

# Évolution génétique sous pression vaccinale : le modèle *Bordetella pertussis*.

F. Simondon (1) & N. Guiso (2)

(1) Unité de recherche sur les maladies infectieuses et parasitaires, IRD (ex-ORSTOM), BP 5045, 34032 Montpellier, France.

(2) Laboratoire des *Bordetella*, Institut Pasteur, 25 rue du docteur Roux, 75724 Paris cedex 15, France.

Manuscrit n° 2155/RIP5. 3e colloque du réseau international des Instituts Pasteur et instituts associés. 14-15 octobre 1999, Institut Pasteur de Paris.

**Summary:** Genetic evolution under vaccine pressure: the *Bordetella pertussis* model.

*A possible genetic selective pressure related to the long-term use of vaccines has been the object of recent theoretical thought and publications. For more than thirty years, an effective vaccine has been in use against whooping cough on a wide scale basis in several countries. Thus, the *Bordetella pertussis* model may contribute to the analysis of an evolutionary risk linked to the vaccine. To maintain and improve the control of whooping cough, better vaccination coverage must be achieved in countries where prevalence is low. In countries where high vaccination coverage has been achieved over a long period, a trend toward the resurgence of the disease has been observed. Efforts are therefore now being directed toward primary vaccination and boosters. These two targets require new vaccines with fewer side effects. Outbreaks in highly vaccinated populations have been reported, raising the issues of vaccine efficacy, of the long-term effect of vaccines on the transmission of the disease, and of genetic selective pressure. Time trend modifications of circulating strains related to vaccination practices and vaccine types have been observed and are compatible with a selective pressure of the vaccine on related pathogens. However, evidence for a causal relation is lacking. In order to monitor and understand the various effects the vaccine may be having on the effectiveness of immunisation against whooping cough, further surveillance is needed, integrating a standardised characterisation of circulating strains and vaccines by way of a space-time sampling model.*

***Bordetella pertussis*  
whooping cough vaccine  
isolate  
polymorphism  
vaccine pressure**

**Résumé :**

*La possible pression de sélection génétique associée à l'utilisation de vaccins pendant une longue durée a fait l'objet de réflexions théoriques et de revues récentes. Dans ce contexte, le modèle *Bordetella pertussis*, pour lequel un vaccin existe et est utilisé à large échelle depuis plus de trente années dans certains pays, peut aider à préciser les éléments d'appréciation de ce risque d'évolution. La poursuite et l'amélioration du contrôle de la coqueluche nécessitent une amélioration de la couverture vaccinale dans les pays où elle reste faible. Dans les pays où la couverture vaccinale est élevée depuis longtemps, l'observation d'une résurgence de la coqueluche nécessite le maintien d'un niveau élevé de la vaccination et la pratique de rappels vaccinaux. Ces deux aspects ont nécessité le développement et suggèrent l'utilisation de nouveaux vaccins mieux tolérés. La survenue d'épidémies dans des populations ayant une forte politique de vaccination pose le problème de l'efficacité des vaccins, de leurs effets épidémiologiques à long terme sur la transmission et d'une sélection génétique. L'évolution parallèle des modifications des isolats circulant et de la couverture vaccinale est compatible avec un tel mécanisme de sélection génétique, mais ne le prouve pas. Des études de surveillance intégrant la caractérisation standardisée des isolats et des vaccins selon un échantillonnage spatio-temporel sont nécessaires.*

***Bordetella pertussis*  
vaccin coqueluche  
polymorphisme  
isolat  
pression vaccinale**

## Introduction

La possibilité qu'il y ait une pression de sélection génétique associée à l'utilisation de vaccins pendant une longue durée est importante à envisager. En effet, une telle sélection devrait se traduire par une moins grande sensibilité des agents pathogènes aux réactions immunes induites par les vaccins visant à contrôler leur circulation. Dans ce contexte, dont le cadre théorique a fait l'objet de travaux

récents (2, 3, 21, 26, 27), le modèle *Bordetella pertussis*, pour lequel un vaccin existe et est utilisé à large échelle depuis plus de trente années dans certains pays, peut contribuer à illustrer et à préciser les éléments d'appréciation de ce risque d'évolution. Cette revue se propose ainsi de situer l'analyse des risques de sélection génétique sous pression vaccinale à partir des connaissances épidémiologiques actuelles sur la coqueluche et sa vaccination et d'en dégager les éléments nécessaires à la surveillance.

