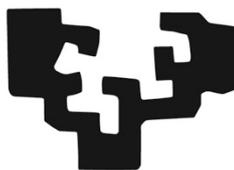


eman ta zabal zazu



Universidad  
del País Vasco

Euskal Herriko  
Unibertsitatea

**Facultad de Medicina y Enfermería**  
**Departamento de Medicina Preventiva y Salud Pública**

# **TOSFERINA EN GIPUZKOA EN LA ÉPOCA POSTVACUNAL (1998-2017)**

Tesis Doctoral | Aitziber Luengo Echeveste | Junio 2020

©2020 Aitziber Luengo Echeveste

## **Agradecimientos**

Me gustaría expresar mi agradecimiento a todas las personas que han hecho posible este proyecto.

En primer lugar, a los directores de esta Tesis Doctoral; al Dr. Carlos Gustavo Cilla Eguiluz por su dedicación, accesibilidad, comprensión, disponibilidad y, sobre todo, por haberme transmitido y enseñado los valores de cómo realizar un trabajo científico de calidad y preciso. Gracias, sobre todo, a tu espíritu crítico. Al profesor Luis Carlos Abecia Inchaurregui por todos sus consejos, tu implicación y tu confianza en este proyecto. Gracias a vosotros he aprendido valores necesarios para realizar investigación de calidad, que me acompañarán el resto de mi carrera profesional y que me servirán de base para futuros proyectos.

Gracias a todas las personas que forman parte del Servicio de Microbiología que han participado de una manera directa o indirecta en este trabajo, ya sea con el procesamiento de muestras, comunicación de resultados...

Gracias a todos los compañeros del Servicio de Pediatría, tanto a nivel hospitalario (Urgencias, Neonatología, UCIP, Lactantes, Escolares, Oncología Infantil...) como a nivel de los distintos Centros de Salud que forman parte de la Red Sanitaria de Guipúzcoa. Gracias a todos ellos por haber contribuido a que este trabajo haya sido posible.

A mi familia, a mis padres y a mi hermana, por transmitirme los valores de esfuerzo, trabajo y tesón, por enseñarme a no rendirme nunca y a que siempre se puede hacer mejor. Gracias a su apoyo, su cariño y todos los ánimos que he recibido durante todos estos años, gracias por todas esas palabras de apoyo cuando más hacían falta. Gracias a mis abuelos, siempre pendientes de mí. A Josefina y Paulino, por haber estado siempre ahí y dispuestos a echar una mano en lo que hiciera falta.

Por último, gracias Eneko, gracias por ser mi apoyo incondicional y por todo lo que me has ayudado estos años en los momentos buenos y malos, porque no hay mejor compañero de viaje. Gracias.



## ÍNDICES



# ÍNDICE GENERAL

<b>1 INTRODUCCIÓN</b>	<b>27</b>
<b>1.1 INTRODUCCIÓN</b>	<b>28</b>
<b>1.2 EVOLUCIÓN Y SITUACIÓN EPIDEMIOLÓGICA DE LA TOSFERINA</b>	<b>29</b>
1.2.1 Primeras descripciones de la enfermedad y de la bacteria causal	29
1.2.2 Breve historia de la vacunación frente a la tosferina	30
1.2.3 Evolución y situación actual de la enfermedad a nivel mundial	32
1.2.3.1 Cobertura vacunal, vigilancia e incidencia de tosferina a nivel mundial	32
1.2.3.1.1 EEUU.	34
1.2.3.1.2 Japón	35
1.2.3.1.3 Europa	36
1.2.3.1.3.1 Francia	39
1.2.3.1.3.2 Alemania	39
1.2.3.1.3.3 Reino Unido	40
1.2.4 Evolución y situación actual de la tosferina en España	40
1.2.4.1 Implantación de la vacunación en España	41
1.2.4.2 Vigilancia e incidencia de tosferina	42
1.2.4.2.1 Notificación de casos	42
1.2.4.2.2 Incidencia global	42
1.2.4.2.3 Incidencia por grupos de edad	44
1.2.4.2.4 Incidencia de tosferina en menores de un año	44
1.2.4.2.5 Mortalidad	45
<b>1.3 MICROBIOLOGÍA</b>	<b>46</b>
1.3.1 Taxonomía	46
1.3.2 Género <i>Bordetella</i>	48
1.3.2.1 <i>Bordetella parapertussis</i>	48
1.3.2.2 <i>Bordetella bronchiseptica</i>	48
1.3.2.3 <i>Bordetella holmesii</i>	48
1.3.2.4 Especies de <i>Bordetella</i> patógenas inusuales	49
1.3.2.5 Especies recientemente descritas	50
1.3.2.6 <i>BORDETELLA PERTUSSIS</i>	50
1.3.2.6.1 Características	50
1.3.2.6.2 Viabilidad en el medio ambiente	51
1.3.2.6.3 Factores de virulencia	51
1.3.2.6.4 Moléculas de adhesión	54
1.3.2.6.5 Toxinas	57

1.3.2.6.6 Formación de biofilm	60
<b>1.4 ETIOPATOGENIA</b>	<b>62</b>
1.4.1 Exposición/inoculación del germen	64
1.4.2 Fijación/tropismo ciliar	64
1.4.3 Evasión/modulación de las defensas del huésped	65
1.4.3.1 Inmunidad innata	66
1.4.3.2 Inmunidad adaptativa	67
1.4.3.3 Inmunidad a largo plazo	70
<b>1.5 MANIFESTACIONES CLÍNICAS</b>	<b>73</b>
1.5.1 Forma clásica de tosferina	73
1.5.2 Tosferina maligna	74
1.5.3 Forma asintomática o con sintomatología leve	75
<b>1.6 DEFINICIÓN CLÍNICA DE TOSFERINA</b>	<b>77</b>
1.6.1 Organización Mundial de la Salud	77
1.6.2 Iniciativa mundial contra la tosferina	77
1.6.3 Centers for Disease Control and Prevention (CDC)	79
1.6.4 Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica	80
1.6.4.1 Clasificación de los casos según RENAVE	80
1.6.4.2 Definición de brote según RENAVE	80
<b>1.7 DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL (SÍNDROME PERTUSOIDE)</b>	<b>81</b>
1.7.1 Otras especies del género <i>Bordetella</i>	81
1.7.1.1 <i>Bordetella parapertussis</i>	81
1.7.1.2 <i>Bordetella bronchiseptica</i>	82
1.7.1.3 <i>Bordetella holmesii</i>	82
1.7.1.4 Otros patógenos causantes de síndrome pertusoide	83
1.7.2 Coinfección de varios patógenos	83
<b>1.8 MÉTODOS DIAGNÓSTICOS ESPECÍFICOS PARA <i>BORDETELLA</i></b>	<b>85</b>
1.8.1 Cultivo	85
1.8.1.1 Momento en el que se recoge la muestra	85
1.8.1.2 Muestras biológicas adecuadas y técnica de obtención	85
1.8.1.3 Transporte	86
1.8.1.4 Cultivo específico	86
1.8.2 Inmunofluorescencia directa	88
1.8.3 Reacción en cadena de la polimerasa	88
1.8.4 Serología	89
<b>1.9 TRATAMIENTO</b>	<b>91</b>

1.9.1 Tratamiento antibiótico	91
1.9.2 Otros tratamientos	93
<b>1.10 ESTRATEGIAS DE PREVENCIÓN Y CONTROL</b>	<b>94</b>
1.10.1 Vacunación	94
1.10.1.1 Tipos de vacunas, composición y presentación	94
1.10.1.2 Vías de administración	97
1.10.1.3 Eficacia	97
1.10.1.4 Inmunogenicidad de las distintas vacunas	98
1.10.1.5 Perfil de seguridad	99
1.10.1.6 Indicaciones y esquemas de vacunación	100
1.10.1.7 Contraindicaciones de la vacunación	101
1.10.2 Medidas de control ante un caso y sus contactos	102
1.10.2.1 Actuación recomendada en el caso índice	102
1.10.2.2 Actuación recomendada en los contactos de un caso confirmado de tosferina	102
1.10.2.3 Profilaxis antibiótica tras exposición	103
1.10.2.4 Vacunación tras exposición	104
1.10.3 Nuevas estrategias de vacunación	105
1.10.3.1 Vacunación en el adolescente	105
1.10.3.2 Vacunación universal del adulto	106
1.10.3.3 Vacunación del personal sanitario	107
1.10.3.4 Vacunación precoz en el neonato y en el lactante	108
1.10.3.5 Vacunación en la embarazada	109
1.10.3.6 Estrategia del nido	111
<b>2 JUSTIFICACIÓN</b>	<b>113</b>
<b>3 HIPÓTESIS</b>	<b>115</b>
<b>3.1 HIPÓTESIS OPERATIVA</b>	<b>116</b>
<b>3.2 HIPÓTESIS NULA</b>	<b>116</b>
<b>4 OBJETIVOS</b>	<b>117</b>
<b>4.1 OBJETIVO GENERAL</b>	<b>118</b>
<b>4.2 OBJETIVOS PRINCIPALES</b>	<b>118</b>
<b>4.3 OBJETIVOS SECUNDARIOS</b>	<b>118</b>
<b>5 MÉTODO</b>	<b>119</b>
<b>5.1 DISEÑO DEL ESTUDIO</b>	<b>120</b>
<b>5.2 ÁMBITO GEOGRÁFICO Y POBLACIÓN DE ESTUDIO</b>	<b>120</b>

5.2.1 Situación geográfica	120
5.2.2 Climatología de Gipuzkoa	120
<b>5.3 DESCRIPCIÓN DE LA POBLACIÓN DE GIPUZKOA</b>	<b>121</b>
<b>5.4 SECTORIZACIÓN DE LA GESTIÓN SANITARIA DE OSAKIDETZA EN GIPUZKOA</b>	<b>123</b>
<b>5.5 TERRITORIO EN EL QUE SE HA REALIZADO EL ESTUDIO</b>	<b>124</b>
5.5.1 Datos de Vigilancia epidemiológica	125
<b>5.6 ANÁLISIS DE MUESTRAS</b>	<b>125</b>
5.6.1 Recogida y transporte de las muestras	125
<b>5.7 POBLACIÓN OBJETO DE ESTUDIO</b>	<b>129</b>
5.7.1 Inclusión de casos: estudio clínico y estudio epidemiológico	129
5.7.1.1 Estudio clínico	129
5.7.1.2 Estudio epidemiológico	130
5.7.2 Definición de caso	130
<b>5.8 DEFINICIONES CLÍNICAS</b>	<b>130</b>
<b>5.9 VARIABLES ANALIZADAS</b>	<b>131</b>
<b>5.10 ANÁLISIS ESTADÍSTICO</b>	<b>133</b>
<b>5.11 ASPECTOS ÉTICOS</b>	<b>134</b>
<b>5.12 HERRAMIENTAS INFORMÁTICAS</b>	<b>134</b>
<b>5.13 CONFLICTO DE INTERESES</b>	<b>135</b>
<b>6 RESULTADOS</b>	<b>136</b>
<b>6.1 TOSFERINA EN BASE A LOS DATOS DE VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA DE GIPUZKOA Y DE LA COMUNIDAD AUTÓNOMA DEL PAÍS VASCO</b>	<b>137</b>
6.1.1 Casos por Territorio Histórico y año (CAPV 1998-2017)	137
6.1.2 Incidencia (casos por 100.000 habitantes) por Territorio Histórico y año (CAPV 1998-2017)	138
6.1.3 Incidencia (serie histórica 1984-2017) en los tres Territorios de la Comunidad Autónoma del País Vasco.	139
6.1.4 Casos y tasa de incidencia por grupo de edad (Gipuzkoa 1999-2017)	140
<b>6.2 TOSFERINA. ESTUDIO DE LOS CASOS CONFIRMADOS MICROBIOLÓGICAMENTE</b>	<b>142</b>
<b>6.2.1 CARACTERÍSTICAS SOCIODEMOGRÁFICAS Y EPIDEMIOLÓGICAS</b>	<b>142</b>
6.2.1.1 Proporción de casos confirmados respecto al total de casos declarados	143
6.2.1.2 Casos confirmados por año	143
6.2.1.3 Casos confirmados por edad	144
6.2.1.4 Casos confirmados por sexo	146
6.2.1.5 Distribución geográfica (Gipuzkoa) de los casos confirmados	147

6.2.1.6 Estacionalidad de los casos confirmados	148
6.2.1.6.1 Casos por mes y por mes y año	148
6.2.1.6.2 Estacionalidad según grupo de edad	149
6.2.1.7 Relación de los casos confirmados con otros del mismo entorno	150
6.2.1.7.1 Casos en el entorno familiar	150
6.2.1.7.2 Casos en el entorno escolar y laboral	151
6.2.1.7.3 Casos secundarios a transmisión nosocomial	152
<b>6.2.2 CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DE LOS CASOS DE TOSFERINA CONFIRMADOS</b>	<b>153</b>
6.2.2.1 Antecedentes gestacionales y patología previa	153
6.2.2.2 Antecedente de vacunación	153
6.2.2.2.1 Pacientes vacunados y no vacunados por año	153
6.2.2.2.2 Pacientes vacunados y no vacunados por grupo de edad	155
6.2.2.2.3 Estado vacunal y afectación de otros miembros de la familia	157
6.2.2.3 Principales manifestaciones clínicas	157
6.2.2.3.1 Síntomas y signos clínicos principales y relación con la edad	157
6.2.2.3.2 Síntomas y signos clínicos en función del estado vacunal	158
6.2.2.4 Exploraciones complementarias de los casos confirmados	159
6.2.2.4.1 Auscultación pulmonar	159
6.2.2.4.2 Estudio de imagen	159
<b>6.2.3 TRATAMIENTO DE LOS CASOS CONFIRMADOS</b>	<b>160</b>
6.2.3.1 Tratamiento farmacológico previo a la confirmación diagnóstica	160
6.2.3.2 Tratamiento antibiótico: datos globales	163
6.2.3.2.1 Tipo de macrólido utilizado según el grupo de edad.	164
<b>6.3 HOSPITALIZACIÓN A CAUSA DE TOSFERINA (1998-2017)</b>	<b>164</b>
<b>6.3.1 DATOS GENERALES Y DE IMPACTO</b>	<b>164</b>
6.3.1.1 Pacientes hospitalizados por año e incidencia de hospitalización	164
6.3.1.2 Pacientes hospitalizados por edad y sexo	165
6.3.1.3 Estancia media	167
6.3.1.4 Ingreso en la Unidad de Cuidados Intensivos Pediátricos	168
6.3.1.5 Mortalidad	168
<b>6.3.2 CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DE LOS PACIENTES HOSPITALIZADOS</b>	<b>169</b>
6.3.2.1 Antecedentes gestacionales y patología previa	169
6.3.2.2 Síntomas clínicos	169
6.3.2.3 Diagnósticos al alta	170
6.3.2.4 Complicaciones	170
6.3.2.5 Hospitalizaciones en el grupo de 5 a 13 años	171
6.3.2.6 Hospitalizaciones en adultos .....	172

6.3.3 DATOS RELATIVOS AL DIAGNÓSTICO DE LOS PACIENTES INGRESADOS	175
6.3.3.1 Anomalías en la auscultación pulmonar	175
6.3.3.2 Principales alteraciones analíticas	175
6.3.3.3 Alteraciones analíticas en función de la duración de la sintomatología	176
6.3.4 TRATAMIENTO DE LOS CASOS HOSPITALIZADOS	177
6.3.4.1 Tratamiento antibiótico durante el ingreso	177
6.3.4.2 Otros tratamientos e intervenciones	177
<b>6.4 OTROS FACTORES DE IMPACTO DE LA ENFERMEDAD Y USO DEL SISTEMA SANITARIO</b>	<b>178</b>
6.4.1 Contacto con el Sistema Sanitario: Unidad de Urgencias versus Centros de Salud	178
6.4.2 Consultas reiteradas	179
6.4.2.1 Proporción de pacientes que solicitaron consultas reiteradas	179
6.4.2.2 Lugar en el que se realizaron las consultas reiteradas	179
6.4.2.3 Motivos de las consultas reiteradas	179
6.4.2.4 Consultas reiteradas según el estado vacunal	181
<b>7 DISCUSIÓN</b>	<b>182</b>
<b>7.1 Tosferina en Gipuzkoa: constatación de una resurgencia y discusión de sus posibles causas en relación a los datos epidemiológicos observados.</b>	<b>183</b>
<b>7.2 Comparación de la incidencia de tosferina observada en Gipuzkoa, Comunidad Autónoma del País Vasco y otras Comunidades Autónomas de España</b>	<b>192</b>
<b>7.3 Comparación de la incidencia de tosferina observada en Gipuzkoa, países de Europa y de fuera de ella</b>	<b>198</b>
<b>7.4 Características sociodemográficas: edad, sexo y comarcas</b>	<b>201</b>
<b>7.5 Estacionalidad</b>	<b>205</b>
<b>7.6 Entorno familiar, centros educativos y origen nosocomial</b>	<b>207</b>
<b>7.7 Características clínicas de los casos confirmados</b>	<b>209</b>
7.7.1 Antecedentes gestacionales y patología previa	209
7.7.2 Situación vacunal	211
7.7.3 Manifestaciones clínicas	213
7.7.4 Diagnóstico: Centro Sanitario, muestras clínicas empleadas, pruebas complementarias (laboratorio, imagen)	215
7.7.5 Tratamiento	217
<b>7.8 Hospitalización</b>	<b>218</b>
<b>7.9 Impacto de la enfermedad en los distintos niveles asistenciales</b>	<b>223</b>
<b>7.10 Limitaciones del estudio</b>	<b>224</b>

<b>8 CONCLUSIONES</b>	<b>225</b>
<b>9 ANEXOS</b>	<b>229</b>
<b>10 BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>235</b>



## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Número de casos de tosferina en los distintos países europeos por 100.000 habs., distribuidos por año desde 2013 a 2017. ....	37
Tabla 2. Casos notificados, ingresos y mortalidad por tosferina en España desde 1998- 2016. ....	43
Tabla 3. Incidencia de tosferina por 100.000 habs. por grupo de edad. España 1998- 2015. ....	44
Tabla 4. Características de crecimiento de las principales especies patógenas para el ser humano del género <i>Bordetella</i> .....	87
Tabla 5. Diferenciación de especies del género <i>Bordetella</i> .....	88
Tabla 6. Preparados comerciales disponibles para la primovacunación e infancia año 2017. ....	96
Tabla 7. Preparados comerciales disponibles de baja carga antigénica (dTpa), año 2017. .....	96
Tabla 8. Calendario vacunal de la Comunidad Autónoma del País Vasco, año 2018....	101
Tabla 9. Implantación de la Estrategia de Vacunación de tosferina en embarazadas..	111
Tabla 10. Tosferina: Tasa de incidencia (Casos/100.000 habs.) por territorio y año...	139
Tabla 11. Casos, incidencia media anual (casos/100.000 habitantes) por grupo de edad en base a los casos declarados en Gipuzkoa (1998-2017), y ratio de incidencias en dos períodos de estudio.....	142
Tabla 12. Brotes de tosferina en centros escolares y laborales por grupo de edad (casos confirmados microbiológicamente). ....	152
Tabla 13. Distribución por edad de los pacientes con tosferina vacunados y no vacunados menores de 12 meses. ....	156
Tabla 14. Síntomas clínicos principales en los casos de tosferina confirmados. ....	157
Tabla 15. Síntoma clínico principal en función del estado vacunal. ....	158

