

Infección por *Bordetella* spp.: 19 años de diagnóstico por cultivo

María Cruz Villuendas, Ana Isabel López, Beatriz Moles y María José Revillo

Servicio de Microbiología. Hospital Universitario Miguel Servet. Zaragoza. España.

INTRODUCCIÓN. El objetivo de nuestro trabajo consiste en revisar el resultado de los cultivos microbiológicos de *Bordetella* spp. durante un período de 19 años, desde enero de 1984 hasta diciembre de 2002.

MÉTODOS. Toma pernasal y siembra inmediata en placas de agar-carbón suplementadas con 10% de sangre de carnero y 40 mg/l de cefalexina. Identificación mediante pruebas bioquímicas y aglutinación con antisueros específicos. Recopilación de los resultados microbiológicos y aspectos epidemiológicos (edad, sexo, paciente ingresado o ambulante, periodo estacional y distribución anual).

RESULTADOS. Se cultivaron 2.064 muestras con 269 resultados positivos (13,03%): 244, *B. pertussis*; 23, *B. parapertussis*, y 2, *B. bronchiseptica*. El 36,9% de los casos se dio en menores de 7 meses, el 38,9% en niños de 7 meses a 6 años y el 24,3% en mayores de 6 años.

CONCLUSIONES. El constante número de casos a lo largo del período de estudio demuestra la circulación continua de *Bordetella* spp. en nuestra área de salud. Pese al limitado número de resultados positivos en adolescentes y adultos sería conveniente considerar la investigación de tos ferina en estos grupos de edad.

El cultivo sigue siendo el método diagnóstico de referencia y es de especial utilidad en la confirmación de brotes.

Palabras clave: *Bordetella* spp. Tos ferina. Cultivo microbiológico. Vacunación.

Bordetella spp. infection: A 19-year experience in diagnosis by culture

INTRODUCTION. This retrospective study reviews the findings from cultures positive for *Bordetella* spp. obtained over a 19-year period, from January 1984 to December 2002.

METHODS. Nasopharyngeal swabs were directly plated onto charcoal agar supplemented with 10% sheep blood and cephalexin (40 mg/L). Identification of suspected colonies was done by biochemical testing and slide agglutination

with specific antisera for *B. pertussis* and *B. parapertussis*.

The study includes microbiological findings and epidemiological data (age, sex, yearly distribution, seasonal period and number of inpatients and outpatients).

RESULTS. The 2064 nasopharyngeal specimens yielded 269 positive cultures: *B. pertussis* was isolated from 244 patients, *B. parapertussis* from 23 and *B. bronchiseptica* from two. Among the positive patients, 36.9% were younger than 7 months, 38.8% were 7 months to 6 years old and 24.3% were older than 6 years of age.

CONCLUSIONS. The constant number of cases along the 19 years of the study shows that *Bordetella* spp. continues to circulate in our area. A high percentage of positive cultures were obtained from the group of children theoretically immunized by vaccination. Despite the low number of cases in young people and adults, adult pertussis seems to be a greater public health threat than was previously suspected and probably deserves to be further investigated.

The gold standard for the diagnosis of *Bordetella* spp. infection is still recovery of the organism by culture, and it is especially useful for confirming outbreaks.

Key words: *Bordetella* spp. Pertussis. Microbiologic culture. Vaccination.

Introducción

La tos ferina es una enfermedad infecciosa, inmunoprevenible, de distribución universal, causada por *Bordetella pertussis*. *B. parapertussis* puede originar un cuadro clínico similar, no es prevenible por la vacunación y debe considerarse en el diagnóstico diferencial del síndrome pertusoide. Los aislados de *B. bronchiseptica*, endémica en distintas especies animales, son raros en seres humanos y afectan de forma especial a pacientes inmunodeprimidos.

En España, a pesar de la amplia cobertura vacunal con bacterias inactivadas, la tos ferina sigue siendo una infección endémica con ciclos epidémicos cada 2 o 5 años que ocasiona un número considerable de casos¹.