## Épidémiologie et contrôle

La coqueluche est une maladie bactérienne ubiquitaire due à la bactérie *Bordetella pertussis*. Le traitement antibiotique est inefficace, la maladie étant essentiellement liée à la sécrétion de plusieurs toxines par la bactérie. L'utilisation généralisée de vaccins coquelucheux à germes entiers (Pw) efficaces, disponibles depuis le début des années cinquante, a permis de réduire son importance. Cependant, cette réduction est inégale. L'estimation de l'Organisation mondiale de la santé (OMS) est de 40 millions de cas, se répartissant en 90 % des cas observés dans les pays en développement et 10 % dans les pays industrialisés, dont l'Europe de l'Est (23). L'estimation globale est de 71 millions de cas prévenus par la vaccination, donc bien supérieure au nombre de cas observés, et c'est seulement pour l'Afrique que le nombre de cas évités (8,4 millions) est inférieur au nombre de cas survenus (11,4 millions). Cette maladie, qui touche l'enfant très tôt dans la vie, a un impact prononcé sur l'état nutritionnel et se situe au troisième rang pour la mortalité due aux maladies à prévention vaccinale de l'enfance, après la rougeole et le tétanos néonatal (23). En 1994, 400 000 décès étaient attribués à la coqueluche, principalement dans les pays en développement (PED), où le taux de mortalité par coqueluche est estimé à 1-3%, ce taux étant beaucoup plus faible dans les pays industrialisés (0,01 à 0,4 %). Variant en Afrique selon la saison et le lieu (milieu urbain, milieu rural), la coqueluche peut être responsable de 1 % à 7 % des décès de l'enfant de moins de 5 ans, soulignant la nécessité d'améliorer et de maintenir le niveau de couverture vaccinale dans le cadre du programme élargi de vaccination. La réactogénicité de certains Pw, dont l'importance a été ressentie d'autant plus fortement que l'efficacité des vaccins a entraîné une forte réduction de la morbidité par coqueluche, a conduit certains pays à arrêter la vaccination dans le courant des années soixante-dix comme en Angleterre, au Japon et en Suède (15). Cet arrêt a été associé à la survenue d'épidémies dans ces mêmes pays, confirmant l'importance de la vaccination (15). Ce phénomène de rejet par la population d'un vaccin pour ses effets indésirables, lorsque la morbidité et la mortalité liées à une maladie sont moins perceptibles, est classique (6). Cette perception négative a été renforcée par des interrogations sur l'efficacité des vaccins à germes entiers (15). À cette question centrale de l'amélioration des vaccins existants, s'ajoute la question de l'adaptation du programme de vaccination aux modifications épidémiologiques induites sur le long terme par la vaccination de masse. En effet, dans les pays ayant continué la vaccination généralisée, une résurgence de la maladie a aussi été observée, comme aux États-Unis (5) et en France (4). Cette résurgence peut être expliquée par les modifications épidémiologiques induites sur le long terme par les vaccinations comme la diminution des rappels naturels du fait de la baisse d'incidence de la maladie, l'augmentation de l'âge moyen à la maladie et la baisse de la protection vaccinale au cours du temps (25). Cette évolution est observée en parallèle pour d'autres pathologies à transmission directe et à prévention vaccinale comme la rougeole (1, 9, 38). Une telle évolution se traduit par une augmentation de la fréquence des coqueluches chez l'adulte jeune et par la contamination des nouveau-nés, pour lesquels la maladie est grave (7). Si l'importance de la maladie chez les adultes reste difficile à évaluer du fait de formes cliniques modérées et atypiques (14), leur contribution dans la transmission au nouveau-né semble de plus en plus clairement établie en rapport avec le niveau de la couverture vaccinale de la population (18). Le maintien du contrôle de la coqueluche par la vaccination, en particulier

du nouveau-né, nécessiterait alors des rappels chez l'adolescent et l'adulte, rendus difficiles par la réactogénicité des Pw. Ces modifications épidémiologiques induites par les vaccinations, rendant compte de la résurgence de la coqueluche, ont apporté ainsi une seconde justification au développement des nouveaux vaccins coquelucheux dits acellulaires (Pa), car composés de protéines purifiées, devant être mieux tolérés et au moins aussi efficaces que les Pw.