Tabla 16. Principales datos radiológicos de los casos confirmados de tosferina en función de la edad. ....	159
Tabla 17. Principales datos radiológicos de los casos confirmados de tosferina en función de la sintomatología presentada por los pacientes. ....	160
Tabla 18. Tratamientos no macrólidos utilizados previamente al diagnóstico de tosferina (406 casos). ....	161
Tabla 19. Tratamientos previos al diagnóstico de confirmación de tosferina, según la sintomatología principal. ....	162
Tabla 20. Tratamientos utilizados previamente a confirmar el diagnóstico de tosferina en el caso de presentar tos en accesos, dificultad respiratoria o apnea. ....	162
Tabla 21. Tipos de macrólidos utilizados a lo largo del estudio. ....	163
Tabla 22. Número de pacientes de tosferina hospitalizados según el grupo de edad en relación a los casos declarados (Gipuzkoa 1998-2017). ....	165
Tabla 23. Casos hospitalizados por tosferina 2011-2017. Distribución por grupo de edad. ....	167
Tabla 24. Síntomas clínicos de los pacientes ingresados por tosferina 1998-2017. ....	170
Tabla 25. Diagnósticos al alta de los pacientes hospitalizados por tosferina 1999-2017. ....	170
Tabla 26. Cifra de leucocitos y linfocitos de las muestras analizadas (leucocitos o linfocitos/ $\mu$ L). ....	175
Tabla 27. Valor medio del recuento absoluto de leucocitos y linfocitos en función de la edad (leucocitos o linfocitos/ $\mu$ L). ....	176
Tabla 28. Ingreso hospitalario por tosferina y la utilización de macrólidos. ....	177
Tabla 29. Número de diagnósticos de tosferina realizados en los Hospitales y en los Centros de Salud 2011-2016. ....	178
Tabla 30. Motivos de consulta postdiagnóstico (consultas reiteradas). ....	180
Tabla 31. Análisis del número de pacientes con una o varias consultas médicas una vez establecido el diagnóstico de tosferina según la edad (2013 a 2016). ....	180

Tabla 32. Análisis del número de pacientes con una o varias consultas médicas una vez establecido el diagnóstico de tosferina según el estado vacunal (2013-2016).....	181
Tabla 33. Tosferina por grupos de edad y porcentaje de vacunados entre los casos de tosferina ocurridos en dichos grupos en 2014, año central en la resurgencia 2011-2017. ....	190
Tabla 34. Casos de tosferina notificados por Comunidades Autónomas y tasas por 100.000 habitantes/año en España 1999-2016. ....	197



## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Incidencia y cobertura vacunal con DTP3 (3 dosis de DTP en primovacunación) a nivel mundial desde 1980 a 2018.....	32
Figura 2. Cobertura vacunal por país correspondiente a la primovacunación con tres dosis de DTP en 2018.....	33
Figura 3. Incidencia de tosferina en EEUU 1922-2018. ....	34
Figura 4. Incidencia de tosferina en EEUU desde 1990 al 2018 por grupos de edad. ...	35
Figura 5. Número de casos por año en Japón distribuidos por grupo de edad según los centros de vigilancia centinela desde el año 1997 al 2016. ....	36
Figura 6. Número de casos de tosferina notificados por 100,000 hab. en los distintos países europeos en 2017.....	38
Figura 7. Distribución de los casos de tosferina por edad y sexo en los países europeos en 2017. ....	39
Figura 8. Incidencia de tosferina confirmada en UK por grupos de edad publicado desde el año 1998 al 2018.....	40
Figura 9. Evolución de las coberturas de vacunación frente a tosferina en España desde 2000 hasta 2014. ....	42
Figura 10. Tosferina. Incidencia y hospitalizaciones por 100,000 hab./año y coberturas de vacunación con tres dosis. España 1982-2016.....	44
Figura 11. Incidencia de tosferina por 100.000 hab./año por grupo de edad en niños menores de un año. España 2005-2015.....	45
Figura 12. Defunciones por tosferina según el Instituto Nacional de Estadística (2010-2014) y RENAVE (2010-2016). ....	45
Figura 13. Taxonomía del género <i>Bordetella</i> . Adaptado de Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria (2015).....	47
Figura 14. Imagen de <i>Bordetella</i> , procedente de microscopía electrónica. ....	50

Figura 15. Esquema del sistema de dos componentes BvgAS y de su mecanismo de activación.....	53
Figura 16. Curvas de expresión relativa de las cuatro clases de genes.....	53
Figura 17. Posición de la hemaglutinina filamentosa, las fimbrias y la pertactina en la pared bacteriana. ....	57
Figura 18. Esquema de los principales factores de virulencia del género <i>Bordetella</i> ....	61
Figura 19. Descripción de las distintas etapas de la infección .....	64
Figura 20. Respuesta inmune innata y adaptativa frente a la infección por <i>B. pertussis</i> .....	69
Figura 21. Respuesta inmune tras la utilización de vacunas celulares y acelulares. ....	72
Figura 22. Algoritmo de diagnóstico de tosferina .....	79
Figura 24. Técnica diagnóstica de elección según momento de la infección .....	90
Figura 25. Mapa de relieve, hipsometría y red hidrográfica de Gipuzkoa.....	120
Figura 26. Clasificación de territorios climáticos del País Vasco .....	121
Figura 27. Municipios por tramos de población de Gipuzkoa, años 1900, 2001 y 2006 expresado en porcentajes. ....	122
Figura 28. Población por edad (grupos quinquenales) y año en Gipuzkoa. Estadística del Padrón Continuo.....	123
Figura 29. Organizaciones Sanitarias Integradas del sistema de Osakidetza.....	124
Figura 30. Material para realizar el aspirado nasofaríngeo. ....	126
Figura 31. Hisopo para toma de muestra utilizado en el estudio. ....	126
Figura 32. Termociclador CFX96 (BioRad) empleado en pruebas de PCR en tiempo real multiplex.....	128
Figura 33. Extractor de ácidos nucleicos Easy-MAG.....	129
Figura 34. Distribución del número de casos de tosferina por territorio y año.....	138
Figura 35. Incidencia de tosferina en los tres Territorios de la Comunidad Autónoma del País Vasco 1984-2017.....	140

Figura 36. Distribución del número de casos de tosferina por edad y año. Incidencia por grupo de edad (1999-2010).....	141
Figura 37. Distribución del número de casos de tosferina por edad y año. Incidencia por grupo de edad (2011-2017).....	142
Figura 38. Distribución del número de casos de tosferina en el periodo de estudio 1998-2016.....	143
Figura 39. Distribución del número de casos confirmados de tosferina por grupo de edad (1998-2016). .....	144
Figura 40. Distribución del número de casos de tosferina confirmados por grupo de edad y año (2010-2016).....	145
Figura 41. Casos confirmados de tosferina según la edad en años (2011-2016).....	146
Figura 42. Casos confirmados de tosferina por sexo y año natural (1998-2016). .....	146
Figura 43. Casos confirmados de tosferina por sexo y grupo de edad (1998-2016). ..	147
Figura 44. Infección por <i>B. pertussis</i> en relación al número de habitantes del municipio de residencia (1999-2016).....	148
Figura 45. Distribución estacional de los casos confirmados de tosferina (1998-2016). .....	148
Figura 46. Casos confirmados de tosferina por año y mes (2011-2016).....	149
Figura 47. Casos confirmados de tosferina por mes y grupo de edad (1998-2016). ...	150
Figura 48. Relación de parentesco entre los casos confirmados de tosferina dentro de un mismo núcleo familiar. ....	150
Figura 49. Parentesco en el caso de uno o dos familiares afectos.....	151
Figura 50. Casos declarados de tosferina asociados a brotes (2011-2017) .....	151
Figura 51. Pacientes vacunados y no vacunados por año (1999-2010). .....	154
Figura 52. Pacientes vacunados y no vacunados por año (2011-2016). .....	155
Figura 53. Pacientes vacunados y no vacunados por grupo de edad (1998-2016).....	156

Figura 54. Evolución del tratamiento antibiótico utilizado. Tosferina 1998-2016.....	163
Figura 55. Número de pacientes hospitalizados por tosferina a lo largo del estudio (1998-2017). .....	164
Figura 56. Número de pacientes hospitalizados por tosferina menores de 5 años en función de los meses de edad. ....	166
Figura 57. Duración en días de la estancia a causa de tosferina en la Unidad de Hospitalización.....	168
Figura 58. Valor medio del recuento absoluto de leucocitos y linfocitos en función de la duración de tos en accesos en semanas. ....	177
Figura 59. Número de diagnósticos de tosferina realizados en la Unidad de Urgencias y en los Centros de Salud. ....	178
Figura 60. Lugar en el que se realizan las consultas reiteradas una vez establecido el diagnóstico. ....	179
Figura 61. Cobertura vacunal frente a tosferina en Gipuzkoa 1993-2016.....	184
Figura 62. Resultados del experimento de Warfel <i>et al.</i> (adaptación). ....	187
Figura 63. Casos de tosferina ocurridos en menores de 12 años de edad según la edad 2011-2016.....	189
Figura 65. Tasa de tosferina por 100.000 hab./año en España con respecto a la media del conjunto de la UE/EEA desde 1998 a 2017. ....	200
Figura 67. Tasas de tosferina por 100.000 habitantes/año en España 1998-2016 según grupos de edad.....	203

## ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO 1. Casos de tosferina declarados a Epidemiología e incidencia global y anual por grupos de edad en Gipuzkoa (1999-2010) .....	230
ANEXO 2. Casos de tosferina declarados a Epidemiología e incidencia global y anual por grupos de edad en Gipuzkoa (2011-2017) .....	230
ANEXO 3. Distribución del número de casos de tosferina (estudio de casos confirmados) por grupo de edad y año (1999-2016) .....	231
ANEXO 4. Incidencia media anual de casos confirmados por Área Sanitaria (OSI) para el período 2011-2016 .....	232
ANEXO 5. Centros de Salud con mayor número de casos de tosferina confirmados a lo largo del estudio. ....	232
ANEXO 6. Casos de tosferina declarados por grupos de edad entre 2011 y 2017 y porcentaje de sujetos vacunados. ....	233
ANEXO 7. Tipo de macrólido utilizado según el grupo de edad. ....	234
ANEXO 8. Valor medio del recuento absoluto de leucocitos y linfocitos en función de la duración de la tos en accesos. ....	234

## GLOSARIO DE ACRÓNIMOS Y ABREVIATURAS

- ADN** Ácido Desoxirribonucleico
- ACIP** *Advisory Committee on Immunization Practices*
- ACOG** *American College of Obstetricians and Gynecologists*
- AMPc** Adenosin monofosfato cíclico
- ARNr** Ácido Ribonucleico ribosómico o ribosomal
- BvgAS** *Bordetella* virulence gene activador/sensor
- BiPAP** *Bi Level Positive Airway Pressure*/Presión Positiva en la vía aérea a dos niveles
- CAPV** Comunidad Autónoma del País Vasco
- CAV-AEP** Comité Asesor de Vacunas de la Asociación Española de Pediatría
- CCAA** Comunidades Autónomas
- CDC** Centers for Disease Control and Prevention
- CEIC** Comité Ético de Investigación Clínica
- Células NK** Células Natural Killer
- CMDB** Conjunto Mínimo de Datos Básicos
- CPAP** *Continuous Positive Airway Pressure*/Presión Positiva Continua en la Vía Aérea
- CS** Centro de Salud
- ECDC** European Centre for Disease Prevention and Control
- EDO** Enfermedad de declaración obligatoria
- EEUU** Estados Unidos
- ELISA** *Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay*/Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas
- Eustat** Instituto Vasco de Estadística

**EUVAC.NET** Red para la vigilancia epidemiológica y el control de las infecciones prevenibles por vacunas en la Unión Europea

**FDA** Food and Drug Administration

**FHA** Hemaglutinina filamentosa

**Habs.** Habitantes

**HUD** Hospital Universitario Donostia

**IC** Intervalo de confianza

**IFN- $\gamma$**  Interferón gamma

**Ig** Inmunoglobulina

**IgA** Inmunoglobulina A

**IgM** Inmunoglobulina M

**IgG** Inmunoglobulina G

**IL-1** Interleuquina 1

**IL-12** Interleuquina 12

**INE** Instituto Nacional de Estadística

**IS481** Secuencia repetida de inserción 481

**Iv** Intravenoso

**kDa** KiloDalton

**LPS** Lipopolisacárido

**MAPT** *Multicenter Acellular Pertussis Trial*

**NO-sintasa** Óxido Nítrico Sintasa

**OMS** Organización Mundial de la Salud

<b>OSI</b>	Organización Sanitaria Integrada
<b>PAMPs</b>	Patrones Moleculares Asociados a Patógenos
<b>PCR</b>	Reacción en cadena de la polimerasa
<b>PCT</b>	Procalcitonina
<b>ptxP</b>	Región promotora de la toxina pertussis
<b>RENAVE</b>	Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica
<b>SIM</b>	Sistema de Información Microbiológica
<b>TcfA</b>	Factor de colonización traqueal
<b>TNF</b>	Factor de Necrosis Tumoral
<b>TLR</b>	<i>Toll like receptor</i> /receptor tipo Toll
<b>TP</b>	Toxina pertussis
<b>UCIP</b>	Unidad de Cuidados Intensivos Pediátricos
<b>UE/EEA</b>	Unión Europea y Área Económica Europea
<b>UFC</b>	Unidad Formadora de Colonias
<b>UK</b>	United Kingdom
<b>Vacuna BCG</b>	Vacuna contra la tuberculosis conocida como “bacilo de Calmette-Guérin”
<b>Vacuna DTP</b>	Vacuna contra difteria, tétanos y <i>pertussis</i>
<b>Vacuna DT</b>	Vacuna contra difteria y tétanos
<b>Vacuna HB</b>	Vacuna contra hepatitis B
<b>Vacuna HiB</b>	Vacuna contra <i>Haemophilus influenzae</i>
<b>Vacuna VPI</b>	Vacuna Parenteral de virus Inactivados frente a poliomielitis
<b>VRS</b>	Virus Respiratorio Sincitial

## **1 INTRODUCCIÓN**

## 1.1 INTRODUCCIÓN

La tosferina es una infección bacteriana aguda de las vías respiratorias superiores causada por la bacteria *Bordetella pertussis* (*B. pertussis*) (1). Según datos de la Organización Mundial de la Salud (OMS), la tosferina, antes de la introducción de la vacuna, se encontraba entre las primeras 10 causas de muerte infantil debido a enfermedades infecciosas a escala mundial. En el siglo XX, la tosferina fue una de las enfermedades infantiles más comunes en el mundo y una causa importante de mortalidad infantil (2).

Desde hace décadas se dispone de vacunas dirigidas a esta enfermedad, habiéndose conseguido que la incidencia disminuya drásticamente (3). Entre los años cincuenta y setenta del siglo pasado, la incidencia de tosferina en los países industrializados disminuyó un 90% gracias a la vacunación a gran escala de la población infantil. De hecho, actualmente, un 86% de los lactantes del mundo están recibiendo la serie primaria de tres dosis de vacuna antitosferínica (4), que, según cálculos de la OMS, en 2008 evitó unas 687.000 muertes (5). Sin embargo, se sigue considerando una enfermedad endémica, y en años recientes se ha puesto de manifiesto que ni las vacunas ni la infección natural confieren inmunidad permanente (6).

En los últimos años se ha observado inesperadamente la reemergencia de la tosferina en países con cobertura vacunal elevada, habiéndose referido brotes importantes. El aumento de la incidencia parece tener una distribución por edades bipolar: en los lactantes menores de seis meses, que por su edad no han iniciado la vacunación o no han completado la primovacunación, y en los adolescentes y adultos, por la disminución de su inmunidad, vacunal o natural, debido al tiempo transcurrido desde la inmunización o el padecimiento de la enfermedad.

A pesar de los estudios epidemiológicos realizados hasta la fecha y de las hipótesis formuladas para esclarecer los motivos de este aumento de la incidencia, no existe un consenso sobre las causas que justifican el rebrote de la enfermedad, que contribuye a que la tosferina continúe, hoy en día, siendo un problema de salud a escala global (5).

La presente Tesis Doctoral ha estudiado la incidencia y características clínico-epidemiológicas de la tosferina en Gipuzkoa entre los años 1998 y 2017, un Territorio en el que la vacunación frente a la misma ha obtenido cobertura elevada durante más de 30 años (desde principios de

los años ochenta del siglo pasado), con el fin de valorar el impacto del programa de vacunación y disponer de datos con los que estimar la evolución de la enfermedad en los próximos (5-10) años. Hasta la fecha no se ha realizado en el País Vasco ningún estudio sobre una muestra amplia de casos que abarque un periodo temporal prolongado.

## 1.2 EVOLUCIÓN Y SITUACIÓN EPIDEMIOLÓGICA DE LA TOSFERINA

### 1.2.1 Primeras descripciones de la enfermedad y de la bacteria causal

A diferencia de otras enfermedades infecciosas que han afectado desde hace siglos a los humanos (difteria, tétanos, sarampión, viruela, poliomielitis), la historia de la tosferina es relativamente reciente, ya que las descripciones iniciales europeas de síntomas relacionados con esta enfermedad proceden del siglo XVI.

La primera descripción detallada de la enfermedad se realizó con ocasión de una importante epidemia de infección respiratoria aguda ocurrida en el año 1578, en París, Francia. Guillaume de Baillou (1536-1616) (7), en el libro *Epidemiorum et Ephemeridum Libri* describió dicha epidemia como “*tussis quintin*” o tos quintosa, por las características clínicas de la enfermedad que ese año asolaba Francia, pero su trabajo no fue publicado hasta 62 años más tarde, después de su muerte (8). Posteriormente, en 1679, Thomas Sydenham (1624-1689), y Thomas Willis (1621-1675) (9) atribuyeron a la enfermedad el nombre de “*pertussis*”, derivado de las palabras latinas *per* 'intensa' y *tusim* 'tos'. No fue hasta 1906 cuando Jules Jean Baptiste Vincent Bordet (1870-1961) y Octave Gengou (1875-1957) (10) aislaron, por primera vez, la bacteria *Bordetella* (por Bordet) *pertussis* a partir de una muestra de esputo de un paciente afecto de tosferina.

Bordet y Gengou han quedado firmemente unidos en la literatura médica por haber efectuado el primer aislamiento del bacilo de la tosferina en un medio de cultivo artificial. Gracias a estos dos científicos se descubrió la existencia de anticuerpos bactericidas, la reacción de fijación del complemento, y el medio de cultivo que posibilitaría el descubrimiento de *Bordetella*. Debido a los logros en el campo de la inmunología, Bordet recibió en 1919 el Premio Nobel de Medicina.

Recientemente se ha publicado un estudio (11) que sitúa un brote de la enfermedad en Persia alrededor del siglo XV, unos cien años antes que la epidemia relatada por Baillou, y que fue descrito por un ilustre médico de la época, Mohammad Hussain Nurbakhshi (1455–1509). En su libro se detallan dos epidemias adicionales de características similares que afectaron a gran parte de la población y que probablemente correspondieron a tosferina dadas las

características clínicas descritas. Las descripciones históricas persas y europeas (siglos XV y XVI) concuerdan con los resultados obtenidos en estudios de filogenia molecular que sitúan el origen de las cepas de *B. pertussis* hace aproximadamente 500-600 años (12). Por tanto, las referencias históricas y los estudios moleculares sugieren que ésta es una enfermedad relativamente reciente.