El diagnóstico de laboratorio es necesario para el tratamiento efectivo de los brotes y para conocer la situación real de la enfermedad. Hasta el presente, el aislado de la bacteria mediante cultivo es el procedimiento de referencia².

El objetivo de nuestro trabajo ha sido revisar el resultado de los cultivos microbiológicos de *Bordetella* spp. realizados en nuestro laboratorio durante un período de 19 años, desde enero de 1984 hasta diciembre de 2002.

Correspondencia: Dra. M.^ªC. Villuendas.
Servicio de Microbiología. Hospital Universitario Miguel Servet.
P.^º Isabel La Católica, 1-3. 50009 Zaragoza. España.
Correo electrónico: mcvilluendas@salud.aragob.es

Manuscrito recibido el 27-7-2003; aceptado el 8-9-2003.

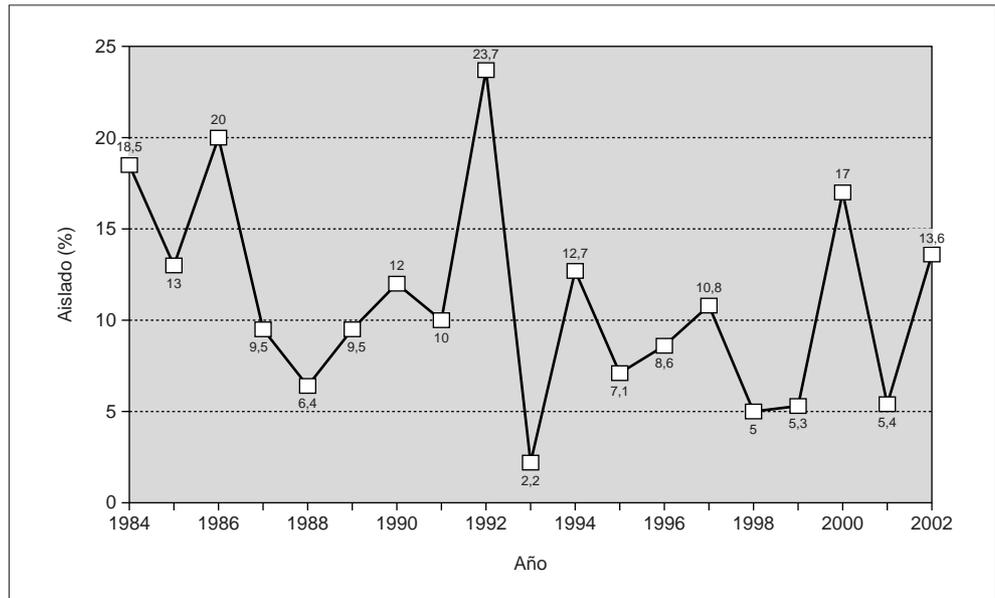


Figura 1. Porcentaje de aislado anual de *Bordetella* spp.

Métodos

Técnica de cultivo

Durante todo el período de estudio la técnica de toma de muestras y cultivo ha sido la misma. El método se introdujo en 1983, sustituyendo a la "placa de tos" o al frotis faríngeo sembrados en medio de Bordet-Gengou, con los que se obtenía muy baja rentabilidad.

La muestra se obtiene por toma nasofaríngea de cada fosa nasal, con hisopo pernasal (Medical Wire and Equipment, Co.Ltd. Cordham, Wilts, Inglaterra). Esta toma la realiza personal de enfermería del laboratorio tanto a pacientes ingresados como ambulantes que son remitidos desde su centro de atención primaria. La siembra es inmediata en medio agar-carbón con 40 mg/l de cefalexina (Charcoal Agar y Bordetella Selective Supplement, Oxoid) y 10% de sangre de carnero recientemente preparadas. Las placas se incuban en aerobiosis a 37 °C en ambiente húmedo, durante una semana, con observación diaria para detectar la presencia de crecimiento. Las colonias sospechosas se identifican mediante tinción de Gram, aglutinación con antiseros específicos frente a *B. pertussis* y *B. parapertussis* (Difco Laboratories, Detroit) y pruebas bioquímicas (oxidasa, catalasa, producción de pigmento, ureasa).

