

Comparación de tres técnicas ELISA para evaluar la seroprevalencia de IgG frente a *Bordetella pertussis* en niños vacunados con tres dosis de DTPe

Juan Carlos Sanz^a, Marisa Fernández^a, María Jesús Sagües^a, Rosa Ramírez^b, Rosario Castañeda^b, Dolores Barranco^c y Fernando de Ory^d

^aLaboratorio Regional de Salud Pública. Servicios de ^bEpidemiología y ^cPrevención y Promoción de la Salud. Dirección General de Salud Pública. Consejería de Sanidad de la Comunidad de Madrid. ^dCentro Nacional de Microbiología. Instituto de Salud Carlos III. Madrid.

FUNDAMENTOS. Aunque existen varios ELISA para determinar la IgG frente a *Bordetella pertussis*, no se dispone de demasiados datos que permitan comparar la seroprevalencia detectada por diferentes técnicas. El objetivo de este estudio fue evaluar y comparar mediante tres técnicas ELISA la seroprevalencia en niños frente a *B. pertussis*.

PACIENTES Y MÉTODO. Se estudió a 172 niños de 6 a 10 años vacunados con tres dosis de DTPe. La detección de IgG frente a un combinado antigénico de *B. pertussis* se realizó mediante dos técnicas cuantitativas (Labsystems y Serion). La presencia de IgG frente a hemaglutinina filamentosa (HAF) y toxina Pertussis (TP) se detectó por un método semicuantitativo (Pertusscan).

RESULTADOS. El 42,4% de las muestras resultó positivo mediante Labsystems y el 32% dudoso. Serion aportó un 52,9% de resultados positivos y un 20,9% de dudosos. Pertusscan detectó IgG-HAF en el 81,4% de las muestras e IgG-TP en el 75%. El grado de "inmunidad" basado en la recomendación de este método fue del 21,5%. La concordancia entre Labsystems y Serion fue del 45,9% (índice kappa = 0,157; $p < 0,01$). En las muestras IgG-TP o IgG-HAF positivas el número de resultados positivos por Serion respecto a Labsystems resultó superior y el de dudosos inferior ($p < 0,05$).

CONCLUSIONES. Ambas técnicas cuantitativas revelaron una elevada tasa de resultados dudosos y una concordancia muy débil. La alta tasa de resultados dudosos mediante Labsystems y su peor concordancia con las otras técnicas desaconsejan su empleo en estudios de inmunogenicidad. Los otros procedimientos presentan una interpretación problemática en términos de seroprevalencia.

Palabras clave: *Bordetella pertussis*. Seroprevalencia. ELISA. Niños.

Comparison of three ELISA techniques for the evaluation of IgG seroprevalence against *Bordetella pertussis* in children vaccinated with three doses of DTPwc

BACKGROUND. Although there are several ELISA procedures to determine IgG against *Bordetella pertussis*, there are scarce data that allow to compare the seroprevalence detected using different kits. The objective of this study was to evaluate and to compare by three ELISA techniques the seroprevalence against *B. pertussis* in children.

PATIENTS AND METHOD. 172 children 6-10 years old, vaccinated with three dose of DTPwc were studied. IgG against *Bordetella pertussis* was determined by two quantitative techniques (Labsystems and Serion). The qualitative detection of IgG against FHA and PT was performed by a semiquantitative method (Pertusscan). **RESULTS.** The Labsystems ELISA classified a 42.4% of the samples as positive and a 32% as borderline. The Serion method showed 52.9% of positive and 20.9% of borderline results. IgG-FHA was detected in 81.4% and IgG-PT in 75% of the samples by Pertusscan. The level of "immunity" recommended by this method was of 21.5%. The agreement between Labsystems and Serion was 45.9% (kappa index = 0.157; $p < 0.01$). In the IgG-TP or IgG-FHA positive samples, the proportion of positive results obtained by Serion was superior to those obtained by Labsystems while the number of borderline results were inferior ($p < 0.05$).

CONCLUSIONS. Both quantitative techniques showed a high rate of not conclusive results and a very weak concordance. The large number of doubtful results obtained by Labsystems and its worse concordance with the other techniques dissuades its employment in immunogenicity studies. The results obtained by the other two techniques present a problematic interpretation in terms of seroprevalence.

Key words: *Bordetella pertussis*. Seroprevalence. ELISA. Children.