### 1.2.2 Breve historia de la vacunación frente a la tosferina

Tras el aislamiento de la bacteria a inicios del siglo XX, rápidamente se comenzaron a desarrollar múltiples vacunas para el tratamiento y la prevención de la infección. En 1910, poco después del aislamiento de la bacteria, Bordet y Gengou (13) intentaron desarrollar una vacuna celular. Pronto se descartó la efectividad de esta primitiva vacuna, ya que el grupo de control y el grupo vacunado presentaron las mismas tasas de infección. Otros científicos que intentaron desarrollar vacunas frente a la tosferina sin éxito fueron Charles Jules Henry Nicolle (1866-1936) del Instituto Pasteur en Túnez en 1913, y Thorvald Madsen (1870-1957) del *Statens Serum Institute* de Copenhague en 1914. Este último (14), fue el primero en realizar un estudio de campo propiamente como tal, en las islas Feroe, con una nueva vacuna celular, aprovechando la epidemia de 1925. Madsen inmunizó a casi 2.000 individuos con resultados bastante discretos en cuanto a prevención de la enfermedad, pero constató una menor letalidad, estadísticamente significativa, en el grupo de personas vacunadas afectadas por la enfermedad. En esta primera época se desarrollaron vacunas con células muertas (vacunas celulares “iniciales”) obtenidas mediante procedimientos groseros. Años más tarde, en 1933, el mismo autor (15) comunicó dos fallecimientos asociados a dicha vacuna, constituyendo el primer documento publicado hasta la fecha de efectos adversos graves tras la vacunación contra la tosferina. Ese mismo año, Louis Wendlin Sauer (1885-1980) (16) de la *Northwestern University Medical School*, Chicago, que también había desarrollado una vacuna en torno a 1920, describió reacciones leves asociadas al uso de la vacuna celular en Estados Unidos.

Tras varios años de investigación, en 1939, Pearl Louella Kendrick (1890-1980) y Grace Elderling (1900-1988) (17) del Departamento de Sanidad de Michigan, perfeccionaron y sistematizaron el método de obtención y el uso de la vacuna celular en los niños estadounidenses (se considera la segunda época de la vacuna frente a tosferina, vacuna celular perfeccionada). Tres años más tarde, combinaron su vacuna celular frente a *pertussis* con los toxoides de difteria y tétanos para crear la primera vacuna DTP (difteria-tétanos-*pertussis*). El Comité de la Academia Americana de Pediatría (18,19) en 1944 sugirió el uso rutinario de

dicha vacuna a gran escala, convirtiéndose la vacunación frente a tosferina en un procedimiento habitual en EEUU. Así mismo, esta vacuna combinada ha formado parte del Programa Ampliado de Inmunización de la OMS desde su concepción en el año 1974 (5). Tras las campañas masivas de vacunación contra la tosferina realizadas durante las décadas de 1950 y 1960, se produjo una reducción espectacular (superior al 90%) de la incidencia y mortalidad de la enfermedad en los países industrializados (5).

Sin embargo, tras varias décadas de uso, algunos estudios asociaron la vacuna DTP a efectos secundarios graves (incluyendo muerte súbita y daño neurológico). Como consecuencia, la cobertura de la vacunación frente a la tosferina disminuyó en países como Gran Bretaña [entre 1974 y 1978 pasó del 80 al 30% de la población diana (20)], Japón y Suecia en la década de 1970, y posteriormente Alemania, Suiza e Italia, lo que provocó la reaparición de brotes epidémicos y fallecimientos por tosferina (21). En este contexto, el gobierno británico financió el Estudio Nacional sobre Encefalopatía Infantil (22), consistente en un estudio de casos y controles con una duración de tres años para determinar los riesgos atribuibles a la vacunación con DTP (23). Las conclusiones fueron que el riesgo de enfermedad neurológica era ligeramente mayor (2,4 veces) en los niños vacunados con DTP que en los no vacunados. En niños previamente sanos se estimó que el riesgo de encefalopatía atribuible a la vacunación con DTP era de un caso cada 310.000 inmunizaciones.

En EEUU también se desarrolló un sistema de vigilancia para detectar posibles efectos adversos secundarios a la vacunación (24). Contrariamente a lo encontrado en el estudio inglés, varios estudios promovidos por la *Food and Drug Administration* (FDA) y los *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) descartaron la relación de la vacuna DTP con la muerte súbita infantil o secuelas neurológicas a corto y largo plazo, pero detectaron un menor número de secuelas en los vacunados únicamente con DT frente a los vacunados con DTP. Uno de los mayores estudios realizados hasta la fecha, llevado a cabo por Butler et al. (25), estudió una cohorte de más de 13.000 niños, descartando la asociación de la vacuna DTP con patología neurológica a largo plazo. A pesar de ello, y debido al descenso en la aceptación de la vacuna, en 1999 se sustituyó en EEUU la vacuna celular por una nueva vacuna modificada, la vacuna acelular (tercera época de desarrollo de vacunas pertúsicas) conocida por las letras Pa, cambio seguido en los años siguientes por muchos países. Dicha vacuna emplea únicamente fragmentos (proteínas) de *B. pertussis* para crear inmunidad resultando en menor número de efectos secundarios.

En el capítulo sobre vacunación se abordarán las distintas características de las vacunas acelulares, su efectividad, seguridad e inmunogenicidad.

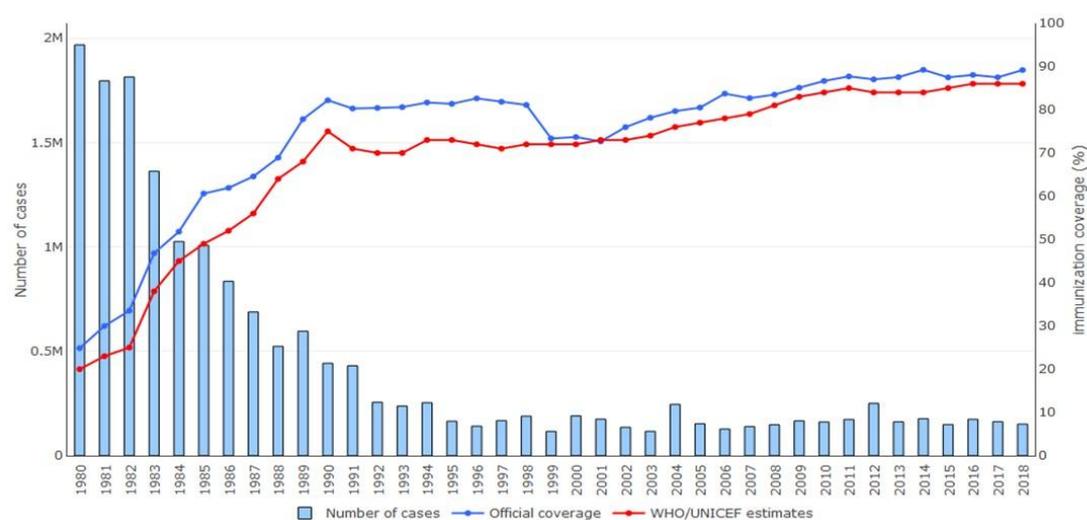
### 1.2.3 Evolución y situación actual de la enfermedad a nivel mundial

#### 1.2.3.1 Cobertura vacunal, vigilancia e incidencia de tosferina a nivel mundial

Dada la repercusión clínica a nivel mundial de la tosferina, son numerosos los esfuerzos que están siendo realizados para erradicar y controlar esta enfermedad. La OMS emite periódicamente una estimación del número de casos, así como de la cobertura vacunal alcanzada a nivel mundial con las tres dosis de primovacuna con DTP tanto acelular, como de células completas.

El informe publicado por la OMS en julio de 2019 (figura 1), refleja una tendencia ascendente en la cobertura vacunal mundial correspondiente a la primovacuna desde 1980 a 2018, así como un descenso llamativo de casos desde 1980, sin alcanzar la eliminación. De hecho, en las últimas dos décadas las cifras de incidencia a nivel mundial se mantienen estables.

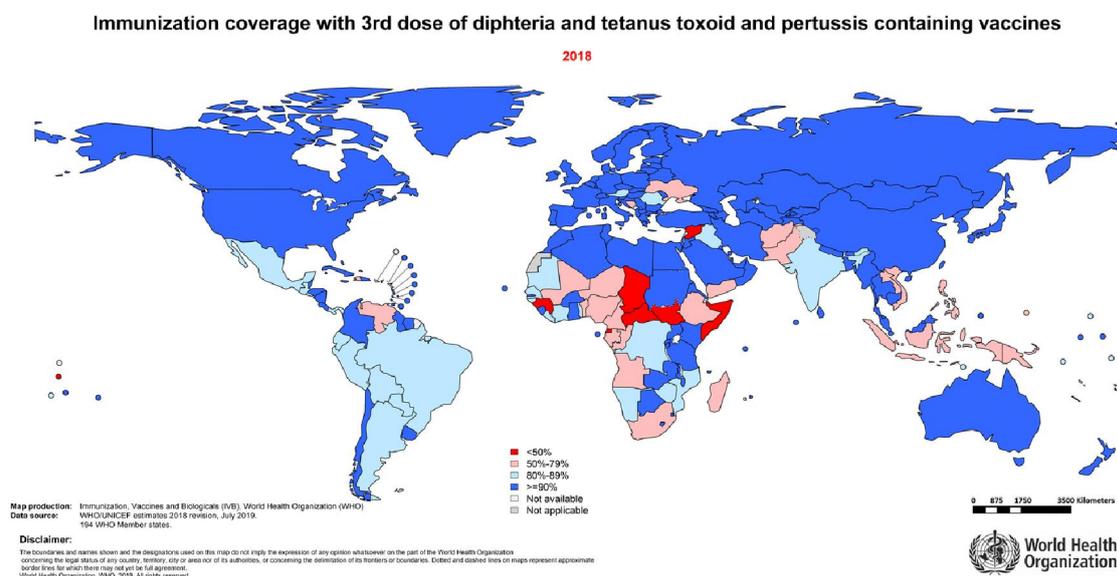
**Pertussis Global annual reported cases and DTP3 coverage 1980-2018**



**Figura 1.** Incidencia y cobertura vacunal con DTP3 (3 dosis de DTP en primovacuna) a nivel mundial desde 1980 a 2018. Datos publicados en julio de 2019 por la OMS (26).

Así mismo, la OMS refiere anualmente la cobertura vacunal a nivel de país (figura 2), lo que permite observar cómo aquellos con menores tasas de vacunación son también los que tienen

menores recursos económicos por habitante, estando localizados fundamentalmente en el África subsahariana (ej. Nigeria, Chad, Sudán del Sur, Somalia) y determinadas regiones asiáticas (ej. Pakistán, Afganistán, Siria, Iraq e Indonesia). Los datos publicados corresponden a la cobertura vacunal del año 2018 según la OMS.



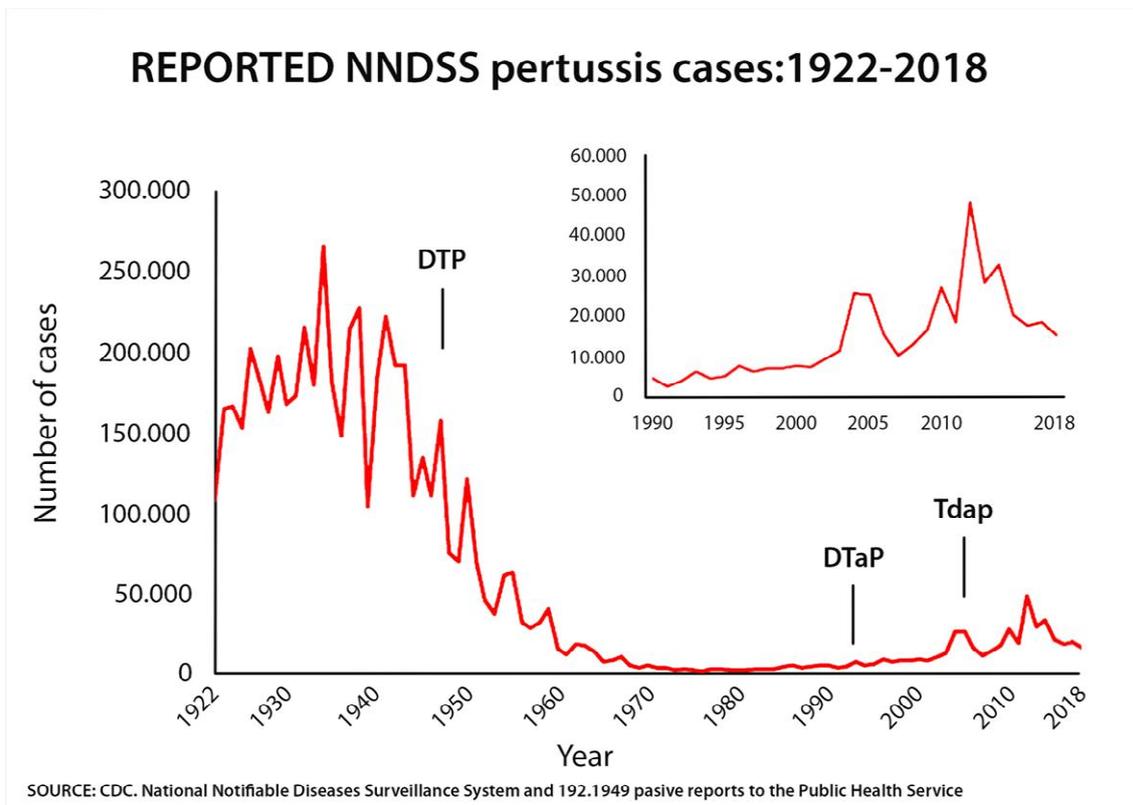
**Figura 2.** Cobertura vacunal por país correspondiente a la primovacunación con tres dosis de DTP en 2018. Datos publicados por la OMS en julio de 2019 (26).

Años tras la introducción de las vacunas acelulares, se observó en algunos países desarrollados con altas tasas de cobertura con dichas vacunas, un aumento de la incidencia de casos de tosferina, sobre todo a expensas de adolescentes y adultos jóvenes. Con el fin de determinar si esta observación estaba fundamentada en hechos objetivos, la OMS (Strategic Advisory Group of Experts [SAGE]) revisó en 2014 la situación de la tosferina en 19 países desarrollados. El análisis (5,27) no llegó a demostrar una amplia resurgencia a nivel global, ni que los aumentos observados en la incidencia en determinados países, fueran debidos a fallos en la inmunogenicidad de las vacunas acelulares. De hecho, la OMS sugirió que probablemente se trata de aumentos debidos en parte a las habituales oscilaciones de incidencia de la tosferina, así como a una mayor disponibilidad de técnicas diagnósticas y una mayor sospecha clínica por parte de los profesionales sanitarios. A pesar de ello, advirtió de un incremento llamativo de incidencia en cinco de los países estudiados (Australia, Chile, Portugal, EEUU y Reino Unido), por lo que deberían tomarse medidas más exhaustivas para la monitorización y control de dichos brotes.

A continuación, se describe brevemente la situación de varios de los países y regiones incluidos en la revisión de la OMS del año 2014.

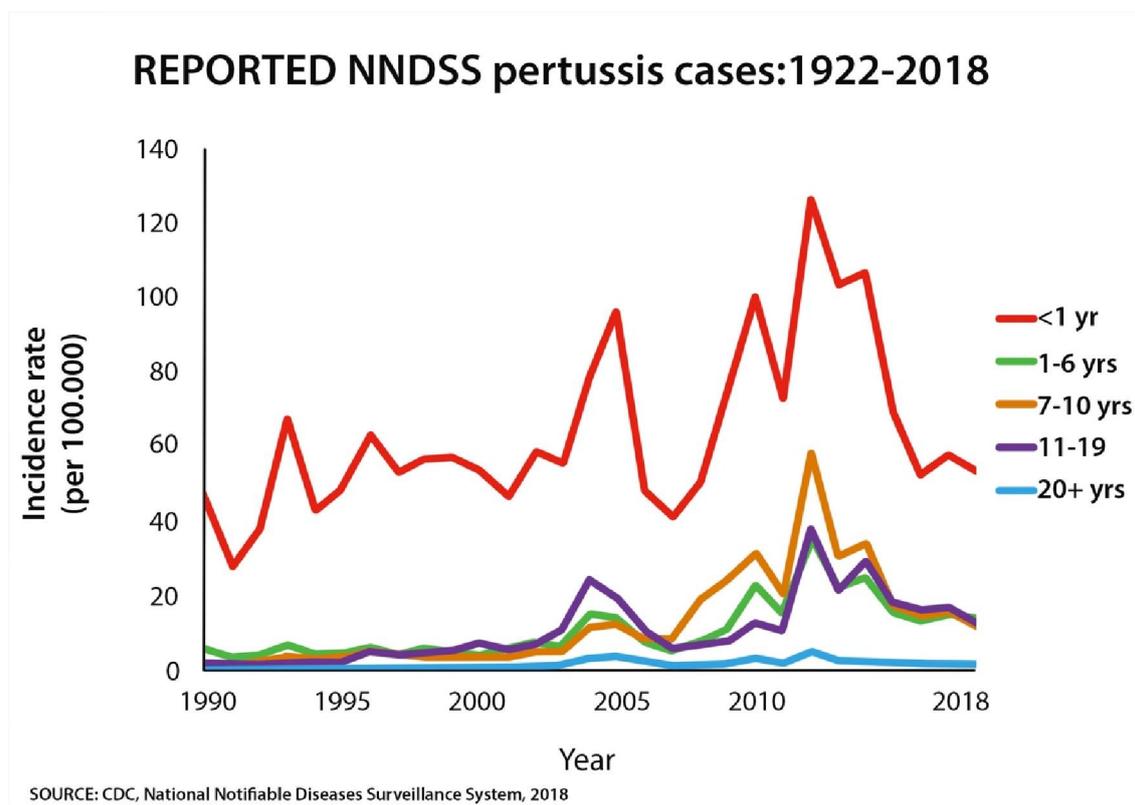
**1.2.3.1.1 EEUU.**

La incidencia de tosferina en Estados Unidos, vigilada desde 1922, alcanzó su máximo pico en 1934, cuando se comunicaron 260.000 casos (figura 3). Después de la introducción de la vacuna en los años cuarenta del siglo pasado, se observó un descenso drástico en la incidencia de la enfermedad, registrándose la mínima en 1976 con 1.010 casos (2).



**Figura 3.** Incidencia de tosferina en EEUU 1922-2018. Datos publicados por los CDC (2).

La vacunación disminuyó la frecuencia de la enfermedad casi en un 99%, pero hacia los años ochenta se observó un cambio de tendencia, con un incremento progresivo (2) que a día de hoy persiste (figura 3 y 4), si bien las incidencias alcanzadas son claramente menores que en la era prevacunal. Los datos de 2018 muestran que esta situación se mantiene, siendo la incidencia global de 4,8 casos/100.000 hab. (15609 casos), con variaciones importantes entre estados (Florida 1,5 casos/100.000 hab.; Maine 33,3 casos/100.000 hab.) (28).