## Évolution des vaccins

Afin de mettre au point ces nouveaux vaccins, des recherches ont été accomplies dans le monde entier pour caractériser les déterminants de la virulence de la bactérie agent de la coqueluche, *Bordetella pertussis*, et mettre au point des vaccins dits acellulaires (Pa) car composés de protéines purifiées (13). Ces recherches ont permis de caractériser certains déterminants de pathogénicité de la bactérie tels que la toxine de *pertussis* ou PT (toxine ADP-ribosylante), la toxine cytotrachéale ou TCT (muramyl peptide), l'adénylcyclase-hémolysine ou AC-Hly (toxine RTX) et des adhésines, l'hémagglutinine filamenteuse ou FHA, les fimbriae ou FIM, la pertactine ou PRN. La compréhension de leur rôle au cours de la maladie a été approfondie, elles ont été purifiées et leur contribution dans l'induction d'une immunité protectrice a été étudiée à l'aide de modèles animaux. Des préparations vaccinales, contenant toutes de la PT inactivée et d'une à quatre adhésines, ont été préparées et testées au cours d'essais cliniques de phase I, II et III (22). Ces essais, réalisés entre 1986 et 1997, ont révélé que deux des principaux objectifs de ces recherches ont été atteints: les Pa sont mieux tolérés que les Pw par les nourrissons et ils sont efficaces (12). Cependant, ces essais ont aussi révélé que l'efficacité des Pa, tout comme celle des Pw, est variable d'un vaccin à l'autre et en général celle des Pa est toujours légèrement inférieure à celle des Pw les plus efficaces. Des questions subsistent quant à leur composition antigénique optimale et à l'équivalence de la protection conférée, en particulier leur durée d'action (8, 16, 32). Une des limitations importantes dans l'élaboration et l'évaluation de tous les vaccins coquelucheux, Pw ou Pa, a été (10) et reste (17) l'absence de corrélat de protection satisfaisant, ainsi que le lent développement de modèles animaux performants (20).

## Évolution génétique sous pression vaccinale

La variabilité de l'efficacité des vaccins à germes entiers a été posée dès la fin des années cinquante le problème de leur adéquation aux sérotypes des isolats circulants et de leur évolution (33). Ces considérations ont conduit à des modifications des vaccins produits alors, pour que les sérotypes des souches vaccinales correspondent à ceux des souches circulantes et aux recommandations de l'OMS pour la composition des vaccins à partir de plusieurs sérotypes (31), préfigurant la possibilité d'évolution génétique sous pression vaccinale. Plus récemment, cet aspect a été à nouveau discuté lors de l'analyse de l'épidémie survenue au Pays-Bas, en 1996-1997, dans un pays qui vaccine depuis trente années avec un vaccin à germes entiers et où la couverture vaccinale est élevée (11). Une des hypothèses proposées par les Pays-Bas a été l'inadéquation antigénique entre les isolats et les souches vaccinales (30). Cette hypothèse a été reformulée à la suite d'un travail comparant les isolats circulant actuellement à ceux circulant avant l'introduction de la vaccination généralisée. Il

s'avère qu'en utilisant une technique de typage par RFLP des différences significatives existent (35). Ensuite, la même équipe a observé qu'après séquençage des gènes codant une des sous-unités de la PT et la PRN, ces deux protéines bactériennes variaient. Les isolats circulant actuellement expriment une sous-unité S1 de la PT et une PRN différente de celles exprimées par les isolats circulant avant la vaccination, différentes de celles exprimées par les souches vaccinales et différentes de celles contenues dans les vaccins acellulaires (36). Ainsi, après trente années de vaccination avec le même vaccin, des différences sont observées entre les isolats qui circulent à l'heure actuelle et ceux qui circulaient avant l'introduction de la vaccination et donc des souches vaccinales. Ces observations sont compatibles avec un processus d'évolution génétique sous pression vaccinale, mais n'en permettent pas une interprétation causale. En particulier, ces observations sont faites au niveau général de la population, mais, au niveau individuel, il n'a pas été rapporté de relation entre les échecs vaccinaux et les caractéristiques génétiques des isolats.