Datos analizados

Se han recopilado los resultados microbiológicos, así como los siguientes aspectos epidemiológicos: edad, sexo, paciente ambulante o ingresado, distribución anual de los casos y período estacional.

Los casos positivos se han clasificado en tres grupos de edad atendiendo al estado vacunal de los pacientes: < 7 meses (niños con 0, 1, 2 o 3 dosis de vacuna), de 7 meses a 6 años (niños con 4 dosis de vacuna) y mayores de 6 años.

El calendario vacunal de Aragón consta en la actualidad de cuatro dosis de vacuna a los 2, 4, 6 y 18 meses. La dosis de los 18 meses se introdujo en 1995.

Resultados

El Hospital Universitario Miguel Servet de Zaragoza es el hospital de referencia de las áreas II y V de Aragón, atiende a una población de 530.510 habitantes y cuenta con 1.325 camas. En el período de estudio se procesaron 2.064 muestras procedentes de igual número de pacientes, ambulantes e ingresados, con edades comprendidas entre 3 días y 69 años.

Resultaron positivos 269 cultivos (13,03%): 244 correspondieron a *B. pertussis*, 23 a *B. parapertussis* y en dos ocasiones se aisló *B. bronchiseptica*. El 42% de los pacientes eran niños y el 58% niñas.

La figura 1 muestra los porcentajes de aislado sobre el número de muestras procesadas cada año. Estos porcentajes fueron superiores a la media del período estudiado (13,03%) en los años 1984, 1986, 1992, 2000 y 2002. En lo que se refiere a distribución estacional, la mayor proporción de aislados se concentra en primavera-verano, con un 60,1% de los mismos en el cuatrimestre mayo-agosto (fig. 2).

La distribución de pacientes afectados en función de la edad se muestra en la figura 3, en la que puede observarse un número similar de aislados en niños teóricamente protegidos (edades comprendidas entre 7 meses y 6 años) y en niños no vacunados o parcialmente vacunados (< 7 meses). No figuran 14 casos procedentes de ambulatorio en los que no fue posible conocer la edad.

Con los datos disponibles a partir de 1990, se compara la distribución de los casos por edades entre pacientes ambulantes e ingresados (fig. 4). Requirieron ingreso hospitalario 60 pacientes, siendo 48 de ellos menores de un año. Según los grupos de edad descritos, ingresaron el 77,6% de los niños menores de 7 meses, el 21,1% de los niños entre 7 meses y 6 años, y el 9% de los mayores de 6 años.

Durante el período de estudio se diagnosticaron 16 casos de tos ferina neonatal, 14 de los cuales requirieron ingreso hospitalario.

En cuanto a tos ferina del adulto (pacientes mayores de 14 años) se obtuvieron 7 diagnósticos con 3 casos documentados de contagio adulto-niño por *B. pertussis*: una mujer de 31 años y su sobrina de 3 meses, una abuela de 69 años y su nieta de 2 años y un padre de 44 años y su hija de 9 años.