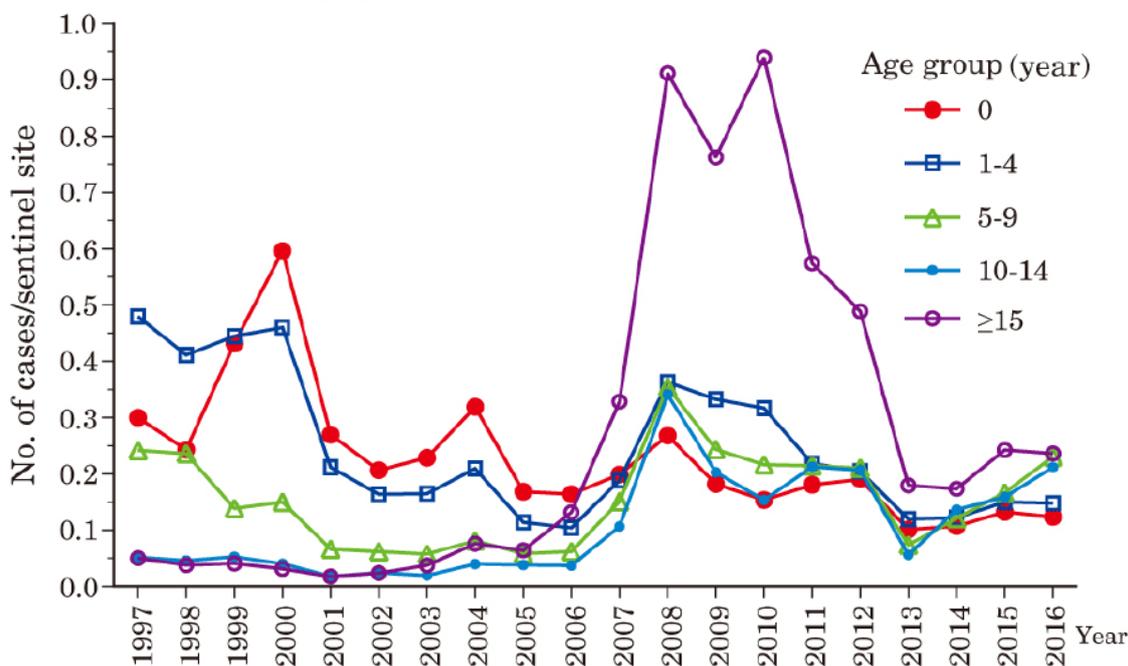
**Figura 4.** Incidencia de tosferina en EEUU desde 1990 al 2018 por grupos de edad. Datos publicados por los CDC (2).

El incremento de la incidencia de tosferina observado sobre todo en el brote del año 2012 (figura 4), afectó sustancialmente a los menores de un año, grupo que como ya se ha comentado previamente, es más vulnerable a las complicaciones. Como siguientes grupos de edad más afectados se encontraron los niños entre 1-10 años, y los adolescentes entre 11-19 años. La OMS no descarta la realización de estudios que analicen la disminución de la protección a largo plazo y, llegado el caso, la revacunación con vacuna acelular de estas cohortes (27).

#### 1.2.3.1.2 Japón

La OMS destacó en su informe sobre este país, un aumento en el número de casos desde 2008 a 2010, especialmente en los adultos mayores de 20 años, considerando necesaria la realización de estudios que esclarezcan las causas de este aumento ya que de los datos disponibles no se pueden obtener conclusiones relevantes. En Japón, se dispone de datos de incidencia groseros, ya que la vigilancia centinela solo ha informado de un número aproximado de casos hasta fechas recientes (figura 5).

Figure 4. Annual number of reported pertussis cases per sentinel site by age group, 1997-2016, Japan



(National Epidemiological Surveillance of Infectious Diseases: as of January 6, 2017)

Figura 5. Número de casos por año en Japón distribuidos por grupo de edad según los centros de vigilancia centinela desde el año 1997 al 2016. Datos publicados por el Servicio Nacional de Vigilancia Epidemiológica de Japón (29).

Sin embargo, desde el 1 de enero de 2018 la tosferina ha sido declarada enfermedad notificable en Japón. Todos los casos deberán ser notificados acompañados de una serie de datos clínicos y epidemiológicos, además de ser confirmados en laboratorio. Se espera que este cambio pueda ofrecer pronto datos más fiables de la situación de la enfermedad en el país (30).

### 1.2.3.1.3 Europa

Con el objetivo de controlar y analizar los brotes de sarampión y tosferina (entre otras enfermedades) ocurridos a nivel europeo, en 1998 se fundó en Europa el grupo EUVAC-NET, una red para la vigilancia epidemiológica y el control de las infecciones prevenibles por vacunas en la Unión Europea y cuyas responsabilidades las asume desde 2011 el *European Centre for Disease Prevention and Control* (ECDC).

Según los datos correspondientes al año 2017 y a 31 países (tabla 1) (31), que incluyen un total de 42.242 casos registrados, la incidencia global de tosferina en los países de esta red europea

fue de 9,7 casos por 100.000 hab. (incidencia similar a la de los tres años previos [9,0-10,8]). Noruega fue el país que declaró una tasa de incidencia más elevada (46,1 casos por 100.000 hab.), seguido de Países Bajos (26,4 casos por 100.000 hab.), Alemania (19,3 casos por 100.000 hab.), Dinamarca (18,6 casos por 100.000 hab.) y Austria (16,1 por 100.000 hab.). Francia y Liechtenstein no aportaron sus casos por lo que aparecen sin datos en esta última publicación (figura 6).

Las tasas de incidencia variaron en gran medida entre países, debido también a diferencias en los sistemas de vigilancia epidemiológica, accesibilidad a métodos diagnósticos más sensibles, pautas vacunales, tipos de vacunas y coberturas de vacunación.

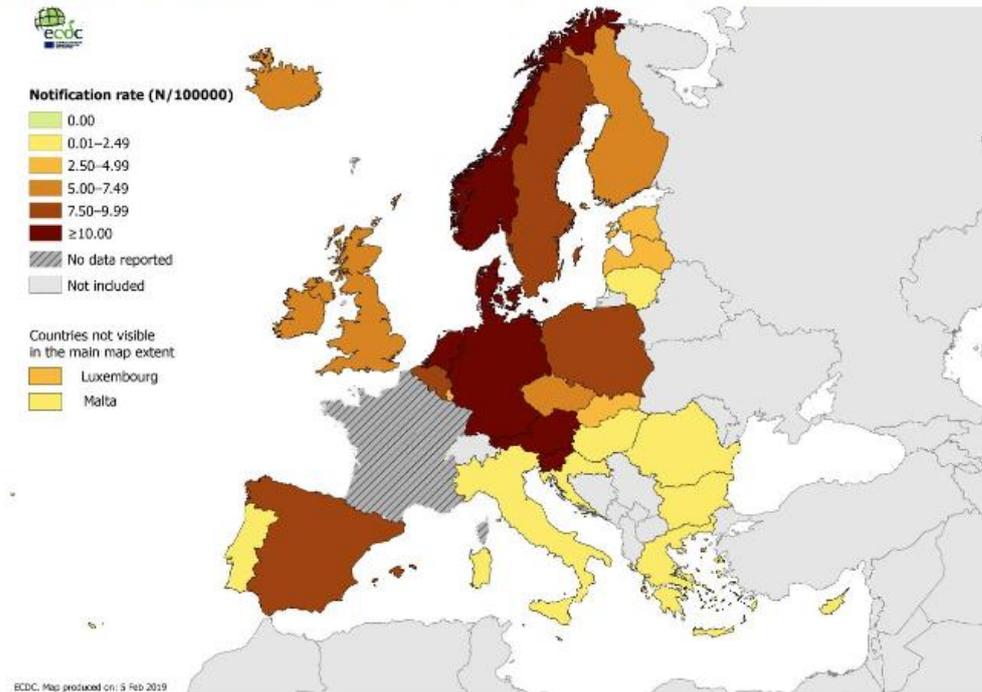
Country	2013		2014		2015		2016		2017			
	Reported cases	Rate	Reported cases	Rate	ASR	Confirmed cases						
Austria	580	6.9	370	4.3	579	6.7	1291	14.8	1411	16.1	16.6	1251
Belgium	799	7.2	1395	12.5	1118	9.9	1325	11.7	1030	9.1	9.0	1030
Bulgaria	89	1.2	52	0.7	35	0.5	98	1.4	116	1.6	1.8	94
Croatia	109	2.6	131	3.1	49	1.2	122	2.9	78	1.9	2.1	57
Cyprus	9	1.0	7	0.8	3	0.4	2	0.2	17	2.0	1.8	15
Czech Republic	1233	11.7	2521	24.0	585	5.6	627	5.9	667	6.3	6.6	541
Denmark	484	8.6	854	15.2	945	16.7	2096	36.7	1068	18.6	18.7	1068
Estonia	55	4.2	43	3.3	77	5.9	74	5.6	56	4.3	4.3	56
Finland	192	3.5	206	3.8	165	3.0	432	7.9	401	7.3	7.4	401
France	166	-	83	-	-	-	60	-	-	-	-	-
Germany	-	-	12019	14.9	8938	11.0	13437	16.4	15957	19.3	20.4	15520
Greece	40	0.4	15	0.1	17	0.2	87	0.8	40	0.4	0.4	31
Hungary	20	0.2	20	0.2	5	0.1	5	0.1	15	0.2	0.1	14
Iceland	31	9.6	-	-	4	1.2	15	4.5	20	5.9	5.4	20
Ireland	174	3.8	73	1.6	118	2.5	213	4.5	263	5.5	4.8	211
Italy	523	0.9	670	1.1	503	0.8	965	1.6	964	1.6	1.8	919
Latvia	201	9.9	82	4.1	210	10.6	256	13.0	94	4.8	5.1	83
Liechtenstein	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
Lithuania	65	2.2	143	4.9	60	2.1	36	1.2	21	0.7	0.8	18
Luxembourg	29	5.4	6	1.1	0	0.0	7	1.2	18	3.0	2.9	18
Malta	3	0.7	1	0.2	0	0.0	0	0.0	8	1.7	1.8	8
Netherlands	2982	17.8	8067	47.9	6178	36.6	5080	29.9	4506	26.4	26.7	4506
Norway	2608	51.6	3032	59.4	1902	36.8	2205	42.3	2424	46.1	45.2	2424
Poland	2182	5.7	2100	5.5	4956	13.0	6828	18.0	3066	8.1	8.4	1088
Portugal	106	1.0	74	0.7	238	2.3	563	5.4	115	1.1	1.3	104
Romania	57	0.3	87	0.4	98	0.5	72	0.4	95	0.5	0.5	45
Slovakia	907	16.8	1123	20.7	334	6.2	289	5.3	191	3.5	3.6	189
Slovenia	169	8.2	399	19.4	68	3.3	127	6.2	214	10.4	11.9	166
Spain	1678	3.6	2607	5.6	6863	14.8	4095	8.8	4069	8.7	9.2	3632
Sweden	237	2.5	703	7.3	603	6.2	679	6.9	805	8.1	8.0	755
United Kingdom	6077	9.5	4043	6.3	5482	8.5	7360	11.3	4513	6.9	6.9	4513
<b>EU/EEA</b>	<b>21805</b>	<b>5.9</b>	<b>40926</b>	<b>9.2</b>	<b>40133</b>	<b>9.0</b>	<b>48446</b>	<b>10.8</b>	<b>42242</b>	<b>9.4</b>	<b>9.7</b>	<b>38777</b>

Source: Country reports. Legend: \* = no data reported, ASR: age-standardised rate

Note: The German case definition includes cases due to B. parapertussis in addition to B. pertussis. Less than 3% of German cases were reported in 2014 and 2015 as B. parapertussis. Cases known to be due to B. parapertussis are excluded from 2016 onwards.

**Tabla 1.** Número de casos de tosferina en los distintos países europeos por 100.000 hab., distribuidos por año desde 2013 a 2017. Datos publicados por el ECDC en 2019 (31).

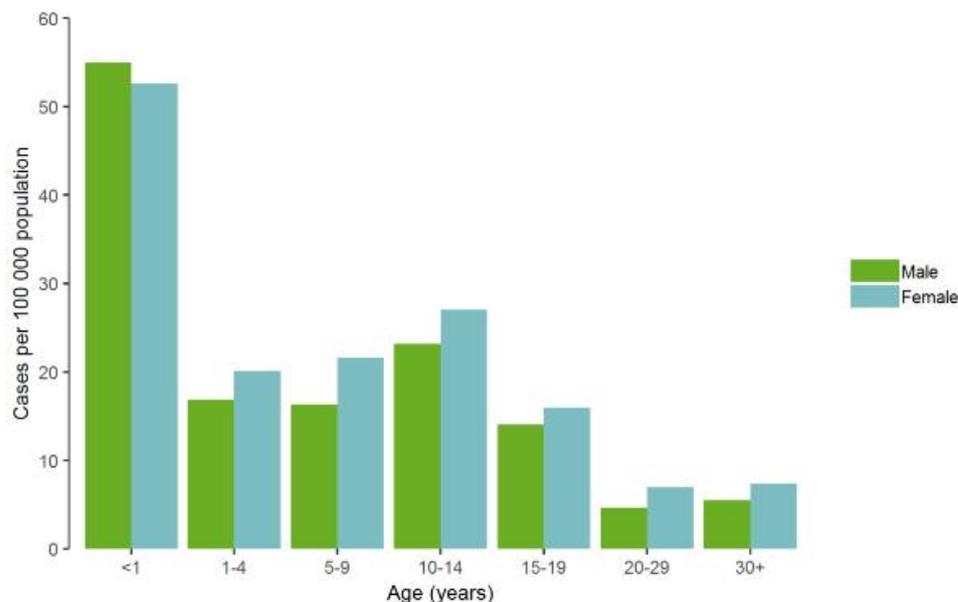
**Figure 1.** Distribution of pertussis cases per 100 000 population by country, EU/EEA, 2017



**Figura 6.** Número de casos de tosferina notificados por 100,000 hab. en los distintos países europeos en 2017. Datos publicados por el ECDC en abril de 2019 (31).

Los datos europeos indican que *B. pertussis* circula en el continente durante todo el año, con ligeros incrementos en verano y otoño. Junio y Julio han sido los meses con mayor número de casos y marzo y noviembre los meses con menos.

La mayor incidencia de tosferina se siguió observando en el grupo de menores de un año (53,9 casos por 100.000 hab.), seguida de la observada en los niños de entre 10 y 14 años (25,0 casos por 100.000 hab.) y los de 5 a 9 años (figura 7). El 70% de los casos ocurridos en niños en su primer año de vida, correspondieron a menores de seis meses. Se comunicaron en el total de la Unión Europea 7 muertes (3 de ellas en menores de tres meses).



**Figura 7.** Distribución de los casos de tosferina por edad y sexo en los países europeos en 2017. Datos publicados por el ECDC en abril de 2019 (31).

#### 1.2.3.1.3.1 Francia

Los datos publicados por la OMS acerca de la incidencia de tosferina en Francia desde 1996 hasta el año 2012 muestran un patrón cíclico de la enfermedad cada 3-4 años, con el pico más reciente en 2012. A pesar de que no se observa un aumento del número de casos distinto al de brotes previos, los datos demuestran un aumento del número de pacientes afectados en el grupo de edad de 5-10 años, por lo que deberá estudiarse si este aumento se debe a una menor protección conferida por la vacunación acelular implantada hace unos años en dicho país o una inadecuada cobertura vacunal. A pesar que en 2015-2017 la cobertura de la primovacuna (3 dosis) y dosis de recuerdo en menores de 2 años se situó en 96-99% (32), el 22% de los menores de 2 años no pretérmino mostraron retraso en la recepción de las dosis de vacuna frente a tosferina (33).

La vigilancia de la tosferina en Francia es limitada. Se basa en la Red Nacional de Vigilancia de la tosferina (RENACOQ) establecida en 1996. Esta red, de vigilancia hospitalaria, descansa en pediatras y microbiólogos de 42 hospitales que declaran voluntariamente, cubriendo aproximadamente el 30% de los casos detectados en hospitales (34,35).

#### 1.2.3.1.3.2 Alemania

Los datos publicados por la OMS desde el año 2002 hasta el 2012 (27) no parecían reflejar un aumento global de la incidencia de tosferina en Alemania, constatándose incidencia

intermedia-baja a lo largo de todo el estudio y con baja tasa de hospitalizaciones. El aumento observado en el grupo de edad entre 10-14 años se atribuyó, al menos en parte, a una mayor utilización de la serología como método diagnóstico, que podría haber sobreestimado dicha incidencia en ese grupo de edad. Sin embargo los datos más recientes del ECDC (2014-2017) (31) confirman circulación importante de *B. pertussis* en ese país, siendo en 2017 el primero de Europa en número absoluto de casos (más de un tercio de los casos europeos han sido notificados en Alemania) y el tercero en incidencia.

### 1.2.3.1.3.3 Reino Unido

En Inglaterra, a pesar de la disminución de la incidencia de la tosferina asociada a la introducción de una pauta acelerada de vacunación (desde 1990 el esquema de primovacunación es a los 2, 3 y 4 meses) (36), las tasas se mantienen altas en los lactantes menores de un año (sobre todo a expensas de los menores de 3 y en menor medida 3-5 meses). Además, desde 2004, y especialmente 2011, ha aumentado la incidencia de la enfermedad en los niños más mayores y en adolescentes (figura 8).

Figure 2b: Incidence of laboratory confirmed pertussis cases, aged 1 year and older, England: 1998-2018\*~

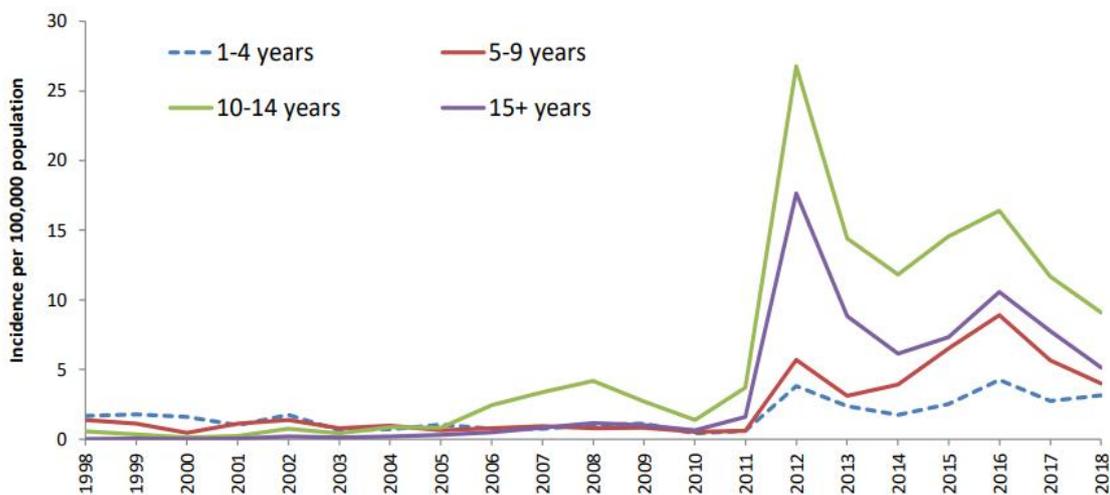


Figura 8. Incidencia de tosferina confirmada en UK por grupos de edad publicado desde el año 1998 al 2018, según datos del Servicio Público de Salud de UK (37).