Correspondencia: Dr. J.C. Sanz
Laboratorio Regional de Salud Pública. Dirección General de Salud Pública.
Consejería de Sanidad de la Comunidad de Madrid.
General Orta, 15.
28006 Madrid.
Correo electrónico: jcsanz1@teleline.es

Manuscrito recibido el 6-11-2001; aceptado el 18-10-2001.

Introducción

La detección de la respuesta inmunológica tras la vacunación frente a *Bordetella pertussis* se considera una

medida indirecta de eficacia vacunal. Esta medida resulta importante para la validación de nuevos preparados vacunales^{1,2} (ensayos clínicos) y para la investigación epidemiológica del estado inmunitario en la población (encuestas de serovigilancia)³⁻⁵. Aunque existen numerosos estudios en los que se ha evaluado la inmunogenicidad de diferentes vacunas, en la mayoría de los casos la detección de anticuerpos frente a *B. pertussis* se ha realizado mediante técnicas serológicas propias de cada laboratorio, diseñadas específicamente para el trabajo en cuestión y empleando los mismos antígenos incorporados en diferentes preparados vacunales^{1,6,7}. En los últimos años se han desarrollado varios métodos serológicos comerciales destinados al diagnóstico serológico de la tos ferina. Sin embargo, no se dispone de demasiados datos que permitan comparar los resultados de seroprevalencia obtenidos mediante el uso de diferentes técnicas. La introducción de la nueva vacuna acelular plantea nuevos retos en la interpretación de este tipo de resultados. El objetivo de este estudio fue evaluar y comparar mediante 3 técnicas ELISA de origen comercial el grado de seroprevalencia de IgG frente a *B. pertussis* en un grupo de población pediátrica vacunado con 3 dosis de difteria, tétanos y tos ferina (células enteras) (DTPe).

Pacientes y método

Se estudiaron 172 muestras de suero pertenecientes a niños de 6 a 10 años de edad (92 niños y 80 niñas; edad media de 8,13 años, desviación estándar 1,47) en los que se confirmó la administración previa de 3 dosis de DTPe mediante la revisión del documento acreditativo del estado vacunal. Este grupo de niños formaba parte de una muestra más amplia de la población general correspondiente a la II Encuesta de Seroprevalencia de la Comunidad de Madrid, obtenida mediante un muestreo bietápico por conglomerados en centros de atención primaria del Insalud entre octubre de 1993 y febrero de 1994⁸.

Las vacunas administradas a la población en estudio fueron, indistintamente, Anatoxal DiTePer (Berna) y Trivacuna (Leti). Ambas vacunas están constituidas por suspensiones de células completas de *B. pertussis* en fase I, muertas mediante tratamiento con formol, adsorbidas en sales de aluminio y combinadas con las anatoxinas tetánica y diftérica, siendo el agente conservador el tiomerosal. La pauta de inmunización a la que fueron sometidos los sujetos en estudio se inició a los 3 meses de edad y consistió en un total de 3 dosis sucesivas administradas por vía intramuscular profunda con intervalos de 8 semanas. El tiempo medio entre la administración de la última dosis y la extracción de las muestras de suero fue de 7,54 años (desviación estándar [DE] = 1,47). Las muestras de suero fueron conservadas a -20 °C hasta su procesamiento.

La detección de IgG frente antígenos acelulares y antígenos celulares completos de *B. pertussis* se realizó mediante dos técnicas cuantitativas (Labsystems, Finlandia y Serion GmbH, Alemania). Asimismo, se determinó la presencia individualizada de IgG específica frente a 2 antígenos altamente purificados, hemaglutinina

filamentosa (HAF) y toxina Pertussis (TP), por un método semicuantitativo (Pertusscan, Eurodiagnostica, Suecia). Todas las determinaciones se realizaron siguiendo las instrucciones recomendadas por los fabricantes.