Discusión

A pesar de la vacunación universal en la infancia, la tos ferina sigue causando un número considerable de casos, y

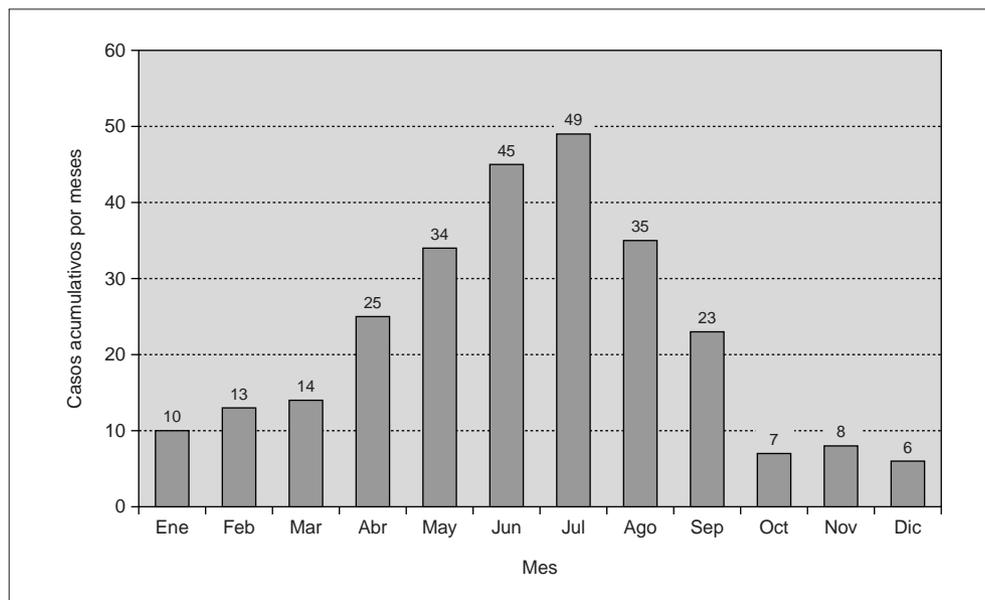


Figura 2. Distribución estacional de los casos (n = 269).

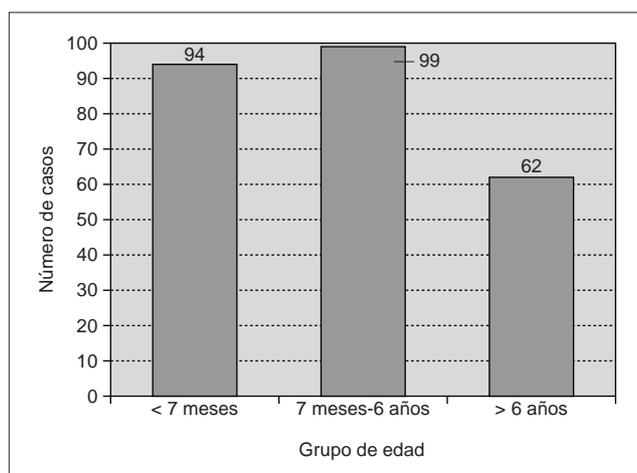


Figura 3. Distribución de los casos por grupos de edad menores de 7 meses: niños con 0, 1, 2 o 3 dosis de vacuna; 7 meses a 6 años: niños con 3 o 4 dosis de vacuna; > 6 años: niños vacunados (n = 255).

está lejos de ser erradicada. En España, según datos del Centro Nacional de Epidemiología, la incidencia de esta infección presenta una clara tendencia decreciente desde 1986, con picos epidémicos en 1985-1986, 1989 y 1992. A partir de este último año desaparece el comportamiento cíclico y continúa la tendencia descendente, en paralelo con las altas tasas de cobertura vacunal (95%) alcanzadas en la población^{1,3}. Esta evolución, observada a nivel nacional, no se cumple en nuestra serie. El método para diagnóstico de *Bordetella* spp. en nuestro laboratorio no ha sufrido modificaciones desde 1984, y los casos diagnosticados de tos ferina en nuestra área de salud se mantienen constantes. Esto demuestra la circulación continua de *Bordetella* spp. durante los 19 años de estudio.

La reemergencia de los casos de tos ferina en países con elevada cobertura de vacunación, así como la morbimortalidad que produce, hacen necesario un diagnóstico ágil y efectivo que permita un tratamiento y

profilaxis precoces y favorezca el control de las situaciones de brote.