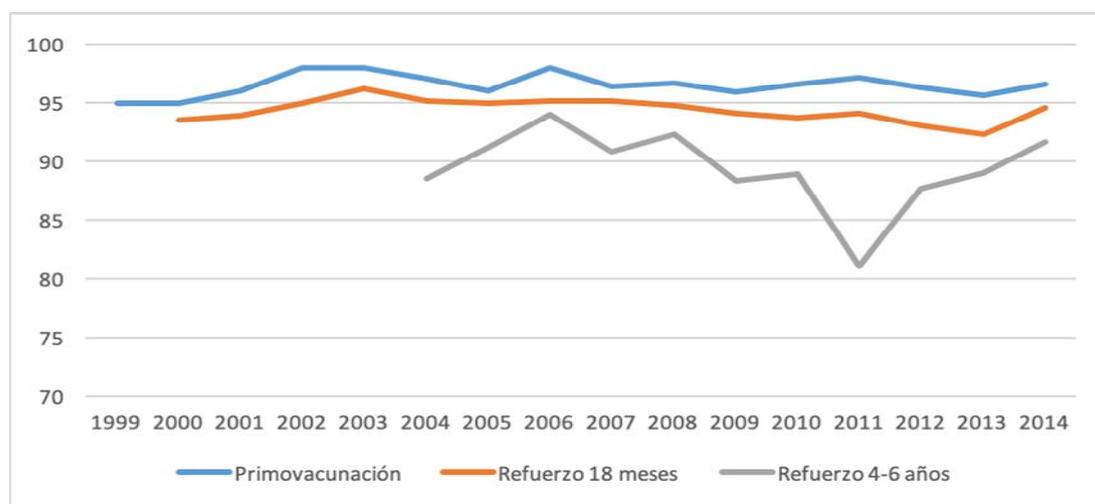
### 1.2.4 Evolución y situación actual de la tosferina en España

### 1.2.4.1 Implantación de la vacunación en España

En España, la vacunación masiva de la población infantil se inició por medio de campañas. La primera Campaña Nacional de Vacunación tuvo lugar en los meses de noviembre-diciembre de 1963 y en ella se administró vacuna antipoliomielítica oral (Sabin). El objetivo era vacunar a todos los niños de entre dos meses y siete años de edad. De una población infantil estimada de 4.400.000 niños, se vacunó a 4.200.000 (95%). Dado el éxito conseguido, las autoridades sanitarias aconsejaron la realización de campañas sistemáticas dos veces al año.

Tras examinar el número promedio anual de defunciones por difteria (195), tétanos (357) y tosferina (198) en el período 1955-1962, se decidió la organización y ejecución de una campaña nacional de vacunación en enero-febrero de 1965 contra estas tres enfermedades, coincidiendo con la campaña frente a la poliomieltis (38). La vacuna fue gratuita y se indicó su administración a todos los niños de tres meses a siete años de edad. La segunda dosis se administraría con un intervalo de seis semanas desde la primera. Esta situación se mantuvo hasta 1974. Entre 1975 y septiembre de 1986 se administraron tres dosis de vacuna a los 3, 5 y 7 meses de edad, pero en octubre de ese año se rebajó la edad de administración de estas dosis a los 2, 4 y 6 meses de edad y se incluyó una cuarta dosis a los 15-18 meses de edad, y entre 2000 y 2001 (según CCAA) una quinta dosis a los 4-6 años de edad. La quinta dosis fue desde el principio acelular, siendo efectuado este cambio (celular a acelular) en las demás dosis en 2004-2005.

La cobertura vacunal de la primovacunación en España es muy elevada, por encima del 95% desde el año 2000 (figura 9). La vacunación de refuerzo presenta una cobertura un poco más baja, situándose ligeramente por debajo del 95% desde el año 2009 (refuerzo de 18 meses).



**Figura 9.** Evolución de las coberturas de vacunación frente a tosferina en España desde 2000 hasta 2014.

Datos publicados por el Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad (39).

### **1.2.4.2 Vigilancia e incidencia de tosferina**

#### **1.2.4.2.1 Notificación de casos**

En España la incidencia de tosferina como enfermedad de declaración obligatoria se registra desde 1982. Desde la creación de la Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica (RENAVE) por el Real Decreto 2210/1995, la tosferina es una enfermedad de declaración individualizada con datos epidemiológicos básicos. Desde 1996 se notifican a la RENAVE todos los casos sospechosos, probables y confirmados de tosferina.

#### **1.2.4.2.2 Incidencia global**

En los años ochenta y noventa se observó un descenso progresivo en la incidencia de tosferina, situándose en 1998 en 0,79 casos/100.000 hab. Posteriormente, entre 1998 y 2016 se han descrito cinco periodos epidémicos (1999-2000, 2003-2004, 2007-2009, 2010-2013 y 2014-2016). Hasta el año 2009 la incidencia de tosferina fue inferior a 2 casos por 100.000 hab. (excepto en el año 2000 en el que se produjo un pequeño pico epidémico). Desde el año 2010 la enfermedad se encuentra en una situación de epidemia sostenida, manteniendo el patrón cíclico, pero siempre en un rango de incidencia superior al de los años previos. La onda 2010-2013 registró su pico máximo en 2012 con 7,45 casos por 100.000 hab. En 2014 se inició una 5ª onda que llegó a su máximo valor en 2015 con 18,04 casos por 100.000 hab., mostrando un marcado aumento de la incidencia de la enfermedad. Los datos correspondientes a 2016 indican una fase descendente de la onda (11,60 casos por 100.000 hab.) (tabla 2) (figura 10) y los comunicados por la RENAVE para 2017 y 2018 indican estabilización, 10,56 y 7,76 casos por 100.000 hab., respectivamente (40).

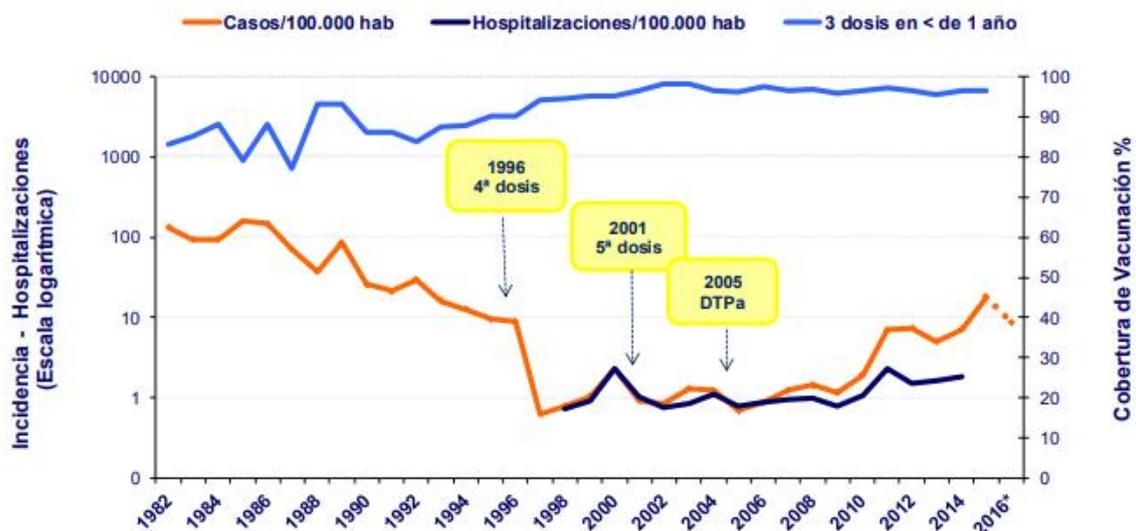
En la Comunidad Autónoma del País Vasco (CAPV), a pesar de que las coberturas vacunales se mantienen por encima del 90%, actualmente se observa una situación epidémica, al igual que en el resto de Europa. Esta situación se inició en 2011, y en 2015 se presentaron las máximas tasas (91,67 por 100.000 hab.).

Año	Casos notificados		Hospitalizaciones		Defunciones	
	Casos (RENAVE)	Casos por 100.000 habitantes	Hospitalizaciones (CMBD)	Hospitaliz. por 100.000 habitantes	Muertes (INE)	Muertes por millón habitantes
1998	315	0,79	295	0,74	0	0
1999	416	1,04	361	0,90	0	0
2000	921	2,29	919	2,28	1	0,02
2001	379	0,93	424	1,04	1	0,02
2002	347	0,84	312	0,76	1	0,02
2003	551	1,31	362	0,86	1	0,02
2004	530	1,24	472	1,11	2	0,05
2005	304	0,70	343	0,79	1	0,02
2006	383	0,87	383	0,87	0	0
2007	554	1,23	422	0,94	4	0,09
2008	663	1,45	454	1,00	5	0,11
2009	538	1,17	366	0,80	3	0,07
2010	884	1,92	494	1,07	3	0,07
2011	3.239	7,02	1057	2,29	8	0,17
2012	3.439	7,45	711	1,54	6	0,13
2013	2.342	5,02	749	1,61	4	0,09
2014	3.535	7,18	856	1,83	5	0,11
2015	8.352	17,99				
2016*	4.087	8,80				

Fuente: RENAVE (Declaración Numérica Semanal), CMBD y Estadística de Mortalidad del INE

Nota: la escala de color representa, para cada columna, los valores más altos de la serie 2016\* datos provisionales

Tabla 2. Casos notificados, ingresos y mortalidad por tosferina en España desde 1998-2016. Datos publicados por RENAVE (41)



**Figura 10.** Tosferina. Incidencia y hospitalizaciones por 100.000 hab./año y coberturas de vacunación con tres dosis. España 1982-2016. Publicados por RENAVE (41).

### 1.2.4.2.3 Incidencia por grupos de edad

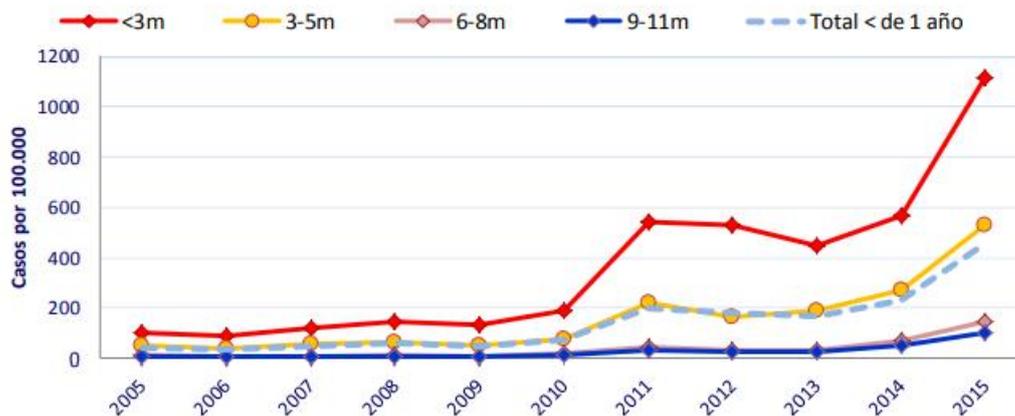
A lo largo del periodo 1998-2015, la incidencia más alta de tosferina se registró en los menores de un año, seguidos de los niños de entre 1-4 años de edad y del grupo de 5-14 años. Desde el año 2010, los casos de tosferina han aumentado en todos los grupos de edad, notablemente en adolescentes y adultos. La incidencia se ha incrementado especialmente en los niños menores de un año, grupo que pasó de 67,8 casos por 100.000 hab. en 2010 a 457,2 en 2015 (tabla 3). En 2016, la incidencia del grupo de 5-9 años de edad ha rebasado a la observada en los de 1-4 años (40).

Grupo de edad	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015
< 1 año	43,9	39,6	107,4	34,8	25,7	55,7	69,5	41,1	34,2	46,3	59,1	47,0	67,8	197,9	177,7	162,5	231,1	457,2
1-4 años	5,6	6,7	11,3	3,1	3,1	5,1	4,4	2,6	5,0	5,6	7,3	6,0	5,2	34,1	39,1	22,0	29,4	89,8
5-9 años	2,3	5,8	13,3	5,0	6,7	2,9	4,2	1,8	1,7	2,2	3,2	2,6	6,1	21,9	21,2	14,7	22,6	74,6
10-14 años	2,3	2,9	5,5	3,6	2,8	3,7	3,6	2,6	2,4	5,0	4,0	1,9	6,1	12,6	19,3	13,8	27,7	68,2
15-49 años	0,1	0,1	0,3	0,2	0,1	0,3	0,2	0,2	0,1	0,2	0,3	0,3	0,5	2,2	3,0	1,9	2,5	7,3
≥50 años	0,0	0,1	0,1	0,0	0,0	0,5	0,0	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,3	1,1	1,3	0,8	1,2	3,7

**Tabla 3.** Incidencia de tosferina por 100.000 hab. por grupo de edad. España 1998-2015. Datos publicados por RENAVE (41).

### 1.2.4.2.4 Incidencia de tosferina en menores de un año

Entre los niños menores de un año, la tosferina ha afectado sobre todo a los menores de tres meses, seguidos de los niños entre 3-5 meses de vida, patrón similar al observado en otros países de la Unión Europea. Desde 2010 la incidencia de tosferina ha aumentado en todos los subgrupos de edad, particularmente en niños menores de tres meses (pasando de 188,0 en 2010 a 1114,3 casos/100.000 hab. en 2015) (tabla 3) (figura 11).

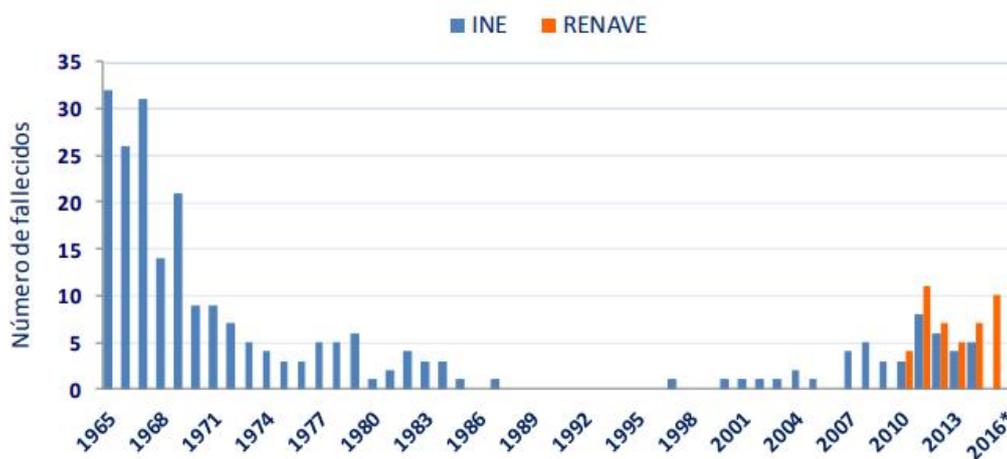


**Figura 11.** Incidencia de tosferina por 100.000 hab./año por grupo de edad en niños menores de un año. España 2005-2015. Datos publicados por RENAVE (41).

#### 1.2.4.2.5 Mortalidad

Según la Estadística de mortalidad del Instituto Nacional de Estadística (INE), la mortalidad de la tosferina disminuyó drásticamente en los años siguientes a la introducción de la vacuna. Entre los años 1985 y 1997 no se registró ningún fallecimiento por tosferina en España. Entre 2000 y 2006 la media anual fue de una muerte, y entre 2007 y 2014 aumentó a 4,7. Todas las muertes registradas correspondieron a niños menores de tres meses.

Entre 2010 y 2016 (datos provisionales para 2016) se notificaron a la RENAVE 47 fallecimientos por tosferina. Comparando ambas fuentes para los años en los que se dispone de información (2010-2014), el INE recogió 26 fallecimientos por tosferina, mientras en la RENAVE se documentaron 34 (figura 12).



**Figura 12.** Defunciones por tosferina según el Instituto Nacional de Estadística (2010-2014) y RENAVE (2010-2016). Datos publicados por RENAVE (41).

## 1.3 MICROBIOLOGÍA

### 1.3.1 Taxonomía

El género *Bordetella* pertenece a la subclase  $\beta$  de las Proteobacterias. Dentro de este grupo se encuentran también los géneros *Achromobacter* y *Alcaligenes* (entre otros), que junto a *Bordetella* forman un grupo de organismos muy relacionados entre sí, al que se ha denominado complejo *Alcaligenes - Achromobacter - Bordetella*. Todos estos géneros pertenecen al orden *Burkholderiales*, familia *Alcaligenaceae* (42).

Hasta el 23 de Mayo de 2018, según el Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria (43) donde se recogen las nuevas especies de bacterias y arqueas aceptadas oficialmente por la Ciencia, han sido aceptadas catorce especies de *Bordetella* (*B. pertussis*, *B. bronchiseptica*, *B. parapertussis*, *B. avium*, *B. hinzii*, *B. holmesii*, *B. trematum*, *B. petrii*, *B. bronchialis*, *B. flavilis*, *B. muralis*, *B. sputigena*, *B. tumbae* y *B. tumulicola*).

El análisis comparativo de secuencias del gen ARNr 16S en el género *Bordetella*, ha demostrado que *B. pertussis*, *B. parapertussis*, *B. bronchiseptica* y *B. holmesii* están estrechamente relacionadas. Las cuatro son consideradas las especies "clásicas" del género *Bordetella* (44). Desde el punto de vista taxonómico, *B. pertussis* y *B. parapertussis* parecen haber derivado, recientemente, de *B. bronchiseptica*. A pesar de que *B. holmesii* parece derivar también de dicha bacteria, los ensayos de hibridación de ADN muestran que no comparte las mismas características en cuanto a expresión de factores de virulencia (45). Estos hallazgos podrían explicar por qué no hay descrito en la literatura ningún fallecimiento asociado a *B. holmesii* (46).

Se han descrito dos linajes distintos dentro de la especie *B. parapertussis*: el ovino (*B. parapertussis<sub>ov</sub>*) y el humano (*B. parapertussis<sub>hu</sub>*). Varios estudios han descartado la transmisión cruzada entre el ser humano y el ganado, ya que cada linaje deriva directa e independientemente de *B. bronchiseptica* (47,48,49) (figura 13).

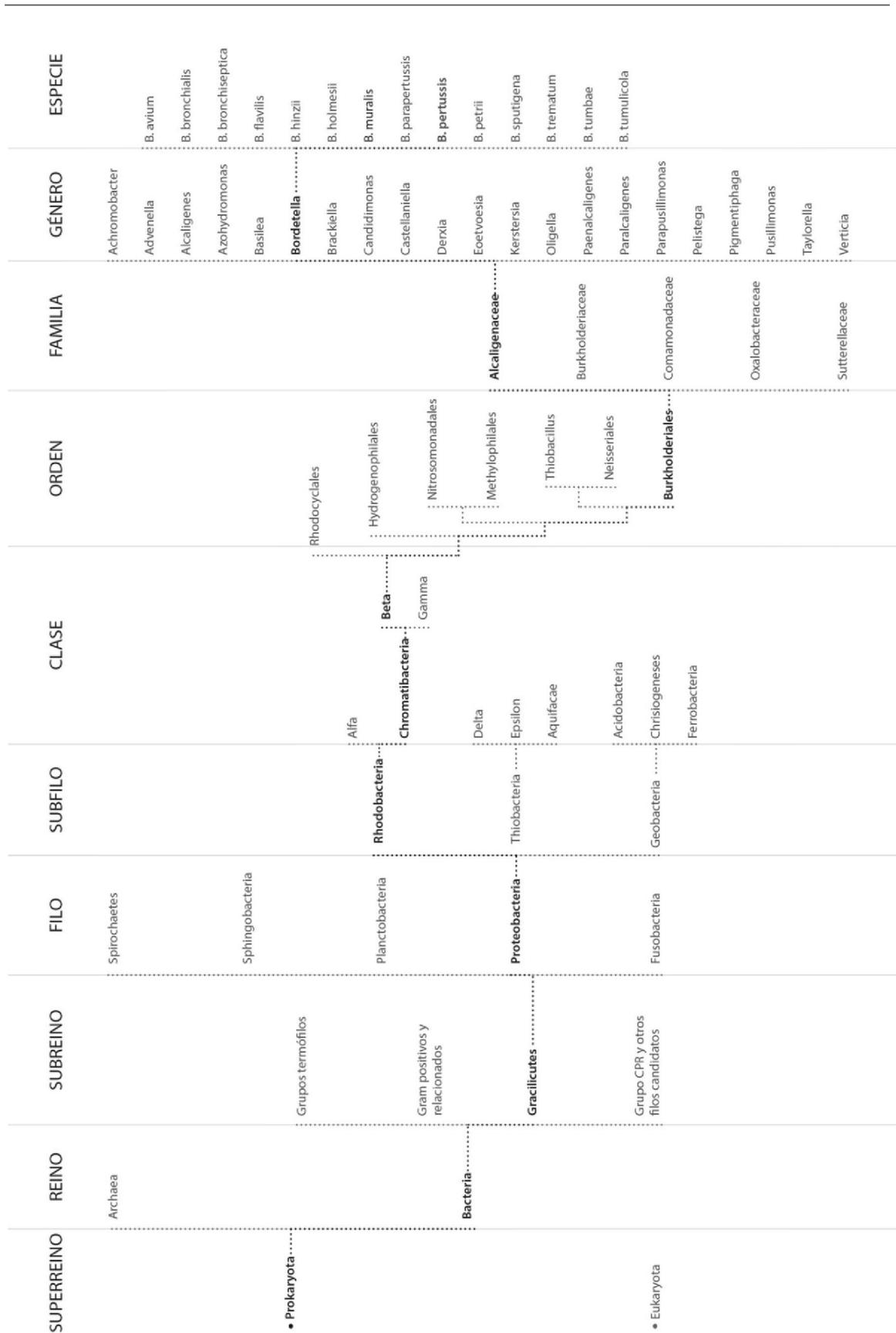


Figura 13. Taxonomía del género *Bordetella*. según el Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria (43).