La France et la Finlande utilisent des vaccins à germes entiers depuis plus de trente années, proches de ceux utilisés aux Pays-Bas, et des informations sur les isolats circulants y sont disponibles. Dans ces deux pays, des variants, semblables à ceux collectés aux Pays-Bas, circulent (29, 37). Cependant, malgré la résurgence observée (4), il n'y a pas d'épidémie. Est-ce dû au fait que la proportion de variants circulant dans ces pays n'est peut-être pas exactement la même qu'aux Pays-Bas ou que cette hypothèse n'est pas fondée mais qu'il s'agit plutôt d'une plus faible efficacité du vaccin hollandais qui pourrait aussi être associé au processus de production du vaccin ?

Pour essayer d'analyser plus en détail cet aspect de la pression de sélection liée aux vaccinations, un certain nombre de questions doivent être identifiées et résolues :

- Quels sont les critères permettant d'orienter la baisse de l'efficacité vaccinale vers une sélection génétique d'isolats "résistants" plus que vers des caractéristiques de production de vaccins, ou vers des modifications épidémiologiques induites par la vaccination, comme la baisse de la protection vaccinale au cours du temps ?

- Comment quantifier la possible pression de sélection induite par la vaccination, en tenant compte d'autres composantes de l'évolution génétique (dérive génétique, migrations) ?

- Quelles sont les caractéristiques épidémiologiques de la transmission qui permettraient de prévoir le risque ou l'absence de risque de pression de sélection ?

- Quels sont les arguments pour déduire que des différences antigéniques ont une conséquence en termes de protection ?

- Y a-t-il réellement des différences antigéniques entre les souches vaccinales et les isolats qui circulent, en particulier en relation avec les échecs vaccinaux au niveau individuel ?

- La comparaison d'isolats circulant dans des pays où la couverture vaccinale est élevée depuis de nombreuses années et des pays où l'introduction de la vaccination est plus récente et moins complète donne-t-elle des résultats homogènes avec les premières observations ?

Plusieurs stratégies ont été mises en place pour apporter un début de réponse à ces questions :

- mise au point de modèles murins afin de comparer l'immunité induite par différents vaccins Pw et Pa vis-à-vis de la souche de référence de *Bordetella pertussis* 18323, puis vis-à-vis de différents variants (20). Les premiers résultats sont cohérents avec ceux trouvés lors des essais cliniques (20) ;

- mise en place d'une standardisation des techniques de typage des isolats de *Bordetella pertussis* (28) ;

- comparaison du polymorphisme des isolats de *B. pertussis* circulant dans des pays n'ayant pas ou peu vacciné. Les activités de surveillance épidémiologique et de diagnostic réalisées au cours des dix dernières années dans le cadre des études de protection des vaccins acellulaires créent un cadre approprié pour ces comparaisons en Allemagne, en Italie, en Suède (24) et dans un environnement très différent, au Sénégal (34).

## Conclusion

Mais parallèlement à ces développements, l'étude de la possibilité d'une évolution génétique sous pression vaccinale suppose la mise en place d'une surveillance prospective qui intégrerait :

- le diagnostic des cas de coqueluche à l'aide de diagnostics biologiques permettant l'isolement et la caractérisation des isolats (19) ;

- la connaissance précise du statut vaccinal et des vaccins reçus ;

- les caractéristiques de personnes, de temps et de lieu de la survenue des cas sur échantillon de la population.

Le rapide développement de l'utilisation des Pa rend ces études encore plus prioritaires, puisque ces nouveaux vaccins ont, plus que les Pw, les caractéristiques favorisant l'évolution vers de possibles résistances (27) : faible nombre d'antigènes (une à cinq protéines seulement), efficacité vaccinale plus faible, durée de protection probablement moindre.

Ainsi la vaccinologie doit-elle maintenant intégrer cette nouvelle dimension éco-épidémiologique de l'effet des vaccins, et en prévoir l'étude par la surveillance.