Los resultados obtenidos por las técnicas de Labsystems, Serion y Pertusscan se expresaron, respectivamente, como unidades ELISA, unidades por mililitro calibradas según el patrón de referencia de la Food and Drug Administration (FDA) y unidades de absorbancia. Los criterios de interpretación de resultados fueron negativo, dudoso y positivo para Labsystems y Serion. En el caso de Pertusscan, los resultados se clasificaron como ausencia o presencia de IgG-HAF y como ausencia o presencia de IgG-TP, y nivel de inmunidad según IgG-TP. Los resultados obtenidos por las dos técnicas cuantitativas (Labsystems y Serion) fueron comparados entre sí. Asimismo se procedió a la comparación de los resultados de cada una de estas técnicas respecto a la detección mediante Pertusscan de IgG frente a antígenos altamente purificados. Con el fin de eliminar en ambos tipos de comparación las coincidencias debidas al azar, se calcularon los índices kappa correspondientes (los valores del índice kappa comprendidos en los intervalos $\leq 0,2$; 0,21-0,4; 0,41-0,60; 0,61-0,80 y 0,81-1,00 se consideraron, respectivamente, como concordancias muy débiles, débiles, moderadas, buenas o muy buenas). Los porcentajes de seroprevalencia según los diferentes criterios y los porcentajes de concordancia entre los distintos tipos de resultados se calcularon con intervalos de confianza del 95% (IC del 95%). La asociación entre variables cualitativas se realizó mediante el test de la χ^2 . La correlación entre resultados cuantitativos y semicuantitativos se estableció mediante el coeficiente de correlación de Spearman (los valores del coeficiente de correlación comprendidos en los intervalos $\leq 0,3$; 0,31-0,5; 0,51-0,70; 0,71-0,90 y $\geq 0,91$ se consideraron, respectivamente, como correlaciones muy pobres, pobres, moderadas, buenas o muy buenas). Se consideraron significativos en todos los casos los valores de $p < 0,05$.

Resultados

En total 73 muestras estudiadas (42,4%) resultaron positivas mediante el ELISA de Labsystems, 55 (32%) fueron catalogadas como dudosas y 44 (25,6%) fueron negativas. La técnica de Serion aportó 91 resultados positivos (52,9%), 36 dudosos (20,9%) y 45 negativos (26,2%). Las diferencias en el número de resultados dudosos obtenidos por ambos procedimientos resultaron significativas ($p < 0,05$). La coincidencia en la clasificación de las muestras por estos métodos fue del 45,9% (17 resultados negativos, 13 dudosos y 49 positivos). En las tablas 1 y 2 se muestra la concordancia entre los resultados obtenidos por estas dos técnicas (índice kappa = 0,157; $p < 0,01$). Se observó una correlación significativa entre la distribución cuantitativa de resultados obtenidos por las dos técnicas (coeficiente de correlación de Spearman = 0,339; $p < 0,001$). Mediante el método Pertusscan se detectó la presencia de IgG-HAF en 140 muestras (81,4%) y de IgG-TP en 129 (75%). La concentración de IgG-TP alcanzó cotas compatibles con el

TABLA 1. Concordancia entre los resultados aportados por las dos técnicas cuantitativas (Serion y Labsystems). Porcentaje sobre 172 muestras

	Resultados negativos por Serion	Resultados dudosos por Serion	Resultados positivos por Serion
Resultados negativos por Labsystems	9,8 (6,0-15,5)	6,3 (3,3-11,4)	9,3 (5,5-14,9)
Resultados dudosos por Labsystems	9,3 (5,5-14,9)	7,5 (4,2-12,8)	15,1 (10,2-21,5)
Resultados positivos por Labsystems	6,9 (3,8-12,1)	6,9 (3,8-12,1)	28,4 (22,0-35,9)

Los valores expresan el porcentaje con el intervalo de confianza del 95% entre paréntesis.

TABLA 2. Resultados de cada tipo de determinación cuantitativa respecto a los obtenidos por la otra técnica

	Resultados Serion positivos	Resultados Serion dudosos	Resultados Serion negativos	Resultados Labsystems positivos	Resultados Labsystems dudosos	Resultados Labsystems negativos
Porcentaje respecto a resultados Serion positivos (n = 91)				53,8 (43,1-64,2)	28,6 (19,8-39,1)	17,6 (10,7-27,3)
Porcentaje respecto a resultados Serion dudosos (n = 36)				33,3 (19,1-51,0)	36,1 (21,3-53,8)	30,6 (16,9-48,3)
Porcentaje respecto a resultados Serion negativos (n = 45)				26,7 (15,1-42,2)	35,6 (22,3-51,3)	37,8 (24,2-53,5)
Porcentaje respecto a resultados Labsystems positivos (n = 73)	67,1 (55,0-77,4)	16,4 (9,1-27,3)	16,4 (9,1-27,3)			
Porcentaje respecto a resultados Labsystems dudosos (n = 55)	47,3 (33,9-61,1)	23,6 (13,6-37,3)	29,1 (18,0-43,1)			
Porcentaje respecto a resultados Labsystems negativos (n = 44)	36,4 (22,8-52,3)	25 (13,7-40,6)	38,6 (24,7-54,5)			

Los valores expresan el porcentaje con el intervalo de confianza del 95% entre paréntesis.