### **1.3.2 Género Bordetella**

A continuación, se expone una descripción resumida de las especies de *Bordetella*, profundizando en *B. pertussis*, responsable de la mayor morbilidad y mortalidad de entre las especies del género.

#### **1.3.2.1 *Bordetella parapertussis***

*B. parapertussis* fue descrita en 1930 por Pearl Louella Kendrick (1890-1980) y Grace Eldering (1900-1988) (50), ambas conocidas posteriormente por el desarrollo y perfeccionamiento en las décadas de los años 30 y 40 de las vacunas frente a la tosferina y la DTP. Esta especie es responsable de infecciones del tracto respiratorio superior con características similares a las causadas por *B. pertussis*, pero de menor duración e intensidad (51,52,53). La infección por *B. parapertussis* puede estar infraestimada (51,53), y se calcula que entre el 10 y el 15% de los cuadros sugestivos de tosferina podrían estar causados por esta especie. La menor agresividad de esta infección podría contribuir a su menor detección (menos tomas de muestras para estudios microbiológicos).

#### **1.3.2.2 *Bordetella bronchiseptica***

*B. bronchiseptica* coloniza la mucosa respiratoria de algunos mamíferos (principalmente perros, cerdos y conejos), que actúan como reservorio de la enfermedad (54). A pesar de ello, en pocas ocasiones se considera causante de enfermedad en humanos, habiendo recogidos en la literatura pocas decenas de casos. Desde que se describió por primera vez en 1911 (55,56), *B. bronchiseptica* ha sido aislada fundamentalmente en pacientes inmunodeprimidos (57,58), y más raramente inmunocompetentes (59). Hoy en día continúa siendo una especie poco conocida.

#### **1.3.2.3 *Bordetella holmesii***

*B. holmesii*, descubierta en 1983 (60), se asocia a infecciones de vía respiratoria superior en humanos (61). Es difícil conocer la prevalencia de la infección debido a la dificultad para diferenciar *B. holmesii* de *B. pertussis* por las técnicas microbiológicas convencionales (es frecuente amplificar la secuencia IS481 para detectar *B. pertussis*, a pesar de que ambas especies la comparten, por lo que se puede producir infradetección de *B. holmesii*) (61). A raíz de estos hallazgos, en Barcelona se ha realizado una revisión de las muestras consideradas positivas para la infección por *B. pertussis*, describiéndose que en 2015 y 2016 un 3,9% y 8,8% respectivamente del total de muestras consideradas positivas a *B. pertussis* correspondían a *B. holmesii* (62). En otro estudio reciente, realizado en Ohio en 2010 (63), se detectó *B. holmesii*

hasta en un 32% de las muestras de pacientes que presentaban síntomas sugestivos de tosferina, sobre todo afectando a adolescentes. La bacteria puede originar síntomas indistinguibles de tosferina, en ocasiones con clínica más leve y breve (63,64). En general, las infecciones por *B. holmesii* son leves o moderadas, aunque se han descrito cuadros graves (65), siendo la mortalidad baja (61,63,65). A diferencia de *B. pertussis*, se han descrito varios casos de bacteriemia (generalmente en pacientes inmunocomprometidos) (65), endocarditis (66) y meningitis (67), entre otros. Sorprendentemente, un porcentaje significativo de los casos reportados se han producido en pacientes con asplenia anatómica o funcional, por lo que el estado de inmunodeficiencia se considera factor de riesgo para esta infección (46).

#### 1.3.2.4 Especies de *Bordetella* patógenas inusuales

*B. hinzii*, fue descrita en 1995 (68), como agente causante de bacteriemia en un paciente inmunodeprimido sin sintomatología respiratoria (69). Esta especie causa infecciones respiratorias en aves domésticas, siendo éste su principal reservorio (70), aunque también se han señalado otros reservorios posibles, como roedores (71,72) y conejos (73). Hasta la fecha se ha descrito menos de una decena de casos asociados a infecciones respiratorias y bacteriemia, especialmente en inmunocomprometidos (74), aunque también raramente, en personas previamente sanas (75). Por el momento, sólo se ha descrito en la literatura un caso mortal, secundario a una sepsis en un paciente sin antecedentes personales de interés (76).

*B. trematum*, descubierta en 1996, ha sido detectada en pacientes con otitis media crónica, úlceras en diabéticos y heridas de piel (77,78,79). En 2015 se refirió un caso de bacteriemia en una mujer diabética (80).

*B. petrii*, fue descrita en 2001 (81). Su papel como patógeno no está claro, si bien se han referido casos de infección en humanos, especialmente en afectados por fibrosis quística (58,82), bronquiectasias (83,84), osteomielitis y artritis séptica (85,86). Esta bacteria puede persistir en pacientes con enfermedades pulmonares obstructivas crónicas e infecciones óseas.

*B. avium*, es responsable de la rinotraqueítis de las aves de corral, enfermedad de las vías respiratorias superiores que se asemeja a la infección producida por *B. pertussis* en humanos (87). La bacteria se ha aislado recientemente en muestras respiratorias de unos pocos pacientes con fibrosis quística (58,88).

### 1.3.2.5 Especies recientemente descritas

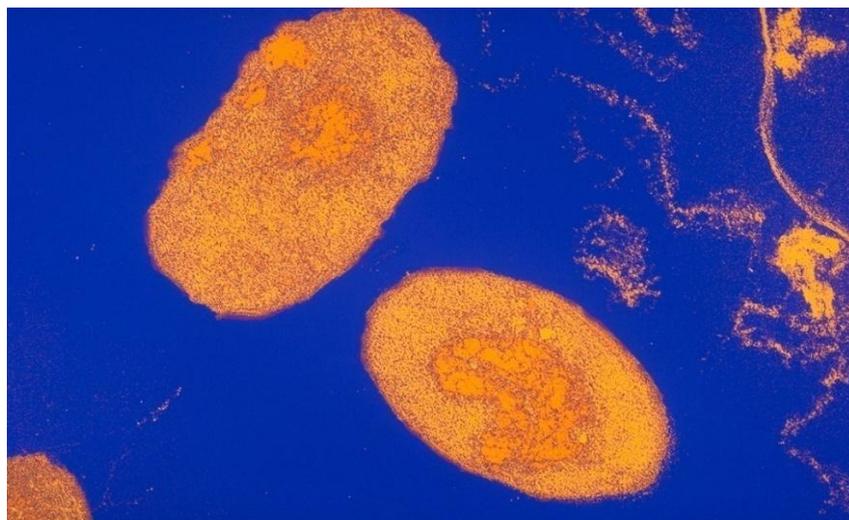
*B. bronchialis* fue descubierta en 2001, y ha sido aislada en varios cultivos de pacientes afectados de fibrosis quística (89). En este mismo grupo de pacientes se han aislado recientemente otras especies nuevas del mismo género, como *B. flavilis* (2006) y *B. sputigena* (2008) (90).

*B. tumbae*, *B. muralis*, y *B. tumulicola* han sido descritas (2015) en Japón y no se han asociado a un huésped e infección determinados (91). Una especie adicional, que constituye la quinceava del género, *B. pseudohinzii* ha sido descrita en ratones (92). Por último, se describió en 2005 la posible nueva especie *B. ansorpii*, tras cultivarse del material purulento de un quiste epidérmico (93). Sólo se ha referido desde entonces otro caso, en un paciente oncológico en el que se aisló el germen en relación a una infección de catéter venoso central (94). La designación de esta especie es provisional (<http://www.bacterio.net/bordetella.html>) (acceso diciembre de 2019).

### 1.3.2.6 BORDETELLA PERTUSSIS

#### 1.3.2.6.1 Características

*B. pertussis* es un cocobacilo pequeño gramnegativo (95), pleomórfico (en cultivos envejecidos puede adquirir forma filamentosa), que se dispone en forma aislada o en parejas, con un tamaño de 0,2-0,5  $\mu\text{m}$  x 0,5-2  $\mu\text{m}$ , aerobio estricto, inmóvil, encapsulado, no productor de esporas y de crecimiento lento (95).



**Figura 14.** Imagen de *Bordetella*, procedente de microscopía electrónica, realizada por Sanofi Pasteur (96).

### 1.3.2.6.2 Viabilidad en el medio ambiente

Recientemente se ha demostrado que varias especies del género *Bordetella* pueden sobrevivir en el medio ambiente, sin necesidad de asociarse a un huésped para su crecimiento (81). Sorprendentemente, estas especies se han encontrado en muestras de suelo, agua, sedimento, superficie de metales pesados e incluso plantas. Mediante el análisis de la secuencia de ARNr 16S, se ha demostrado que las especies que se encuentran en el ambiente son más diversas y por tanto más antiguas y a su vez, menos patógenas que las que se aíslan en animales. Por tanto, se podría asumir que las bacterias asociadas a infecciones en aves y mamíferos (incluidos los humanos), derivan de otras ancestrales localizadas en el ambiente que nos rodea. La asociación de estas *Bordetella* ambientales con especies de amebas pudo haber sido un paso intermedio en la evolución de las cepas ambientales a bacterias patógenas, capacitándolas para resistir la fagocitosis tanto de protistas como de células inmunes de mamíferos. Las bacterias que llegaron así a mamíferos se especializaron en especies concretas de mamíferos muy numerosas, que por tanto apoyaban una fácil transmisión (ej. *B. pertussis* y humanos). Esto fue seguido de una reducción importante de su genoma, perdiendo aquellos genes que ya no necesitaba para sobrevivir en este nuevo medio en el que es más fácil encontrar nutrientes (97).

*Bordetella pertussis* se considera de reservorio exclusivamente humano. A diferencia de otras especies del género (*B. bronchiseptica*, *B. hinzii*, *B. petrii*, *B. tumbae*, *B. muralis* y *B. tumulicola*), no se ha hallado en el ambiente. Sin embargo, se ha demostrado que es capaz de sobrevivir hasta 3-5 días en superficies secas e inanimadas, cinco días sobre ropa, dos días sobre papel y seis sobre vidrio (98). Además, sobrevive hasta 3-4 horas en aspiraciones nasofaríngeas y en expectoraciones, salvo que las muestras hayan sido inmediatamente conservadas a -80°C (99,100), en cuyo caso la viabilidad es muy prolongada (meses/años).

### 1.3.2.6.3 Factores de virulencia

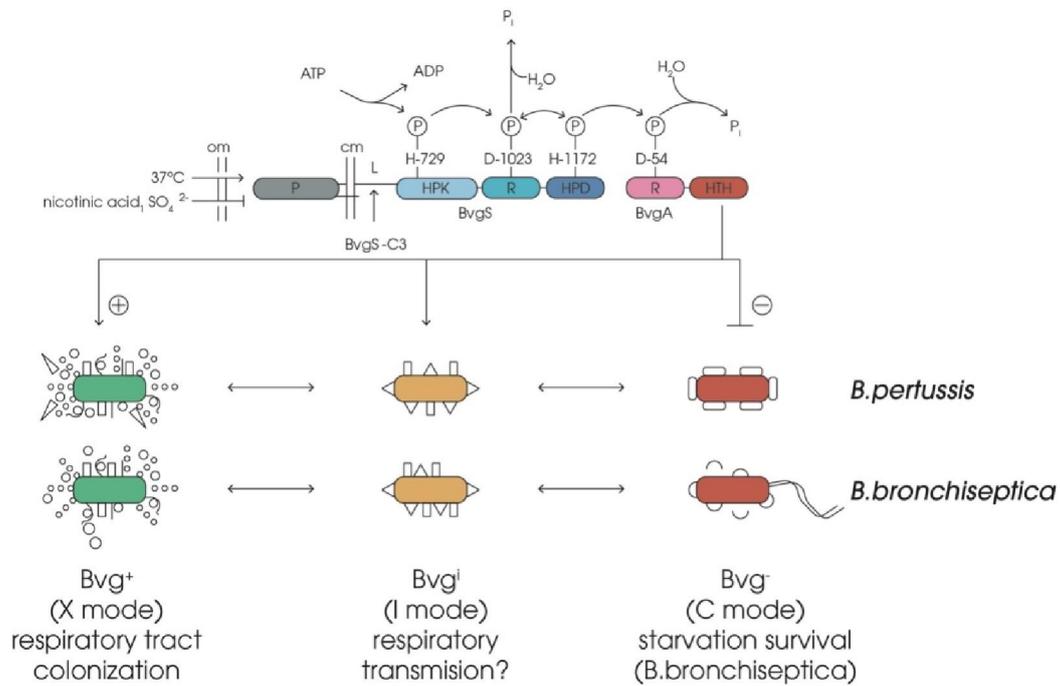
La adherencia a las células epiteliales respiratorias ciliadas se considera un paso crítico en la patogénesis de *Bordetella*, produciendo daño tisular localizado. *B. pertussis* se adhiere únicamente a los cilios del epitelio que recubre nasofaringe, tráquea y bronquios.

En la patogenicidad de *B. pertussis* intervienen una serie de factores de virulencia, entre ellos varias toxinas, factores de adhesión y otros que interfieren con la actividad fagocítica. La expresión de la mayoría de estos factores está regulada o modulada en respuesta a cambios en

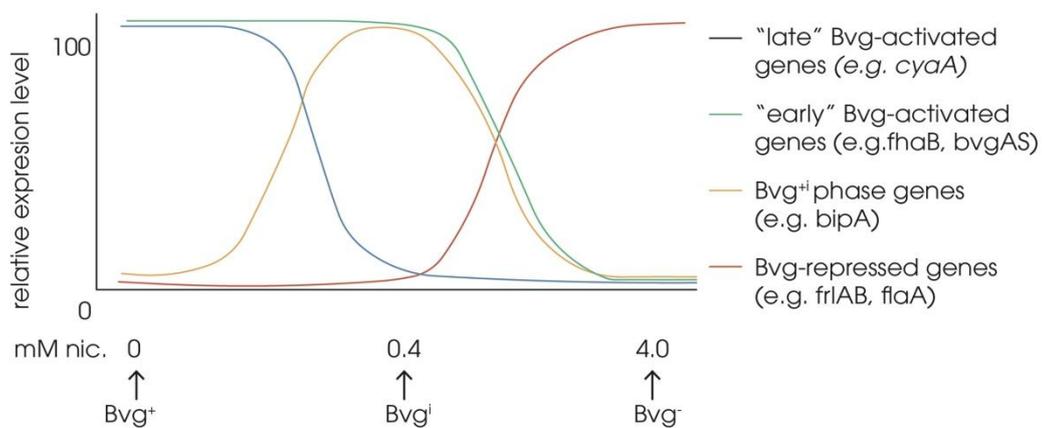
las condiciones ambientales a través de un sistema de transducción de señales de dos componentes del sensor/activador denominado BvgAS (*Bordetella* virulence gene activador/sensor) (figura 15). Este sistema está involucrado en el cambio de estado del microorganismo de su fase virulenta (conocida como Bvg<sup>+</sup>) a su fase no virulenta (conocida como Bvg<sup>-</sup>) (45).

Estudios *in vitro* han demostrado que el sistema BvgAS controla la expresión diferencial de distintos genes asociados con la virulencia a lo largo de tres fases fenotípicas (101) (figura 16):

- La fase virulenta o Bvg<sup>+</sup> se inicia cuando la bacteria crece a 37°C. En ese momento se fosforila el gen BvgA favoreciendo la expresión de los genes *vag* (*virulence activated genes*), los cuales codifican factores de virulencia. Estos genes se pueden diferenciar de acuerdo con su expresión temporal en genes tempranos (codifican adhesinas) y genes tardíos (codifican toxinas).
  - Los genes *vag* tempranos, codifican adhesinas (hemaglutinina filamentosa y fimbrias), responden rápidamente a la activación, y requieren bajas concentraciones de BvgA fosforilado para su inducción.
  - Los genes *vag* tardíos codifican toxinas (adenilato ciclasa y toxina pertussis) y presentan una cinética de inducción relativamente lenta, requiriendo mayores niveles de BvgA fosforilado para su expresión.
  - El gen que codifica la molécula pertactina, pertenece a la clase de genes que requieren concentraciones intermedias de BvgA fosforilado.
- La fase no virulenta o Bvg<sup>-</sup> se identifica por la ausencia de expresión de los genes *vag* y por la expresión de los genes *vrg* (*virulence repressed genes*). Este último estado involucra la expresión de otros genes que le confieren a la bacteria mecanismos de supervivencia en condiciones limitantes de nutrientes.
- La fase intermedia o Bvg<sup>i</sup> (etapa de transición entre las fases Bvg<sup>+</sup> y Bvg<sup>-</sup>) se caracteriza por la expresión de los genes *vag* tempranos, el gen BvgAS y el *bipA*. Es un estado de expresión intermedio en el cual hay una buena adaptación al medio y la bacteria puede sobrevivir bajo determinadas condiciones de nutrientes, pH y temperatura.



**Figura 15.** Esquema del sistema de dos componentes BvgAS y de su mecanismo de activación [modificado de Mattoo et al., 2005 (45)].



**Figura 16.** Curvas de expresión relativa de las cuatro clases de genes [modificado de Mattoo et al., 2005 (45)].

La demostración *in vivo* de estos procesos aún no ha sido del todo realizada. Se cree que, durante los primeros estadios de colonización, *B. pertussis* no expresaría las proteínas codificadas por los genes *vag* (bacteria en fase Bvg<sup>-</sup>). Posteriormente, la expresión de adhesinas (fase Bvg<sup>i</sup>) inducidas por un cambio a las condiciones del entorno, favorecería la interacción con las células del epitelio respiratorio. Tras esta etapa, la expresión de las toxinas

propias de la fase Bvg<sup>+</sup> generaría la alteración de los mecanismos de defensa del huésped (45). Recientemente se han descrito unos 500 genes asociados al sistema BvgAS, que en la fase no virulenta podrían estar participando, mediante múltiples y variadas rutas metabólicas, en la supervivencia, transmisión y/o persistencia bacteriana (102).