El cultivo sigue siendo el método diagnóstico microbiológico de referencia⁴, pero ha sido abandonado en muchos laboratorios españoles debido a una serie de inconvenientes¹. *Bordetella* spp. es una bacteria extremadamente lábil, de crecimiento lento, que necesita condiciones de transporte, cultivo e incubación específicas⁵. La toma de muestra por personal del laboratorio, tanto en pacientes ingresados como ambulantes, y la siembra inmediata en placas con medio agar-carbón recientemente preparadas, resulta para nosotros un método sencillo que soluciona estos problemas^{6,7}.

Los porcentajes de positividad del cultivo varían enormemente en función de varios factores: técnica de obtención de la muestra, momento de la toma, tratamiento antibiótico previo, uso de medios de transporte y tiempo de incubación². En nuestro caso es del 13,03%, y coincide con estudios similares⁸, en los que no se utiliza ningún criterio de exclusión. Algunos estudios en la literatura médica^{9,10} demuestran la mayor rentabilidad del aspirado nasofaríngeo, por lo que es probable que con esta muestra hubiéramos obtenido mayor número de resultados positivos. Desde enero de 2003 hemos sustituido la toma pernasal por la de aspirado nasofaríngeo en pacientes ingresados, y hemos continuado con la siembra inmediata posterior.

Otros métodos diagnósticos son: la inmunofluorescencia directa, cómoda y sencilla de realizar, pero con baja sensibilidad^{2,9,10}, la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) que permite un diagnóstico rápido y mejora la sensibilidad del cultivo, pero que aún no se ha estandarizado^{2,11}, y la serología, que también presenta problemas de estandarización e interpretación de resultados^{2,9,12}.

La tos ferina era, antes de la introducción de las vacunas, una de las enfermedades más comunes de la infancia con importante mortalidad. En las series españolas publicadas^{8,13,14}, el mayor número de casos (60-90%) se da en niños menores de 6 meses, no vacunados o parcialmente vacunados. En nuestra serie, que también recoge datos de