TABLA 3. Concordancia de las dos técnicas cuantitativas (Serion y Labsystems) respecto a la detección de IgG frente a antígenos específicos (Pertusscan) según varios criterios de seropositividad

Criterio de seropositividad	Presencia de IgG-HAF	Presencia de IgG-TP	Inmunidad basada en IgG-TP
Resultados positivos por Labsystems	0,119 p = 0,027	0,200 p = 0,001	0,109 p = 0,107
Resultados positivos o dudosos por Labsystems	0,329 p = 0,000	0,215 p = 0,005	0,063 p = 0,141
Resultados positivos por Serion	0,240 p = 0,000	0,281 p = 0,000	0,325 p = 0,000
Resultados positivos o dudosos por Serion	0,353 p = 0,000	0,298 p = 0,000	0,122 p = 0,005

Los valores expresan índice kappa y significación estadística. HAF: hemaglutinina filamentosas; TP: toxina Pertussis.

criterio de inmunidad recomendado por el fabricante en 37 casos (21,5%). La asociación cualitativa de las diferentes categorías de resultados entre las técnicas cuantitativas y la detección de anticuerpos frente a antígenos específicos resultó significativa, excepto para el caso de Labsystems y el criterio de inmunidad por Pertusscan. Las correlaciones entre los resultados aportados por las técnicas cuantitativas y la detección semicuantitativa de IgG frente a antígenos específicos fueron significativas en todos los casos ($p < 0,001$; coeficientes de correlación de Spearman de 0,450 y 0,291 entre Labsystems e IgG-HAF e IgG-TP, respectivamente, y 0,588 y 0,610 entre Serion y e IgG-HAF e IgG-TP).

En las muestras en las que se detectó presencia de IgG-HAF, el número de resultados positivos por Serion (60%) resultó significativamente más elevado respecto al de Labsystems (46,4%) ($p < 0,05$). Por el contrario, la proporción de resultados dudosos por Serion (21,4%) resultó en este tipo de muestras significativamente inferior a Labssystem (35%) ($p < 0,05$). En aquellas situaciones en las que se detectó la presencia de IgG-TP, los porcentajes de resultados positivos y dudosos por Serion y Labsystems también difirieron

significativamente (62,2 frente a 49,6% positivos; $p < 0,05$ y 19,4 frente a 30,2% dudosos; $p < 0,05$, respectivamente). Respecto al total de individuos clasificados como inmunes de acuerdo con el criterio IgG-TP Pertusscan, la proporción de niños con resultados positivos y dudosos según Serion y Labsystems fue del 91,9 frente al 54% ($p < 0,05$) y del 0 frente al 29,7% ($p < 0,01$). En la tabla 3 se exponen los grados de concordancia (índice kappa y significación) de ambas técnicas cuantitativas respecto a la detección de IgG frente a antígenos específicos según diferentes criterios de seropositividad (considerando los resultados dudosos como positivos o como negativos). En la tabla 4 se resumen las frecuencias de cada tipo de resultado aportado por las técnicas cuantitativas en relación con los obtenidos mediante la detección de IgG frente a antígenos específicos.

Discusión

La mayoría de los métodos serológicos comercialmente disponibles para la detección de anticuerpos frente a *B. pertussis* ha sido diseñada para su utilización con fines

TABLA 4. Resultados de cada tipo de determinación cuantitativa (Serion y Labsystems) respecto a los obtenidos para la detección de IgG frente a antígenos específicos (Pertusscan)

	Resultados Serion positivos	Resultados Serion dudosos	Resultados Serion negativos	Resultados Labsystems positivos	Resultados Labsystems dudosos	Resultados Labsystems negativos
Porcentaje respecto a presencia de IgG-HAF (n = 140)	60,0* (51,4-68,1)	21,4** (15,1-29,3)	18,6 (12,7-26,2)	46,4* (38,0-55,0)	35,0** (27,3-43,6)	18,6 (12,7-26,2)
Porcentaje respecto a presencia de IgG-TP positivos (n = 129)	62,2* (53,2-70,3)	19,4** (13,2-27,5)	18,6 (12,7-26,6)	49,6* (40,7-58,6)	30,2** (22,6-39,0)	20,2 (13,9-28,3)
Porcentaje respecto a inmunidad según IgG-TP (n = 37)	91,9* (77,0-97,9)	0** (0-11,7)	8,2 (2,1-23,0)	54,0* (37,7-70,1)	29,7** (16,4-47,2)	16,2 (6,8-32,7)

