 95% para la tercera dosis de DTP en el primer año. Esto no es fácil de mantener en otros grupos etarios por lo que la circulación del agente continúa ocurriendo y generando brotes. Por ello se han usado otras estrategias como la denominada capullo, que busca proteger al recién nacido y lactante menor, a través de la inmunización con vacunas acelulares de la madre y de otros miembros de la familia en contacto estrecho con el niño. Este enfoque se ha utilizado en países como Australia, Francia, Alemania y Costa Rica. El impacto de estas medidas es limitado, de alto costo y bastante engorroso. En Chile se usó en algunas regiones y se logró vacunar al 91% de las madres en el período posparto, pero sólo el 60% de los demás miembros de la familia recibieron la vacuna. En conjunto con otras medidas eliminó la letalidad de los niños mientras se vacunó a las personas en contacto con ellos²³. Considerando que la respuesta inmune en vacunados demora alrededor de dos semanas, esta estrategia mantendría desprotegido al niño las primeras dos a tres semanas de vida.

La vacuna entonces se debería aplicar idealmente en el embarazo. Si bien la dTpa no está registrada para uso en la embarazada, esta estrategia es muy promisoriosa pues permite proteger de forma más precoz al niño, al evitar por un lado la infección en la madre y, por otra parte, al lograr una protección pasiva del niño a través del traspaso de anticuerpos transplacentarios.

Adicionalmente, datos recientes muestran que nodrizas vacunadas en el embarazo tienen niveles significativamente más altos de anticuerpos contra la tos ferina en la leche materna²⁴ cuyo impacto debe ser evaluado. En un estudio reciente realizado en los EE. UU. con la administración de la vacuna dTpa durante el embarazo²⁵, se compararon niveles de anticuerpos en púerperas con o sin vacuna y se observó un aumento significativo de los anticuerpos para difteria, el tétanos, la toxina de la tos ferina, FHA, pertactina y fimbria en el grupo vacunado. Adicionalmente, estudios observacionales y de casos y controles en Inglaterra (país que utiliza esta estrategia) muestran que la eficacia para prevenir la tos ferina en menores de 2 meses alcanzaría el 90%²⁶.²⁷ La mejor edad para la vacunación sería entre las 27 y 30 semanas de gestación. En los EE. UU. se recomienda revacunar a la madre en cada nuevo embarazo. La vacuna es bien tolerada y no se asocia a complicaciones para la madre o el feto²⁸. Tampoco hay interferencia con las vacunas pediátricas del lactante ni alteración del crecimiento y el desarrollo del niño²⁸⁻³⁰. Este es el enfoque en uso en los Estados Unidos, Nueva Zelanda, Bélgica, Israel y el Reino Unido y en varios países de América Latina, entre ellos Argentina, Colombia, México y Costa Rica. Esta estrategia ha demostrado ser la más efectiva en función de los costos y es la recomendada actualmente por la Iniciativa Mundial contra la Tos Ferina³¹.

El uso de refuerzos de vacuna acelular en la adolescencia es otra estrategia en uso en Argentina, Panamá, Uruguay y Chile¹¹. La vacunación del personal de salud en contacto con niños es otra opción que se ha usado en Argentina, Panamá y también en Chile. Si bien la duración de la protección de las vacunas acelulares es breve, esta estrategia puede ser útil en situaciones de brotes. Finalmente, países como Canadá, Francia y los EE. UU. han optado por recomendar la vacunación universal para los adultos cada diez años con dTpa; sin embargo, la cobertura de estos requerirá esfuerzos especiales pues la adherencia a la vacunación en adultos es muy baja y el costo de esta estrategia es elevado.

Conclusiones

Ninguna de las estrategias propuestas podrá controlar adecuadamente la tos ferina, en especial con la introducción progresiva de vacunas acelulares que, si bien reducen la gravedad y mortalidad de la enfermedad, tienen impacto mínimo en la colonización y transmisión. Por ello, se debe priorizar la formulación de vacunas mejoradas. Dichas vacunas se deben administrar en un menor número de dosis, deben generar inmunidad duradera y de mejor calidad y administrarse, idealmente, a partir del período neonatal. Algunas de las vacunas experimentales comprenden productos con mayor número de antígenos³², así como vacunas encapsuladas y con adyuvantes que favorezcan la respuesta Th1 y Th17³²⁻³⁴ y también vacunas atenuadas elaboradas con virus vivos, administradas por vía nasal en el período neonatal. Estas últimas vacunas experimentales han concluido satisfactoriamente la fase 1 en humanos³².