#### 1.3.2.6.4 Moléculas de adhesión

Las moléculas de adhesión constituyen uno de los principales mecanismos patógenos del género *Bordetella*, sobre todo en el primer momento de la infección. A continuación, se describen las moléculas más relevantes de esta familia.

- **Hemaglutinina filamentosa.** La hemaglutinina filamentosa (FHA) es una proteína de membrana cuya función principal consiste en facilitar la adhesión de *B. pertussis* a la superficie de las células epiteliales ciliadas del aparato respiratorio superior. Esta molécula es muy inmunogénica, por lo que es un componente primario de la mayoría de las vacunas acelulares (103). Perteneció al grupo de genes vag tempranos y se expresa en las fases Bvg<sup>+</sup> y Bvg<sup>i</sup>.

Los análisis inmunológicos basados en la estructura de la proteína, sugieren que las FHA que se encuentran en *B. pertussis* y *B. bronchiseptica* son similares en masa molecular, dimensiones de su estructura y propiedades de hemaglutinación. Además tienen epítopos inmunogénicos similares (104). La FHA es una molécula de 220 kDa, sintetizada por un precursor, *fhaB*. Una vez sintetizada, puede permanecer anclada a la membrana celular bacteriana o secretarse al medio extracelular. Gracias a varias regiones que codifican distintos dominios, la FHA es capaz de unirse tanto a células epiteliales ciliadas como a monocitos/macrófagos *in vitro* (105). Se ha observado, en estudios recientes en modelos en ratas, que la FHA es necesaria, pero no suficiente, para la colonización traqueal en animales sanos. Así mismo, parece que puede actuar como inmunomoduladora, debido a que se podría unir a receptores de células fagocíticas del huésped, bloqueando su capacidad para reconocer dicha molécula (106).

Analizando los genomas de *B. pertussis*, *B. bronchiseptica* y *B. parapertussis*<sub>hu</sub>, se ha descubierto la existencia de dos genes, *fhaS* y *fhaL*, que codifican proteínas similares a FHA, con diferencias mínimas en sus secuencias internas. La afinidad de cada especie a distintos huéspedes podría estar explicada, en parte, por variaciones en los genes codificantes de las moléculas del grupo FHA.

- **Fimbrias.** Como muchas otras especies de bacterias gramnegativas, *Bordetella* expresa proteínas de membrana tipo fimbria. Las fimbrias son estructuras proteicas poliméricas de tipo filamentoso localizadas en la superficie de *B. pertussis*, conformadas por dos subunidades, una mayor y una menor. Existen dos serotipos predominantes de fimbrias, Fim2 (22,5 kDa) y Fim3 (22 kDa), codificadas en los loci cromosómicos fim2 y fim3, respectivamente, que comparten una subunidad menor común denominada FimD. Estos dos serotipos son expresión de genes tempranos, y por lo tanto Fim2 y Fim3 están presentes tanto en fase Bvg<sup>+</sup> como Bvg<sup>i</sup>. El análisis de la secuencia genética de *B. pertussis*, *B. bronchiseptica* y *B. parapertussis*<sub>hu</sub> muestra que las tres especies contienen Fim2 y Fim3, pero el extremo C-terminal de Fim2 es variable en *B. pertussis* (45).

La unión al epitelio, como antes se ha referido, es un paso clave para la infección de *B. pertussis*. A pesar de que las fimbrias están implicadas en este proceso, su papel en la fisiopatología de la tosferina no es del todo conocido. Una de las razones es la dificultad de estudiar la capacidad de adhesión de las fimbrias en modelos animales, debido a que el huésped de *B. pertussis* es exclusivamente humano. En algunos estudios (107) se ha demostrado la habilidad de las fimbrias para unirse a la superficie de monocitos, produciendo la activación de una cascada que resulta en la activación de la FHA previamente comentada.

En estudios animales a partir de modelos en rata y ratón (108), se han utilizado cepas de *B. bronchiseptica* y *B. pertussis* desprovistas de fimbrias pero con FHA intacta, para conocer el papel de estas moléculas en la adhesión bacteriana. Los resultados concluyen que las fimbrias son fundamentales para el establecimiento de una colonización nasofaríngea eficiente, así como para la permanencia de la bacteria en la tráquea y la generación de respuesta inmune humoral (107). En cuanto al estudio de la respuesta inmune, destacan varios estudios realizados con cepas desprovistas de fimbrias de la especie *B. bronchiseptica*. En ellos se demuestra que las fimbrias desempeñan un papel inmunomodulador porque actúan como antígenos T-independientes para una respuesta temprana IgM e inducen una respuesta de tipo Th2. En conjunto, los resultados sugieren que la interacción de las fimbrias con el epitelio ciliado y los monocitos/macrófagos puede desempeñar un papel importante no solo en la adherencia sino en la naturaleza y magnitud de la respuesta inmune a la infección por *Bordetella*. Además, se ha observado una correlación directa entre la presencia de anticuerpos anti-fimbria y la protección contra *B. pertussis*, lo que ha

conducido a la inclusión de *Fim2* y *Fim3* como antígenos en algunas vacunas acelulares (108).

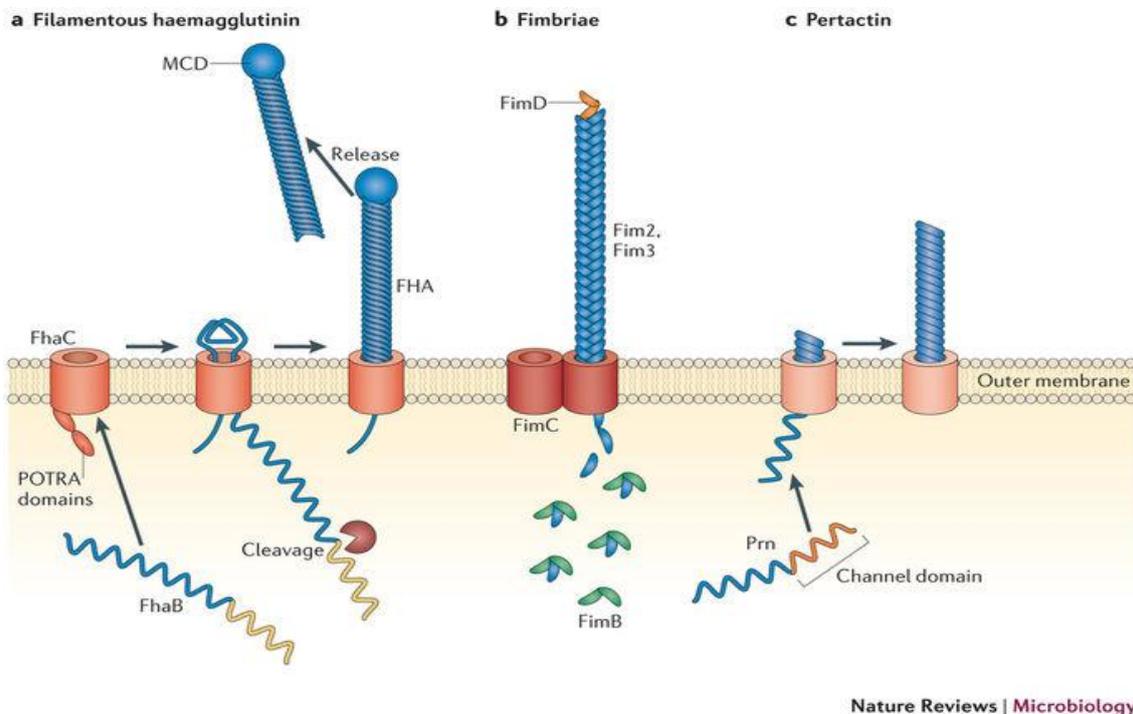
- **Pertactina y otros autotransportadores.** El género *Bordetella* expresa en su membrana numerosas proteínas que pertenecen a la familia de los autotransportadores. Esta familia incluye proteínas funcionalmente diferentes como proteasas, adhesinas, toxinas y lipasas (figura 17). El primer autotransportador identificado y caracterizado ha sido la pertactina. En la especie *B. bronchiseptica* constituye una proteína de 68 kDa, en *B. pertussis* de 69 kDa y en *B. parapertussis*<sub>hu</sub> de 70 kDa. La molécula pertactina de estas tres especies difiere en el número de regiones ricas en prolina, que son dominios potencialmente involucrados en la adhesión de la bacteria a células del hospedador.

La pertactina es fruto de un gen de expresión intermedia, que por tanto es expresado tanto en fase Bvg<sup>+</sup> como Bvg<sup>i</sup>. Existe controversia sobre el papel de la pertactina y del resto de autotransportadores en el mecanismo de adhesión celular. Tanto *in vitro* como en modelos animales (ratas) no se ha conseguido demostrar que al inhibir estas proteínas, las bacterias tengan menos capacidad invasora (109). A pesar de esto, la pertactina parece ser un fuerte y potencial inmunógeno (110). Se ha señalado que las vacunas que contienen pertactina son estadísticamente más eficaces para prevenir la infección por *B. pertussis* (111).

Se ha referido la emergencia de cepas de *B. pertussis* que no expresan pertactina. En EEUU se describió una cepa con estas características en 1994, pero no se aislaron nuevas cepas sin pertactina hasta el 2010. Posteriormente y hasta el 2012 ha aumentado exponencialmente su aislamiento siendo pertactin-deficientes el 50% de las cepas detectadas en 2012 (112). Por otra parte, en Europa se han llevado a cabo varios estudios para conocer la prevalencia de cepas deficientes en pertactina, empleándose aislamientos de Dinamarca, Holanda, Finlandia, Noruega, Suecia y Reino Unido (113). La conclusión de dichos estudios ha sido que, entre 2007 y 2012 estas cepas constituyeron aproximadamente un 3-4% de las estudiadas, y se distribuyeron de manera desigual entre los distintos países, con tendencia a expandirse conforme pasan los años. Una hipótesis para explicar el aumento de este tipo de cepas sugiere que esté relacionado con la utilización de vacunas acelulares (114).

Otras proteínas autotransportadoras, identificadas como factores de virulencia de *B. pertussis*, incluyen: *TcfA*, originalmente clasificada como un factor de colonización traqueal, conocida por ser la única de las proteínas autotransportadoras no asociada a

la membrana celular; *SphB1*, proteasa que media la liberación de FHA al medio extracelular; *Vag8*, cuya función aún se desconoce; y *BrkA*, que confiere a *B. pertussis* cierta resistencia a la activación de la vía clásica del complemento (45).



**Figura 17.** Posición de la hemaglutinina filamentososa, las fimbrias y la pertactina en la pared bacteriana [modificado de Melvin et al., 2017 (115)].

### 1.3.2.6.5 Toxinas

La mayoría de las toxinas producidas por el género *Bordetella* son proteínas, excepto los lipopolisacáridos. Al igual que las moléculas de adhesión, estos elementos son importantes para el desarrollo de la infección, y actúan una vez la bacteria ha conseguido adherirse al epitelio ciliado del aparato respiratorio del huésped. A continuación, se describen las toxinas más importantes del género *Bordetella* (figura 18).

- **Toxina adenilato ciclasa.** Todas las especies del género *Bordetella* que infectan mamíferos producen esta molécula. Pertenece a la familia de las toxinas que forman poros en la membrana plasmática de las células diana, y es una proteína de expresión tardía por lo que únicamente está presente en la bacteria en fase virulenta, Bvg<sup>+</sup>. La toxina es una proteína bifuncional con un dominio N-terminal que presenta actividad adenilato ciclasa y un dominio C-terminal que media la liberación del dominio catalítico dentro del citoplasma

de las células del huésped, y posee baja (pero detectable) actividad hemolítica para glóbulos rojos (116).

La toxina permanece asociada a la superficie celular bacteriana, y solo una pequeña parte es liberada al medio. Su mecanismo de actuación tiene dos fases. En la primera, la molécula se une a la superficie celular, posiblemente a gangliósidos, y para ello se requiere la integridad de su extremo C-terminal. El segundo paso consiste en la liberación del dominio catalítico dentro del citoplasma de la célula diana, a través del poro formado en la membrana plasmática por el dominio C-terminal. Este proceso es dependiente de la temperatura, del potencial de membrana y de la concentración de calcio. Una vez en el interior de la célula diana, aumenta los niveles de cAMP, lo que resulta por ejemplo, en la inhibición de la función de los fagocitos (bloqueo temporal a los receptores CR3 presentes en la superficie de los macrófagos e inhibición de la fagocitosis dependiente del complemento por neutrófilos) y produce una activación de la apoptosis (117).

Estudios en modelos animales han demostrado que esta toxina es uno de los factores de virulencia más importantes de *B. pertussis*. Tiene la habilidad de modular la respuesta del sistema inmunológico, inhibe la fagocitosis (puede inducir apoptosis en macrófagos *in vitro* e *in vivo*) y los mecanismos oxidativos en neutrófilos humanos (118). Además, la unión de la toxina a los eritrocitos eventualmente conduce a su lisis, debido a la capacidad de formar poros en la membrana.

Se ha considerado la posibilidad de incluir esta toxina como un nuevo componente de las vacunas contra el agente causal de la tosferina, ya que la inmunización con adenilato ciclasa inactivada, en combinación con otros componentes de las vacunas acelulares, protege significativamente contra *B. pertussis* (119). Sin embargo, la acción sobre los mecanismos de la inmunidad y posibilidad de efectos indeseados aún no conocidos han hecho que de momento, se haya desestimado su inclusión en las vacunas acelulares (120).

- **Toxina dermonecrótica.** Es uno de los primeros factores de virulencia descritos en la literatura. Bordet y Gengou, como antes se ha referido, fueron los primeros en aislar la bacteria en 1906 y describieron la toxina dermonecrótica tres años más tarde (121). Esta toxina es capaz de generar daño tisular y se asocia con una alta mortalidad en el caso de ser inoculada de manera intravenosa en ratones. La toxina dermonecrótica es termolábil. Tras ser secretada, es internalizada por las células diana vía endocitosis, regulando en ellas varios procesos celulares incluyendo la reorganización del citoesqueleto y la diferenciación

celular, entre otros. La acción tóxica se basa en desaminar las GTPasas intracelulares responsables del mantenimiento de múltiples procesos intracelulares. Debido a la acción de esta toxina, las GTPasas permanecen activas lo cual provoca intoxicación celular (45).

- **Lipopolisacárido.** El lipopolisacárido (LPS) es el componente principal de la membrana externa de las bacterias gramnegativas y desempeña una importante función en la activación del sistema inmune. Al igual que ocurre con otras bacterias gramnegativas, los lipopolisacáridos de *Bordetella* activan e inducen el factor de necrosis tumoral (TNF) de los macrófagos. El hecho de que estas moléculas estén reguladas por el gen *bvgAS* orienta a su papel como factor de virulencia desde el momento de la infección por *B. pertussis*.

En ensayos clínicos con ratones inmunocomprometidos, se ha estudiado la relación entre los lipopolisacáridos de tres especies del género *Bordetella* patógenas para el ser humano. Los resultados sugieren que estas moléculas juegan un papel distinto en el momento de la infección del huésped. En el caso de *B. pertussis*, dichas moléculas son cruciales para una eficiente colonización nasal. *B. parapertussis* precisa la actividad de dichas moléculas para la colonización a nivel pulmonar. En el caso de *B. bronchiseptica* los lipopolisacáridos prolongan la supervivencia de la bacteria en el sistema respiratorio del huésped. Estos hechos sugieren, como ocurre con otros factores de virulencia, que los lipopolisacáridos son responsables de una modulación del sistema inmune del huésped, facilitando en el caso de *B. bronchiseptica*, infecciones crónicas en las que la bacteria es capaz de ocultarse de la actividad inmune o adaptarse al huésped (122).

- **Citotoxina traqueal.** Es un monómero derivado del peptidoglicano que forma la pared bacteriana, con especial afinidad por el epitelio ciliado del aparato respiratorio. Estudios en modelos animales demuestran que esta toxina produce daño tisular de las células ciliadas, manifestación característica de la tosferina. Actúa produciendo daño mitocondrial y disrupción de las uniones celulares dentro del epitelio ciliado, sin afectar prácticamente a las células no ciliadas. Cuando se encuentra a bajas concentraciones inhibe el movimiento y aclaramiento ciliar. Sin embargo, a concentraciones más elevadas es capaz de producir destrucción y lisis celular (123). La citotoxina traqueal interfiere además en la síntesis de ADN, y por tanto bloquea la reparación de las células dañadas tras la infección. El mecanismo tóxico se basa en el aumento de óxido nítrico dentro de la célula infectada, gracias a la expresión de la NO-sintetasa. Además, activa los macrófagos induciendo la liberación de IL-1 (45).

- **Toxina pertussis.** Esta toxina constituye uno de los principales mecanismos de virulencia y es exclusivo de *B. pertussis*. Es una exotoxina proteica formada por cinco subunidades (S1 a S5), del tipo A-B (*acting-binding*) clásico. La subunidad S1 es la porción activa y las subunidades S2-S5 son las encargadas de unirse con los receptores en las células diana (123).

La toxina pertussis es el principal responsable de las manifestaciones sistémicas que suceden en el huésped una vez se ha producido la infección. De hecho, la leucocitosis grave que ocurre en los casos de tosferina maligna podría estar producida por dicha toxina (124). A pesar de su importancia, el papel exacto de esta toxina en el establecimiento de la infección, la enfermedad, y los mecanismos de transmisión aún no se ha esclarecido. Solo se ha publicado un ensayo con voluntarios sanos que estudió el efecto de la inyección intravenosa de la toxina (125), objetivándose efectos en la secreción de insulina (efecto ya conocido previamente), y sin presentar ninguno de ellos sintomatología respiratoria.

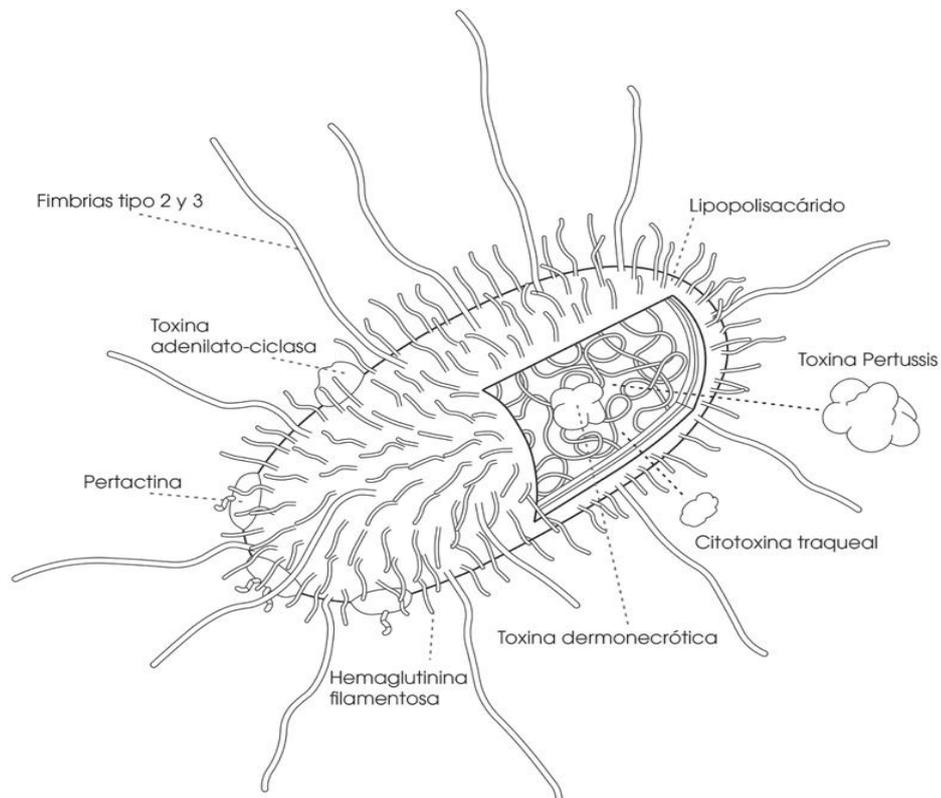
Hasta el momento se sabe que la secreción de esta toxina ocurre progresivamente, desde el inicio de la infección (126). Se cree que su papel inmunomodulador se basa en la atenuación de los macrófagos del tracto respiratorio superior, así como en la inhibición de la actividad de los neutrófilos (127). Por tanto, la toxina pertussis actúa en la etapa inicial de la infección produciendo inhibición de la inmunidad innata y tras la misma, reduciendo la respuesta adaptativa. Así mismo se cree que favorece la expresión de la reinfección en personas parcialmente inmunizadas (118).