## Références bibliographiques

1. AABY P, CISCHE B, SIMONDON F, SAMB B, SOUMARÉ M & WHITTLE H - The role of schools in the transmission of measles in rural Senegal: Implications for measles control in developing countries. *Am J Epidemiol*, 1999, **149**, 304-305.
2. ANDERSON RM, DONNELLY CA & GUPTA S - Vaccine design, evaluation, and community-based use for antigenically variable infectious agents. *Lancet*, 1997, **350**, 1466-1470.
3. ANDERSON RM & MAY RM - Directly transmitted infections diseases: control by vaccination. *Science*, 1982, **215**, 1053-1060.
4. BARON S, NJAMKEPO E, GRIMPREL E, BEGUE P, DESENCLOS JC *et al.* - Epidemiology of *pertussis* in French hospitals in 1993 and 1994: thirty years after routine use of vaccination. *Pediatr Infect Dis J*, 1998, **17**, 412-418.
5. BASS JW & STEPHENSON SR - The return of *pertussis*. *Pediatr Infect Dis J*, 1987, **6**, 141-144.
6. CHEN RT & ORENSTEIN WA - Epidemiologic methods in immunization programs. *Epidemiol Rev*, 1996, **18**, 99-117.
7. CHERRY JD - The role of *Bordetella pertussis* infections in adults in the epidemiology of *Pertussis*. *Dev Biol Stand*, 1997, **89**, 181-186.
8. CHERRY JD & OLIN P - The Science and Fiction of *Pertussis* vaccines. *Pediatrics*, 1999, **104**, 1381-1384.
9. CISCHE B, AABY P, SIMONDON F, SAMB B, SOUMARÉ M & WHITTLE H - Role of schools in the transmission of measles in rural Senegal: Implications for measles control in developing countries. *Am J Epidemiol*, 1999, **149**, 295-301.
10. COKBURN WC - The use of mixed diphtheria-pertussis tetanus antigens. *Bull Org mond Santé*, 1955, **13**, 409-422.
11. DE MELKER HE, CONYN-VAN SPAENDOCK MAE, RUMKE HC, VAN WUNGAARDEN JK, MOOI FR & SCHELLEKENS JFP - *Pertussis* in the Netherlands: an outbreak despite high levels of immunization with whole-cell vaccine. *Emerg Infect Dis*, 1997, **3**, 175-178.
12. EDWARDS KM & DECKER MD - Acellular *pertussis* vaccines for infants. *N Engl J Med*, 1996, **334**, 391-392.
13. EDWARD KM, DECKER MD & MORTIMER EA - *Pertussis* Vaccine. In: PLOTKIN S & ORENSTEIN W (Eds), *Vaccines*. Saunders, Philadelphia, 1998, pp. 293-344.