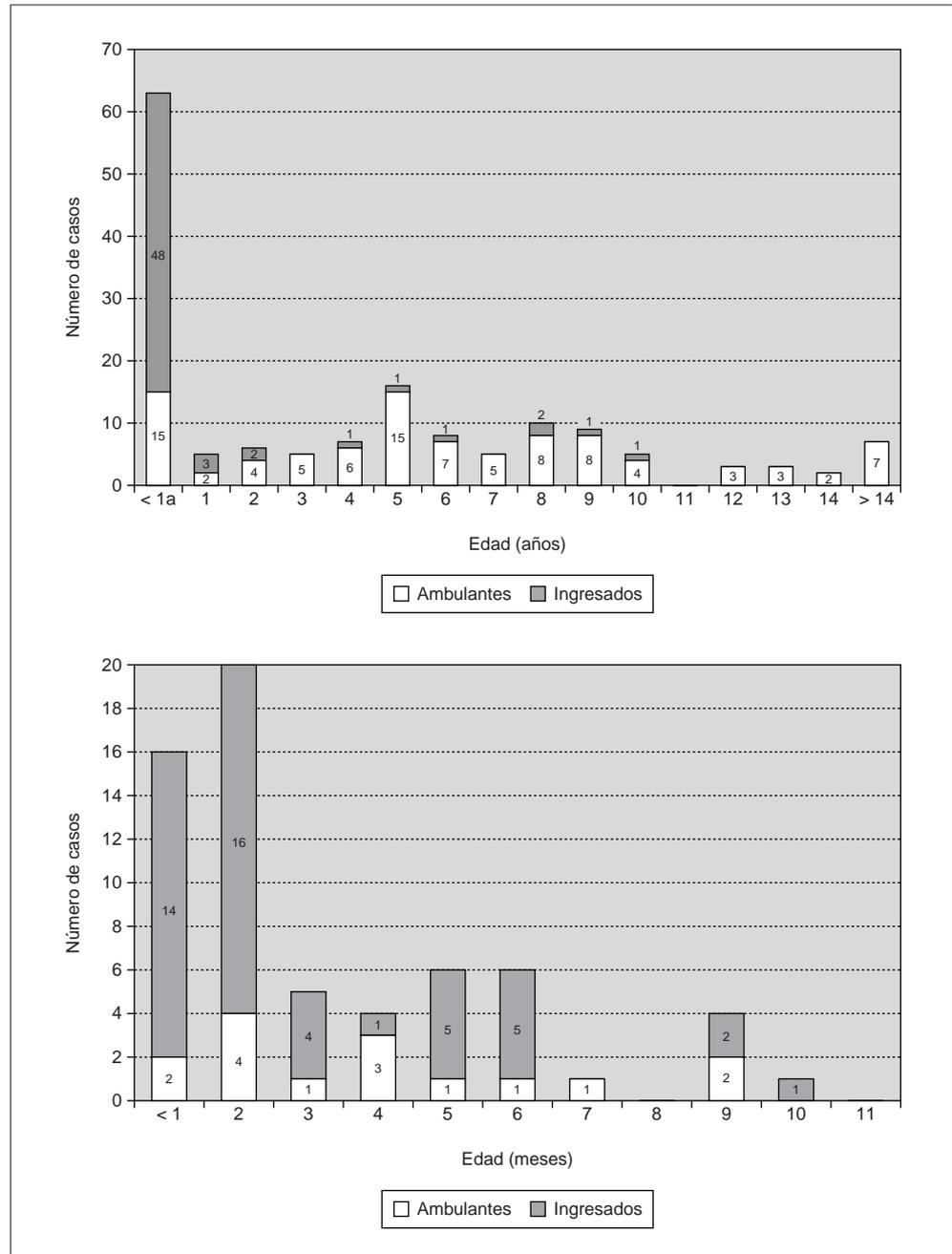


Figura 4. Distribución de los casos por edades y en función de pacientes ambulantes o ingresados (1990-2002).

pacientes procedentes de atención primaria, se observa un número considerable de aislados en niños que teóricamente deberían estar protegidos por la vacunación.

El grupo de menores de 6 meses es el que requiere con más frecuencia ingreso hospitalario, debido al mayor número de complicaciones, que agravan particularmente la evolución en recién nacidos. La tos ferina neonatal es una infección grave con presentación a menudo atípica que dificulta su diagnóstico¹⁵. Aunque los recién nacidos pueden adquirir los anticuerpos maternos transferidos pasivamente a través de la placenta^{1,15}, el número de adultos y por lo tanto de embarazadas con inmunidad protectora frente a *B. pertussis* es escasa en la actualidad¹⁶.

En cuanto a la tos ferina en el adulto, se reciben pocas peticiones de cultivo, ya que existe baja sospecha clínica. Sin

embargo, la incidencia de esta infección en el adolescente y adulto ha aumentado debido a la pérdida de la inmunidad natural y vacunal¹⁶. Este grupo de población se convierte en potencial enfermo y transmisor de la enfermedad a lactantes y recién nacidos desprotegidos. En nuestra casuística, los pocos casos diagnosticados en adultos fueron en personas conocidas y por sugerencia del laboratorio.

En la Comunidad Autónoma de Aragón, el calendario vacunal vigente consta de cuatro dosis a los 2, 4, 6 y 18 meses, y no se administra la quinta dosis a los 4-6 años recomendada por el Comité Asesor de Vacunas de la Asociación Española de Pediatría¹⁷.

La vacunación universal en el adolescente y adulto necesita de estudios coste-beneficio y de repercusión sobre la infección, pero debería considerarse en educadores y

cuidadores de guarderías, escuelas infantiles y personal sanitario¹.