Mientras aguardamos la producción de vacunas mejoradas, las estrategias recomendadas para América Latina son:

- Mejorar los sistemas de vigilancia y el uso de la confirmación diagnóstica de infección por *B. pertussis* con RCP.
- Continuar el uso de las vacunas celulares en países que actualmente siguen un calendario de vacunación con células enteras, mientras se evalúa la duración de la inmunidad brindada por las vacunas acelulares.
- Mantener una vacunación oportuna y coberturas de DTP estandarizadas por encima del 95% en toda la región y sus municipios.
- Usar la vacuna dTpa en la embarazada en el segundo y tercer trimestre de gestación.

Referencias

1. Edwards KM, Decker MD. Pertussis vaccines. In: Plotkin S, Orenstein W, Offit P, eds. Vaccines, 6ª edición. Filadelfia, Saunders, 2013:447–492.
2. Cherry J, Paddock C. Pathogenesis and histopathology of pertussis: implications for immunization. Expert review of Vaccines 2014;1115-112
3. De Serres, G, Shadmani R, Duval B, Boulianne N, Dery P, Douville Fradet M et al. Morbidity of pertussis in adolescents and adults. J Infect Dis 2000 182:174–179.
4. Rothstein E, Edwards K. Health burden of Pertussis in adolescents and adults. Ped Infect Dis J 2005; 24: S44-S47.
5. Preziosi MP, Halloran ME Effects of Pertussis Vaccination on Disease: Vaccine Efficacy in Reducing Clinical Severity CID 2003; 37: 772-779
6. Wirsing Von König CH, Postels Multani D, Bock H, Schmidt HJ, Pertussis in adults frequency of transmission after household exposure. Lancet 1995; 346:1326-90
7. WHO-recommended surveillance standard of pertussis. Disponible en: http://www.who.int/immunization_monitoring/diseases/pertussis_surveillance. Consultado el 24 de mayo de 2016.
8. Falleiros Arlant LH, de Colsa A, Flores D, Brea J, Avila ML et al Pertussis in Latin America: epidemiology and control strategies. Expert Review of Anti-infective Therapy 2014;12: 1265-1275, DOI: 10.1586/14787210.2014.948846.
9. Cherry JD. The epidemiology of pertussis: a comparison of the epidemiology of the disease pertussis with the epidemiology of Bordetella pertussis infection. Pediatrics 2005; 115:1422–1427.
10. Celentano LP, Massari M, Paramatti D, et al; EUVAC-NET Group. Resurgence of pertussis in Europe. Pediatr Infect Dis J 2005; 24:761–765.
11. Tan T, Dalby T, Forsyth K, Halperin S, Heining U., Hozbor D., Plotkin S., Ulloa-Gutiérrez R, Wirsing von König HC. Pertussis Across the Globe Recent Epidemiologic Trends From 2000 to 2013. Pediatr Infect Dis J 2015; 34: e222–e232.