*En las muestras en las que se detectó presencia de IgG-HAF, IgG-TP o grado de inmunidad (IgG-TP) la proporción de resultados positivos por Serion resultó significativamente más elevada que la proporción de resultados positivos por Labsystems ($p < 0,01$ IgG-TP inmunidad) ($p < 0,05$ IgG-TP, IgG-HAF).

**En las muestras en las que se detectó presencia de IgG-HAF, IgG-TP o grado de inmunidad (IgG-TP) la proporción de resultados dudosos por Serion resultó significativamente más baja que la proporción de resultados dudosos por Labsystems ($p < 0,01$ IgG-TP inmunidad) ($p < 0,05$ IgG-TP, IgG-HAF). HAF: hemaglutinina filamentosa; TP: toxina Pertussis. Los valores expresan el porcentaje con el intervalo de confianza del 95% entre paréntesis.

diagnósticos, especialmente en niños no vacunados⁹. El uso de este tipo de técnicas para valorar el estado inmunitario en la población asintomática puede aportar resultados controvertidos. Los estudios de seroprevalencia frente a *B. pertussis* se han realizado empleando diferentes procedimientos que determinan la presencia en suero de anticuerpos aglutinantes^{10,11}, anticuerpos frente a lisados bacterianos de células completas¹² o anticuerpos frente a antígenos altamente purificados^{3,12,13}. En la actualidad parece preferible el uso de estos últimos, que incluyen varios factores de virulencia de *B. pertussis* como TP, HAF, una proteína de membrana externa de 69 kD denominada pertactina, las fimbrias tipo 2 y 3, la toxina adenilato-ciclasa, el lipooligosacárido y ciertas porinas y chaperoninas⁹. Para obtener una máxima sensibilidad se precisan al menos dos preparaciones antigénicas¹⁴. Entre todas ellas, las utilizadas con más frecuencia en seroepidemiología han sido la TP y la HAF^{3,12,13}. Algunas de las técnicas de ELISA adoptan puntos de corte fijos que clasifican los resultados como positivos o negativos^{15,16}, mientras que otras poseen, entre los umbrales de positividad y negatividad, una zona de incertidumbre en la que no es posible decantarse por un resultado concluyente. En este último caso, dependiendo del criterio de inmunogenicidad considerado (según se consideren los resultados dudosos como positivos o como negativos) el porcentaje de seroprevalencia frente a *B. pertussis* puede oscilar ampliamente. Por otra parte, a diferencia de lo que sucede en otras enfermedades vacunables, como el tétanos o la difteria, en las que existe un consenso sobre cuál es el título de anticuerpos que confiere protección, en el caso de la tos ferina no se conoce la concentración de anticuerpos circulantes relacionada claramente con el estado de inmunidad^{9,17}. Tampoco se ha definido un marcador serológico que pueda distinguir de manera absoluta entre la respuesta a la vacunación de la respuesta a la infección. Un inconveniente no resuelto por el momento radica en la dificultad para comparar los resultados aportados por diferentes ensayos (aun en caso de utilizar el mismo antígeno)⁹. Además, no se dispone de un estándar de referencia de la Organización Mundial de la Salud (OMS) para cuantificar el título de anticuerpos. En ciertos casos se ha utilizado el suero de referencia