14. FINE PEM - Adult *Pertussis*: A Salesman's Dream- and an Epidemiologist's nightmare. *Biologicals*, 1997, **25**, 195-198.
15. FINE PEM & CLARKSON JA - Reflexions on the efficacy of *per-tussis* vaccines. *Rev Infect Dis*, 1987, **9**, 866-883.
16. GANGAROSA EJ, GALAZKA AM, WOLFE CR, PHILLIPS LM, GANGAROSA RE *et al.*- Impact of anti-vaccine movements on *pertussis* control: the untold story. *Lancet*, 1998, **351**, 356-361.
17. GRANOFF D & RAPPUOLI R - Are serological responses to acellular *Pertussis* antigens sufficient criteria to ensure that new combination vaccines are effective for prevention of disease? *Dev Biol Stand*, 1997, **89**, 379-389.
18. GRIMPREL E, BARON S, LEVY-BRUHL D, GARBIER JM, NJAMKEPO E *et al.*- Influence of vaccination coverage on *pertussis* transmission in France. *Lancet*, 1999, **354**, 1699-1700.
19. GUISSON N - Isolation, identification and characterization of *B. pertussis*. *Dev Biol Stand*, 1997, **89**, 233-238.
20. GUISSON N, CAPIAU C, CARLETTI G, POOLMAN J & HAUSER P - Intranasal murine model of *Bordetella pertussis* infection I. Prediction of protection in human infants by acellular vaccines. *Vaccine*, 1999, **17**, 2366-2376.
21. HALLORAN EM, ANDERSON RM, AZEVEDO-NETO RS, BELLINI WJ, BRANCH O *et al.*- Population biology, evolution, and immunology of vaccination and vaccination programs. *Am J Med Sci*, 1998, **315**, 76-86.
22. HEWLETT EL & CHERRY JD - New and improved vaccines against *pertussis*. In: LEVINE MM, WOODROW GC, KAPER JB, COBON GS (Eds), *New Generation Vaccines*. Marcel Dekker, New-York, 1997, pp 387-416.
23. IVANOFF B & ROBERTSON SE - *Pertussis*: A Worldwide Problem. *Dev Biol Stand*, 1997, **89**, 3-13.
24. MASTRANTONIO P, SPIGAGLIA P, VAN OIRSCHOT H, VAN DER HEIDE HGJ, HEUVELMAN K *et al.*- Antigenic variants in *Bordetella pertussis* strains isolated from vaccinated and unvaccinated children. *Microbiology*, 1999, **145**, 2069-2075.
25. MILLER E & GAY NJ - Epidemiological Determinants of *Pertussis*. *Dev Biol Stand*, 1997, **89**, 15-23.
26. McLEAN AR - Vaccination, evolution and changes in the efficacy of vaccines: a theoretical framework. *Proc R Soc London B Biol Sci*, 1995, **261**, 389-393.
27. McLEAN AR - Vaccines and their impact on the control of disease. *Br Med Bull*, 1998, **54**, 545-556.
28. MOOI FR, HALLANDER H, WIRSING VON KÖNIG F, HOËT B & GUISSON N - Epidemiological typing of *Bordetella pertussis* isolates: recommendations for a standard methodology. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2000, **19**, in press.
29. MOOI FR, QIU SHUI HE, VAN OIRSCHOT H & MERTSOLA J- Variation in the *Bordetella pertussis* virulence factors *pertussis* toxin and pertactin in vaccine strains and clinical isolates in Finland. *Infect Immun*, 1999, **67**, 3133-3134.
30. MOOI FR, VAN OIRSCHOT H, HEUVELMAN K, VAN DER HEIDE HGJ, GAASTRA W & HAN GJ - Polymorphism in the *Bordetella pertussis* virulence factors P.69 /pertactin and *pertussis* toxin in the Netherlands: temporal trends and evidence for vaccine driven evolution. *Infect Immun*, 1998, **66**, 670-675.
31. OMS - Comité d'experts sur la standardisation biologique. 13ème rapport. *Sér rapp techn*, 1979, **638**, 61-65.
32. OMS - Informal Consultation on Control of *pertussis* with Whole-Cell and Acellular vaccines. *CVI Forum*, Org mond santé, Genève, 18-19 Mai 1998.
33. PRESTON NW - *Pertussis* today. In: WARLAW AC & PARTON R. (Eds) *Pathogenesis and Immunity in Pertussis*. John Wiley & Sons, Chichester, 1988, pp 1-18.
34. SIMONDON F, PREZIOSI MP, YAM A, KANE CT, CHABIRAND L *et al.* - A randomized double-blind trial comparing a two-component acellular to a whole-cell *pertussis* vaccine in Senegal. *Vaccine* 1997, **15**, 1606-1612.
35. VAN DER ZEE A, VERNOOJ S, PEETERS M, VAN EMBDEN J & MOOI FR - Dynamics of the population structure of *Bordetella pertussis* as measured by IS1002-associated RFLP: comparison of pre- and post-vaccination strains and global distribution. *Microbiology*, 1996, **142**, 3479-3485.
36. VAN LOO IHM, VAN DER HEIDE HG, NAGELKERKE NJ, VERHOEF J & MOOI FR - Temporal trends in the population structure of *Bordetella pertussis* during 1949-1996 in a highly vaccinated population. *J Infect Dis*, 1999, **179**, 915-923.
37. WEBER, BOURSAX-EUDE, NJAMKEPO E & GUISSON N -Characterization of *B.pertussis* isolates circulating in France after thirty years of high level of vaccination with the same effective whole-cell vaccine. En préparation.
38. WHITTLE H, AABY P, SAMB B, COLL-SECK AM, MARKOWITZ L *et al.*- Effect of sub-clinical infection in maintaining immunity against measles in vaccinated children in West Africa. *Lancet* 1999, **353**, 98-102.