Para concluir, destacar la circulación continua de *Bordetella* spp. en nuestra área de salud, como demuestra el constante número de casos a lo largo del período de estudio. Pese al limitado número de resultados positivos obtenidos en nuestra serie en pacientes mayores de 14 años, el aumento de incidencia de tos ferina en otros países en adolescentes y adultos justifica considerar en nuestro medio la investigación de posibles casos en estos grupos de edad.

Queremos, con nuestra experiencia, fomentar el cultivo de *Bordetella* spp. como método diagnóstico, ya que sigue manteniendo su vigencia como método de referencia y confirmación.

Bibliografía

1. Grupo de trabajo sobre tos ferina. Tos ferina en España: aproximación a la incidencia de la enfermedad y a los efectos de la vacunación en adolescentes y adultos. Disponible en: <http://193.146.50.130/vacunab/vacunab.htm>
2. Sanz JC, Ory F y Grupo de Trabajo sobre Tos Ferina. Diagnóstico de laboratorio de tos ferina. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2002;20:212-8.
3. Pizarro A, Pachón I. Situación actual de tétanos y tos ferina. *Bol Epidemiol Semanal* 1998;6:31:300-4.
4. 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.
5. Kerr JR, Matthews RC. *Bordetella pertussis* infection: pathogenesis, diagnosis, management, and the role of protective immunity. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2000;19:77-88.
6. Moles B, Gallegos MC, García-Moya JB. Aislamiento de *Bordetella*. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 1985;3:115-7.
7. Moles B, Esteban A, Villuendas MC, López-Gómez C, Carasúsán MJ, Fortuño B, et al. ¿Fracaso de la vacuna contra la tos ferina? Estudio de seis años (1984-1989) en Zaragoza. *Rev Esp Microbiol Clin* 1990;8:424-7.
8. Ferrer A, Calicó I, Manresa JM, Andreu A, Moraga F, Valle I. Microorganismos aislados en casos de síndrome pertusoide. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2000;18:433-8.
9. Hallander H. Microbiological and serological diagnosis of Pertussis. *Clin Infect Dis* 1999;28(Suppl 2): S99-106.
10. Hallander H, Reizenstein E, Renemar B, Rasmuson G, Mardin L, Olin P. Comparison of nasopharyngeal aspirates with swabs for culture of *Bordetella pertussis*. *J Clin Microbiol* 1993;31:50-2.
11. Tilley P, Kanchana MV, Knight I, Blondeau J, Antonishyn N, Deneer H. Detection of *Bordetella pertussis* in a clinical laboratory by culture, polymerase chain reaction, and direct fluorescent antibody staining; accuracy, and cost. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2000;37:17-23.
12. Sanz JC, Fernández M, Sagüés MJ, Ramírez R, Castañeda R, Barranco D, de Ory F. Comparación de tres técnicas E.L.I.S.A. para evaluar la seroprevalencia de IgG frente a *Bordetella pertussis* en niños vacunados con tres dosis de DTPe. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2002;20:10-15.
13. Francis M, Borque C, Del Castillo F, Díez J, García J. Tos ferina: estudio retrospectivo de los casos diagnosticados en un período de 15 años. *An Esp Pediatr* 1998;49:280-3.
14. Gómez V, Gresa M, Feliz J, García P, Carboné A, De Juan F. Tos ferina. Revisión de 245 casos en edad pediátrica. *Acta Pediatr Esp* 1991;49:678-82.
15. Hoppe JE. Neonatal pertussis. *Pediatr Infect Dis J* 2000;19:244-7.
16. Campins M, Moraga FA. La tos ferina en el adolescente y el adulto. Epidemiología e implicaciones para la vacunación. *Med Clin (Barc)* 2000;114: 661-4.
17. Comité Asesor de Vacunas de la AEP. Calendario vacunal de la AEP 1999. *An Esp Pediatr* 1999;51:120-6.