12. Breakwell L, Kelso P, Finley C, Schoenfeld S, Goode B, Misegades LK et al. Pertussis Vaccine Effectiveness in the Setting of Pertactin-Deficient Pertussis. *Pediatrics* 2016; 137: 1-10 DOI: 10.1542/peds.2015-3973.
13. Perret C, Viviani T, Peña AM, Abarca K, Ferres M. Fuente de infección de *Bordetella pertussis* en lactantes hospitalizados por Tos ferina. *Rev Med Chile* 2011; 139: 448-454
14. Schellekens J, Wirsing von König C-H, MD, Gardner P Pertussis Sources of Infection and Routes of Transmission in the Vaccination Era *Pediatr Infect Dis J* 2005;24: S19–S24)
15. Sandra TJ, Gidengil CA, Lee GM Pertussis vaccination of healthcare workers. *Clinical Microbiology Reviews* 2008; 21: 426-434.
16. Wendelboe AM, Van Rie A, Salmaso S, Englund JA. Duration of Immunity Against Pertussis After Natural Infection or Vaccination. *Pediatr Infect Dis J* 2005;24: S58–S61
17. Warfel JM, Zimmerman LI, Merkel TJ. Acellular pertussis vaccines protect against disease but fail to prevent infection and transmission in a nonhuman primate model. *Proc Natl Acad Sci USA* 2014; 111: 787-92
18. Ryan M, Murphy G, Ryan E, Nilsson L, Schackley F, Gothorffors L et al. Distinct T cell subtype induced with whole cell and acellular pertussis in children. *Immunology* 1998; 93: 1-10.
19. Rowe J, Macaubas C, Monger TM, Holt BJ, Harvey J, Poolman JT, et al. Antigen- specific responses to diphtheria-tetanus-acellular pertussis vaccine in human infants are initially Th2 polarized. *Infect Immune* 2000; 68: 3873–7.
20. Klein NP, Bartlett J, Fireman B., Rowhani-Rahbar A, Baxter R. Comparative effectiveness of Acellular versus whole cell pertussis vaccine in teenagers. *Pediatrics* 2013;131 :1716-1722.
21. Terranella A., Rea V., Griffith M, Manning, Sears, S, Farmer A, Martin S, Patel M. Vaccine effectiveness of tetanus toxoid, reduced diphtheria toxoid, and acellular pertussis vaccine during a pertussis outbreak in Maine. *Vaccine* 2016; 34: 2496 -2500.
22. Grupo Técnico Asesor sobre Enfermedades Prevenibles por Vacunación (GTA) XXIII reunión, Varadero, Cuba 1 al 3 de julio de 2015.
23. Informe situación epidemiológica de la tos ferina en Chile, Semana Epidemiológica 1 a 24 (al 16/06/2012) Unidad de Vigilancia, Dpto. Epidemiología DIPLAS/MINSAL
24. Abu Raya B, Srugo I, Kessel A, Peterman M, Bader D, Peri R et al. The induction of breast milk pertussis specific antibodies following gestational tetanus–diphtheria–acellular pertussis vaccination. *Vaccine* 2014; 32: 5632–5637
25. Gall SA, Facog MD. Prevention of Pertussis, Tetanus, and Diphtheria Among Pregnant, Postpartum Women, and Infants. *Clinical Obstetrics and Gynecology* 2012 55: 498-509
26. Amirthalingam G, Andrews N, Campbell H, et al. Effectiveness of maternal pertussis vaccination in England: an observational study. *Lancet* 2014; 384:1521–8.
27. Dabrera G, Amirthalingam G, Andrews N, Campbell H, Ribeiro S, Kara E, Fry NK, and Ramsay M. A Case-Control Study to Estimate the Effectiveness of Maternal Pertussis Vaccination in Protecting Newborn Infants in England and Wales, 2012–2013. *Clin Infect Dis* 2015; 60: 333-337.
28. Muñoz FM, Bond NH, Maccato M, Pinell P, Hammill HA, Swamy GK, et al. Safety and immunogenicity of tetanus diphtheria and acellular pertussis (Tdap) immunization during pregnancy in mothers and infants: a randomized clinical trial. *JAMA* 7 de mayo de 2014; 311(17):1760–1769.
29. Hardy-Fairbanks AJ, Pan SJ, Decker MD, Johnson DR, Greenberg DP, Kirkland KB, et al. Immune responses in infants whose mothers received Tdap vaccine during pregnancy. *Pediatr Infect Dis J* 2013 Nov;32(11):1257–1260.
30. Englund JA, Anderson EL, Reed GF, et al. The effect of maternal antibody on the serologic response and the incidence of adverse reactions after primary immunization with acellular and whole-cell pertussis vaccines combined with diphtheria and tetanus toxoids. *Pediatrics* 1995;96 (3 pt 2): 580–584
31. Forsyth K, Plotkin S, Tan T, Wirsing von König CH Strategies to Decrease Pertussis Transmission to Infants. DOI: 10.1542/peds.2014-3925
32. Poland GA: Pertussis outbreaks and pertussis vaccines: New insights, new concerns, new recommendations? *Vaccine* 2012, 30:6957–6959.
33. Locht C, Mielcarek N. New pertussis vaccination approaches: en route to protect newborns? *FEMS Immunol Med Microbiol* 2012, 66:121–133.
34. Garlapati S, Eng NF, Kiros TG, Kindrachuk J, Mutwiri GK, Hancock RE y colegas. Immunization with PCEP microparticles containing pertussis toxoid, CpG ODN and a synthetic innate defense regulator peptide induces protective immunity against pertussis. *Vaccine* 2011 29(38): 6540-8. doi: 10.1016/j.