del Laboratorio de Pertussis del Centro de Evaluación e Investigación Biológica de la FDA (Bethesda Md.)^{1,2,18}. La aplicación de 2 técnicas cuantitativas dirigidas a la detección de IgG frente a antígenos acelulares y preparaciones antigénicas de células completas puso de manifiesto en el presente trabajo una elevada tasa de resultados no concluyentes. La proporción de resultados dudosos resultó significativamente superior con la técnica de Labsystems (32 frente a 20,9% en Serion). La concordancia entre los resultados aportados por estas dos técnicas fue muy débil (sólo coincidieron en un 45,9% de los casos). La concordancia de cada una de ellas con los resultados obtenidos en la detección de anticuerpos frente a antígenos altamente purificados mediante una técnica semicuantitativa (Pertusscan) fue, en general, muy débil o débil, aunque resultó superior, tanto para IgG-HAF como para IgG-TP, en el caso del ELISA de Serion (índices kappa más elevados). Las correlaciones de los resultados aportados por Labsystems respecto al resto de determinaciones resultaron muy pobres o pobres. Las correlaciones de los resultados de Serion en relación con los de Pertusscan (tanto IgG-HAF como IgG-TP) fueron moderadas. En las muestras en las que se detectó mediante Pertusscan la presencia de IgG-HAF, IgG-TP o se cumplió el criterio de "inmunidad" (IgG-TP) recomendado para esta técnica, el número de resultados positivos por Serion resultó significativamente más elevado. De manera inversa, la proporción en estos casos de resultados dudosos por Labsystems fue superior de manera significativa. La detección de IgG frente a antígenos altamente purificados reveló su existencia en una gran parte de la población en estudio (81,4% en el caso de HAF y 75% en el caso de TP). No obstante, el punto de corte aconsejado por el fabricante para la interpretación de resultados en términos de "inmunidad" tan sólo alcanzó el 21,5%. En un reciente trabajo realizado en nuestro país, en el que se empleó Pertusscan como técnica serológica, se detectó en niños de 5 a 12 años la presencia de IgG-HAF y de IgG-TP en el 64,6 y el 30,1% de los sujetos, respectivamente¹⁹. El grado de "inmunidad" se situó en el 4,9%. Estas cifras resultan sensiblemente inferiores a los resultados obtenidos en el presente estudio. Las diferencias podrían explicarse de manera parcial por el

hecho de que los sujetos incluidos en nuestro trabajo fueron seleccionados expresamente por haber recibido tres dosis de DTPe. La vacunación universal con tres dosis de DTPe durante el primer año de vida se introdujo en España en 1965. Aunque el estado de protección frente a *B. pertussis* tras la inmunización parece declinar a lo largo del tiempo²⁰, teniendo presente que la cobertura vacunal para 3 dosis de DTP en nuestro medio es alta (86% en 1991, 90% en 1996 y 94% en 1997)^{21,22}, la asunción del umbral de "inmunidad" recomendado para esta técnica como válido aportaría un grado de protección preocupantemente bajo. Mediante el empleo de técnicas con puntos de corte fijo se han observado concentraciones de IgG frente a lisados bacterianos de células completas del 56-58% en adultos jóvenes españoles^{15,16}. Resulta interesante señalar que los niveles de seroprevalencia de IgG-TP del 75-81% descritos en niños y jóvenes no vacunados de otros lugares del mundo son marcadamente más altos^{4,5}. En nuestro país, aunque el grado de seroprevalencia de IgG-TP e IgG-HAF se incrementa significativamente en función de la edad, resultando superior en adultos, la mayor proporción de sujetos con títulos altos frente a TP (criterio de "inmunidad" según Pertusscan) se encuentra en grupos jóvenes (5-12 y 13-19 años)¹⁹. La presencia de IgG-TP en una gran parte de la población adulta española (no vacunada durante la infancia) sugiere la existencia de infecciones clínicas o subclínicas a lo largo de la vida¹⁹. En este trabajo, la seroprevalencia de IgG-HAF resultó superior a la detectada para IgG-TP. Otros estudios también revelan concentraciones superiores de IgG-HAF en la población general¹⁹. Este tipo de anticuerpos se puede generar en respuesta a infecciones causadas por *B. parapertussis*^{9,18} y, además, persiste durante más tiempo, tanto después de la infección natural por *B. pertussis*²³ como tras la vacunación²⁴. Por estos motivos, la presencia de títulos detectables de IgG-HAF en ausencia de IgG-TP puede indicar inmunogenicidad posvacunal o infecciones antiguas por *B. pertussis* o *B. parapertussis*.

Según nuestros datos, la alta tasa de resultados dudosos obtenidos mediante el ELISA de Labsystems y su peor concordancia y correlación con las otras técnicas desaconsejan su empleo en estudios de inmunogenicidad. Los resultados aportados por las otras dos técnicas presentan una interpretación problemática en términos de seroprevalencia (los índices de concordancia no resultaron aceptablemente altos en ningún caso). Dados el declive en la inmunidad posvacunal a lo largo del tiempo, la edad media de los pacientes (8,13 años) y el tiempo transcurrido desde la administración de la última dosis (7,54 años), no se puede descartar que las técnicas estudiadas no hayan demostrado la presencia de anticuerpos a causa del descenso, en algunos casos, hasta concentraciones indetectables. Desde un punto de vista epidemiológico, la serología representa la única alternativa para obtener información referente a la exposición previa o renovada frente a *B. pertussis* en una determinada población. Además, y pese a que no existe un marcador serológico definitivo que identifique el estado de protección, es la única forma de medir la inmunogenicidad posvacunal. Sin embargo, la falta de un sistema de cuantificación universal y de un criterio único de seropositividad limita en gran medida la posibilidad de comparar los resultados

aportados por diferentes estudios de prevalencia⁶. Por otra parte, en esta clase de estudios es preciso valorar qué tipo de respuesta serológica se determina. Puesto que los sistemas serológicos comerciales se han diseñado específicamente para el diagnóstico de la infección natural, la ausencia de anticuerpos dirigidos frente a determinados antígenos (TP, HAF) no confirma de manera inequívoca una mala respuesta a la vacuna. Es posible que un test serológico basado en el uso de determinados antígenos no sea el ideal para determinar la respuesta frente a preparados vacunales concretos. Esto quizá no invalide la utilidad del test para otros fines (diagnósticos), pero puede limitar su empleo en estudios de inmunogenicidad para esa vacuna. Dadas la diferente composición antigénica de las vacunas y las distintas técnicas de diagnóstico, la falta de detección serológica de anticuerpos mediante un determinado test no implica definitivamente ausencia de protección. La respuesta serológica tras la inmunización activa depende del tipo de vacuna empleada. Mientras que después de la infección la producción de IgG va dirigida fundamentalmente frente a TP y HAF, cuando se administra la vacuna clásica de células completas la actividad se dirige sobre todo hacia a fimbrias y proteínas de membrana externa⁹. Con las nuevas vacunas acelulares, la respuesta depende de los antígenos incluidos en la vacuna^{1,2}. En niños vacunados que padecen con posterioridad una infección natural, la respuesta serológica puede ser diferente a la observada en individuos no vacunados^{7,18}. Por todos estos motivos, los datos obtenidos a partir de éste y otros trabajos puntuales de seroprevalencia deben interpretarse con mucha cautela¹. Dependiendo del criterio de seropositividad aplicado, los resultados derivados de diferentes investigaciones que emplean diversas técnicas serológicas pueden conducir a conclusiones contrapuestas. No obstante, estudios seriados en el tiempo en los que se emplee una misma metodología permitirían evidenciar las respuestas derivadas de los cambios en las políticas de vacunación frente a *B. pertussis*. Es de esperar que la aparición de nuevos métodos serológicos estandarizados permita clarificar la situación de inmunogenicidad en diferentes grupos de población. La aplicación cada vez más generalizada de la vacuna acelular frente a *B. pertussis* (en lugar de la vacuna de células completas) quizá facilite en el futuro la interpretación de los resultados serológicos mediante la detección de anticuerpos frente a componentes específicos del preparado vacunal.

Bibliografía

- Greco D, Salmaso S, Mastrantonio P, Giuliano M, Tozzi AE, Anemona A, et al, and The Progetto Pertosse Working Group. A controlled trial of two acellular vaccines and one whole-cell vaccine against pertussis. *N Engl J Med* 1996;334:341-7.
- Gustafsson L, Hallander HO, Olin P, Reinzenstein E, Storsaeter J. A controlled trial of two-component acellular, a five-component acellular, and a whole-cell pertussis vaccine. *N Engl J Med* 1996;334:349-55.
- Cattaneo LA, Reed GW, Haase DH, Wills MJ, Edwards KM. The seroepidemiology of *Bordetella pertussis* infections: a study of persons ages 1-65 years. *J Infect Dis* 1996;173:1256-9.
- Giammanco A, Chiarini A, Stroffolini T, De Mattia D, Chiaramonte M, Moschen ME, et al. Seroepidemiology of pertussis in Italy. *Rev Infect Dis* 1991;13:1216-20.
- Stroffolini T, Giammanco A, Chiarini A, Taormina S, Sarzana A, Mazza G, Maggio M, Chiaramonte M, Ngatchu T, Lantum D. Seroepidemiology of

- pertussis infection in an urban childhood population in Cameroon. Eur J Epidemiol 1991;7:64-7.
6. Reizenstein E, Hallander HO, Blackwelder WC, Kühn I, Ljungman M, Möllby R. Comparison of five calculation modes for antibody ELISA procedures using pertussis serology as a model. J Immunol Methods 1995;183: 279-90.
7. Mink CM, O'Brien CH, Wassilak S, Deforest A, Meade B. Isotype and antigen specificity of pertussis agglutinins following whole-cell pertussis vaccination and infection with *Bordetella pertussis*. Infect Immun 1994;62: 1118-20.
8. Dirección General de Prevención y Promoción de la Salud. Consejería de Salud, Comunidad de Madrid. II Encuesta de Serovigilancia de la Comunidad de Madrid. Documentos Técnicos de Salud Pública 1995;29.
9. Müller FMC, Hoppe JE, Wirsing von König CH. Laboratory diagnosis of pertussis: state of the art in 1997. J Clin Microbiol 1997;35:2435-43.
10. Sapián-López LA, Valdespino JL, Salvatierra B, Tapia-Conyer R, Gutiérrez G, Macedo J, et al. Seroepidemiology of whooping cough in México. Salud Publica Mex 1992;34:177-85.
11. Takayama N, Watanabe H, Fujita I, Minamitani M. Seroepidemiology of pertussis in the Japanese population. Med Microbiol Immunol 1989;178:1-8.
12. Arav-Boger R, Ashkenazi S, Gdalevich M, Cohen D, Danon YL. Seroprevalence of pertussis antibodies among adolescents in Israel. Isr Med Assoc J 2000;2:174-7.
13. Chiu TF, Lee CY, Lee PI, Lu CY, Lin HC, Huang LM. Pertussis seroepidemiology in Taipei. J Formos Med Assoc 2000;99:224-8.
14. He Q, Mertsola J, Himanen JP, Ruuskanen O, Viljanen MK. Evaluation of pooled and individual components of *Bordetella pertussis* as antigens in an enzyme immunoassay for diagnosis of pertussis. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1993;12:690-5.
15. Ortega P, Gil A, Astasio P, Domínguez V, de Juanes JR, Arrazola P, et al. Prevalencia de anticuerpos frente a tétanos, difteria y *Bordetella pertussis* en profesionales sanitarios. Enferm Infecc Microbiol Clin 1999;17:135-7.
16. Astasio P, Gil A, Ortega P, Martínez D, Domínguez V, González A. Seroprevalencia de anticuerpos frente a tétanos, difteria y *Bordetella pertussis* en una población de adultos jóvenes. Vacunas 2000;1:7-9.
17. Manclark CR, Meade BD, Burstyn DG. Serological response to *Bordetella pertussis*. En: Rose NR, Friedman H, Fahey JL, editores. Manual of clinical laboratory immunology (3rd ed.). Washington, DC: American Society for Microbiology, 1986; p. 388-94.
18. Wirsing von König CH, Schmitt HJ. Epidemiologic aspects and diagnostic criteria for protective efficacy field trial of a pertussis vaccine. J Infect Dis 1996;174(3Suppl):281S-6S.
19. García-Corbeira P, Dal Re R, Aguilar L, García de Lomas J. Seroepidemiology of *Bordetella pertussis* infections in the Spanish population: a cross-sectional study. Vaccine 2000;18:2173-6.
20. Jenkinson D. Duration of effectiveness of pertussis vaccine: evidence from a 10 year community study. BMJ 1988;296:612-4.
21. Centro Nacional de Epidemiología. Instituto de Salud Carlos III. Ministerio de Sanidad y Consumo. Cobertura vacunal 1996. Bol Epidemiol Sem 1997; 5:37-8.
22. Centro Nacional de Epidemiología. Instituto de Salud Carlos III. Ministerio de Sanidad y Consumo. Cobertura vacunal 1997. Bol Epidemiol Sem 1998; 6:197-208.
23. Isacson J, Trollfors B, Hedvall G, Taranger J, Zackrisson G. Response and decline of serum IgG antibodies to pertussis toxin, filamentous hemagglutinin and pertactin in children with pertussis. Scand J Infect Dis 1995;27:273-7.
24. Grimpel E, Begué P, Anjak I, Njamkepo E, Francois P, Guiso N. Long-term human serum antibody responses after immunization with whole-cell pertussis vaccine in France. Clin Diag Lab Immunol 1996;3:93-7.