A diferencia de lo observado en el caso de la pertactina, en el momento de la redacción de la presente Tesis Doctoral sólo hay descritos dos casos en los que se ha aislado *B. pertussis* desprovista de la expresión de la toxina pertussis (115,129).

#### **1.3.2.6.6 Formación de biofilm**

Recientemente se ha publicado un estudio que analiza la capacidad de *B. pertussis* para favorecer la formación de biofilm y su posible papel como factor de virulencia (129). Los biofilms se definen como comunidades de microorganismos que crecen embebidos en una matriz de exopolisacáridos secretados por las propias células que lo conforman, adheridos a una superficie inerte o un tejido vivo. Además de agua, células bacterianas y exopolisacáridos, la matriz del biofilm contiene en menor cantidad otras macromoléculas como proteínas, DNA y productos diversos procedentes de lisis de las bacterias. La formación de biofilm se considera

una estrategia de supervivencia, que permite una colonización más efectiva del tracto respiratorio, persistencia, transmisión y circulación de *B. pertussis* en humanos (129).



**Figura 18.** Esquema de los principales factores de virulencia del género *Bordetella* [modificado de Higgs et al., 2012 (130)].

## 1.4 ETIOPATOGENIA

Uno de los hechos que dificulta el conocimiento de la fisiopatología de la tosferina y el desarrollo de vacunas acelulares más eficaces, es el gran número de toxinas y moléculas de adhesión que produce *B. pertussis*. Muchas de estas moléculas están implicadas no solo en la adhesión a la mucosa respiratoria, sino en la modulación de la respuesta inmune tanto innata como adaptativa.

La infección por *B. pertussis* produce un abanico de síntomas en el ser humano dependiendo de la edad y del estado de inmunidad de la persona afectada. Para la mayoría, se trata de una infección respiratoria que cursa fundamentalmente con tos persistente, pero en ocasiones, sobre todo en lactantes, puede producir apneas sin que se evidencien accesos de tos.

*B. pertussis* coloniza la vía aérea causando infección localizada en el aparato respiratorio y solo excepcionalmente (132,133) se ha detectado diseminación a otras partes del organismo. A pesar de ello, la enfermedad produce numerosas manifestaciones sistémicas: linfocitosis (45), alteraciones en la secreción de insulina (hipoglucemia), vómitos postusígenos (133), alteración de la función neurológica (convulsiones, confusión, pérdida de conciencia) o recurrencia de la tos durante semanas o meses, entre otras.

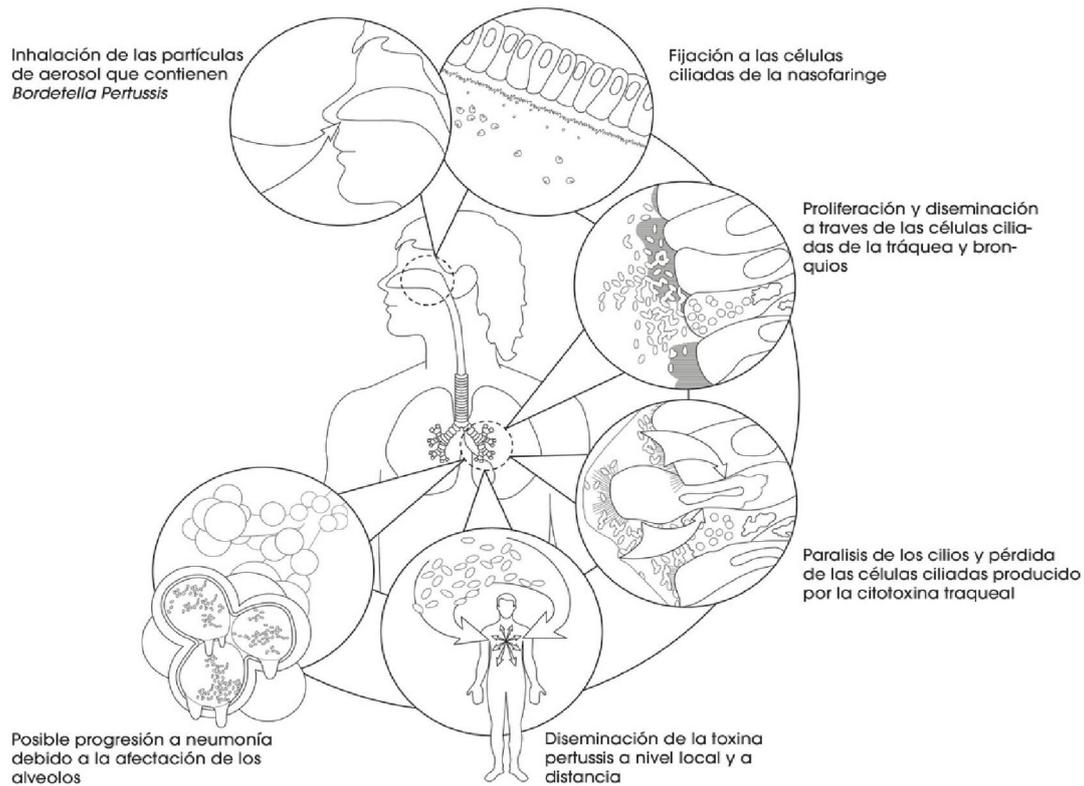
Por otra parte, la infección por *B. pertussis* es, altamente infecciosa. En la bibliografía consultada hay numerosos estudios, la mayoría retrospectivos, que refieren tasas de ataque de entre el 58% y el 100% de los convivientes o familiares directos y cercanos susceptibles, aunque hubo disparidad en la definición de caso clínico y/o el estado vacunal de los pacientes afectados (135,136,137). Además, la mayoría de los estudios prospectivos que han realizado seguimiento del caso índice (confirmado con pruebas microbiológicas) y estudiado la transmisión de *B. pertussis* en convivientes no vacunados, han observado una tasa de infección próxima al 76% (rango 64-86).

El estudio de *B. pertussis* y de sus mecanismos de transmisión es difícil debido, sobre todo, a la ausencia de reservorios no humanos, la corta duración de la infección y la incapacidad de la bacteria para vivir en el medio ambiente. Dados estos inconvenientes, la bacteria precisa para sobrevivir de una alta tasa de transmisión interpersonal, lo que consigue mediante diseminación a través de las gotas expulsadas en cada acceso de tos de las personas

infectadas. La primera vez que se sospechó este mecanismo de transmisión fue en 1916 (Luttinger *et al.*) (137), pero se ha necesitado casi un siglo para demostrar, en ensayos clínicos aleatorizados, que la bacteria utiliza este modo de transmisión entre la población (138).

Desde hace décadas se han utilizado distintos modelos animales con el fin de estudiar la etiopatogenia de *B. pertussis* y de desarrollar distintas vacunas. Los animales más utilizados han sido conejos, cobayas, pequeños cerdos y sobre todo ratones (140,141). A pesar de que comparten muchas de las manifestaciones sistémicas que ocurren en el ser humano durante la infección por *B. pertussis*, el hecho de que los ratones sean incapaces de toser ha impulsado la búsqueda de nuevos modelos más próximos al ser humano, que permitan estudiar la transmisión de una manera más real.

En esta búsqueda, recientemente, el Centro de Evaluación e Investigación Biológica de la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos (FDA), ha descubierto que un primate (*Papio anubis*), manifiesta la tos en accesos y paroxística característica de la tosferina, tras la infección por *B. pertussis*. *Papio anubis* se encuentra en 25 países africanos desde Malí hasta Etiopía y Tanzania, con poblaciones aisladas en las regiones montañosas del Sahara. Gracias a *Papio anubis*, se espera conocer de manera más exhaustiva los mecanismos etiopatogénicos de esta bacteria, incluyendo detalles sobre la vía de transmisión, tasa de ataque, rol de la bacteria en la infección así como factores del huésped que intervienen en la defensa frente a la misma. El hecho de que únicamente *Papio anubis*, de entre todos los primates estudiados, haya demostrado ser un buen modelo para el estudio de esta enfermedad se debe, entre otros motivos, a su temperatura corporal, en torno a los 37°C, cuando la mayoría de monos y simios presentan una temperatura en torno a 39°C en condiciones basales. A esta temperatura la bacteria tiene crecimiento muy reducido, si lo comparamos con su temperatura óptima de crecimiento, que se encuentra en torno a 37°C (141). En un ensayo realizado en 2012 por Warfel *et al.* (141), se demostró que el 100% de los nueve primates de esta especie que fueron infectados desarrolló la tos en accesos propia de esta enfermedad, la secreción mucosa en las vías respiratorias superiores, así como leucocitosis. Gracias a los conocimientos del comportamiento de la bacteria, descritos en la literatura hasta la fecha (117), podemos dividir la infección en varias etapas, como se observa en la figura 19, que a continuación se describen en detalle.



**Figura 19.** Descripción de las distintas etapas de la infección [modificado de Hewlett et al., 1997 (142)].

#### 1.4.1 Exposición/inoculación del germen

La infección requiere en primer lugar la exposición al germen. Como ya se ha mencionado, las personas infectadas transmiten la enfermedad gracias a las gotas de Flügge (10-100µm) expulsadas en cada acceso de tos.

No existen estudios que demuestren la cantidad de unidades formadoras de colonias (UFC), que, vehiculizadas en cada acceso de tos, son necesarias para conseguir una infección eficaz, pero estudios basados en modelos animales demuestran la importancia de la distancia como factor predisponente a la infección. Los animales expuestos a más de 2,1 metros, tardan más en infectarse que aquellos que conviven en la misma jaula (138). Así mismo, estudios epidemiológicos demuestran que existe mayor tasa de infección entre personas convivientes en los mismos domicilios (contactos más cercanos y de mayor duración) (138), que en colegios e instituciones (143).

#### 1.4.2 Fijación/tropismo ciliar

Tras la exposición, es necesario que la bacteria se fije a las células ciliadas del epitelio del aparato respiratorio. Esta fase es crucial a la hora de iniciar la infección en el huésped y propiciar la cascada de reacciones que ocurren posteriormente.

Se ha demostrado la implicación de varias de las moléculas mencionadas previamente (FHA, fimbrias, lipopolisacáridos, pertactina), en la adhesión a la mucosa respiratoria. Varios autores han defendido el papel fundamental de la FHA y en menor medida otras adhesinas, como moléculas imprescindibles a la hora de conseguir una adhesión eficaz al epitelio respiratorio (45,145,146,147). Además, en algunos estudios se ha conseguido demostrar *in vitro* la falta de adherencia de *B. pertussis* a las células ciliadas humanas al bloquear la secreción de dichas moléculas (145). A pesar de que durante años se ha defendido tanto *in vivo* como *in vitro* el papel de la FHA como principal molécula de adhesión (147), recientemente se ha demostrado en un ensayo sobre la eficacia vacunal, que dicha adhesina no es siempre (estrictamente) necesaria si se encuentran implicadas otras de las moléculas antes referidas (144). Respecto a la toxina pertussis, se ha observado que su papel no es esencial a la hora de colonizar el epitelio respiratorio (108,148), aunque sí a nivel sistémico en las siguientes fases de la infección. Existen pocos estudios que analicen el papel de las fimbrias en la adhesión celular (149), pero parece que las cepas desprovistas de ellas, tienen menor capacidad para la adhesión y por tanto ven reducida su capacidad invasiva.

*B. pertussis* y la cascada de adhesinas y toxinas liberadas en esta fase, muestran afinidad por el epitelio respiratorio, produciendo daño celular y disminuyendo el número de células ciliadas (150). Se ha demostrado *in vitro* que al inicio de la infección, la bacteria es capaz de fijarse al epitelio dañado, a las células ciliadas y al moco, pero a las 24 horas sólo permanece en las células ciliadas, probablemente porque el moco y el epitelio dañado son eliminados por el propio organismo (151). Las bacterias (*B. pertussis*) se localizan preferentemente en la base de los cilios y entre éstos, produciendo por sí mismas una alteración del funcionamiento mecánico ciliar, ya que alteran su disposición y organización espacial. Al aumentar el crecimiento bacteriano, los cilios dejan de estar en contacto y son incapaces de posicionarse paralelamente, lo que impide puedan realizar eficazmente la tarea de limpieza y aclaramiento del moco producido (151).

#### **1.4.3 Evasión/modulación de las defensas del huésped**

En esta fase entra en juego la respuesta inmunitaria del organismo. Los distintos factores de virulencia y toxinas descritas previamente, no sólo favorecen la adhesión de la bacteria al

epitelio respiratorio, sino que también modulan la respuesta inmune tanto innata como adaptativa. La atenuación de la respuesta inmune facilita la replicación extracelular de *B. pertussis*, a nivel de las células epiteliales del aparato respiratorio e intracelularmente (en el interior de macrófagos que la hayan fagocitado) (152,153).

Diversos estudios basados en ratones muestran que, una vez establecido el contacto con la bacteria, se activa una cascada proinflamatoria que pone en marcha la migración de células dendríticas, macrófagos, neutrófilos y linfocitos hacia el aparato respiratorio (130). Macrófagos y células dendríticas inmaduras son las primeras células que intervienen en la respuesta inmune (figura 20). Posteriormente se produce la activación de los neutrófilos, las células NK y los linfocitos T (mayoritariamente linfocitos T CD4) (154). La respuesta a la infección (tanto en humanos como en ratones), depende de la transformación de los linfocitos T en el subtipo activado de linfocito Th1 específico para *B. pertussis* (155).

A continuación, se describen las distintas etapas de activación del sistema inmune, una vez establecida la infección por *B. pertussis*.

#### **1.4.3.1 Inmunidad innata**

Una vez iniciada la infección, la inmunidad innata es la primera en actuar. Macrófagos, células dendríticas y neutrófilos, entre otros, constituyen la primera barrera de defensa. Su función es fagocitar y destruir partículas patógenas.

- **Macrófagos.** El primer estudio que consiguió demostrar la localización intracelular de la bacteria en macrófagos se remonta a 1969 (156). Posteriormente, varios autores han confirmado dicha hipótesis (157,158,159). Parece ser que, tras la fagocitosis llevada a cabo por el macrófago, éste es capaz de destruir gran parte de la carga bacteriana fagocitada, pero no toda, ya que con frecuencia una pequeña cantidad de bacterias evaden la respuesta localizándose en pequeños compartimentos del macrófago (152). Este hecho apoya que la producción de anticuerpos dirigidos específicamente contra *B. pertussis* no es suficiente para combatir la infección, ya que actúan exclusivamente en ámbito extracelular, y una de las razones por las que la inmunidad celular (con la producción de linfocitos Th1 específicos) cobra importancia para el control de esta infección.
- **Células dendríticas.** La función más importante de estas células es presentar los antígenos a los linfocitos T y, mediante la activación de una cascada de citoquinas, conseguir su diferenciación y especialización. Las células dendríticas poseen un receptor tipo Toll (*toll*

*like receptor*, TLR), que participa en el reconocimiento de estructuras moleculares asociadas a patógenos. Los TLR tienen un amplio rango de ligandos que incluyen motivos estructurales presentes en bacterias, hongos, levaduras y parásitos (160). Entre los distintos TLR, en el caso de *Bordetella* el papel principal lo ejerce el TLR-4, ya que es el que se activa al entrar en contacto con el lipopolisacárido procedente de la bacteria (160). La unión del lipopolisacárido al TLR-4 de la célula dendrítica produce la liberación de interleuquina-12 (IL-12) y de interferón gamma (IFN- $\gamma$ ), con la consecuente activación de los linfocitos Th1 (155,161).

- **Neutrófilos.** A diferencia de los macrófagos, *B. pertussis* no se suele localizar en el interior de los neutrófilos probablemente debido a su corta vida (162). Los neutrófilos migran al tejido pulmonar de los ratones a partir del 5º día de la infección, con un pico de máxima infiltración entre el 10-14º día (163). Las distintas toxinas y moléculas producidas por *B. pertussis* durante la infección, no alteran en gran manera la actividad defensiva de los neutrófilos. Sin embargo, se ha demostrado que la infección por *B. bronchiseptica* en ratones con deficiencia exclusiva de neutrófilos, es mucho más agresiva que en ratones con un sistema inmunológico normal (164). En otro estudio efectuado en ratones que investigó el papel de los neutrófilos durante la infección por *B. pertussis*, se les atribuyó una función defensiva más importante en los ratones que ya habían sufrido la enfermedad y vuelven a entrar en contacto con el germen, que en aquellos que todavía no la habían sufrido (165).
- **Células *natural killer* (NK).** Numerosos estudios demuestran su papel en las infecciones por virus, aunque también se está intentando esclarecer cuál es su rol en la infección por *B. pertussis*. De momento se ha demostrado que son responsables de la secreción inicial de IFN- $\gamma$  (previa a la secreción producida al activarse la cascada inflamatoria de las células dendríticas), cuya acción es fundamental para contener la infección a nivel del aparato respiratorio (166) y activar la respuesta celular de los linfocitos Th1 (167). En ratones que carecen de células NK se ha observado diseminación de la infección (afectando sobre todo al hígado), así como viraje de la respuesta inmunitaria con mayor producción de linfocitos Th2 (166).

#### 1.4.3.2 Inmunidad adaptativa

La inmunidad adaptativa se divide en dos tipos, humoral y celular, dependiendo de las células involucradas en la actividad de cada una de ellas.

- **Respuesta humoral.** Es aquella en la que participan los linfocitos B y anticuerpos producidos por ellos. La infección por *B. pertussis* induce la producción de inmunoglobulinas A (IgA) e inmunoglobulinas G (IgG), siendo la IgA la que primero se detecta (secreciones de la mucosa respiratoria), varios días antes que la IgG (suero) (figura 20). La respuesta inmune a la infección por *B. pertussis* es más compleja que la de aquellas infecciones producidas por otros organismos, ya sean virus o infecciones bacterianas (como tétanos o difteria), en los que la respuesta basada en anticuerpos dirigidos contra regiones específicas resulta efectiva y cuantificable (168). Los anticuerpos frente a *B. pertussis* actúan neutralizando las toxinas propias de la infección, inhibiendo la unión de la bacteria a las células ciliadas del epitelio respiratorio y colaborando en la fagocitosis llevada a cabo por macrófagos y neutrófilos (168).

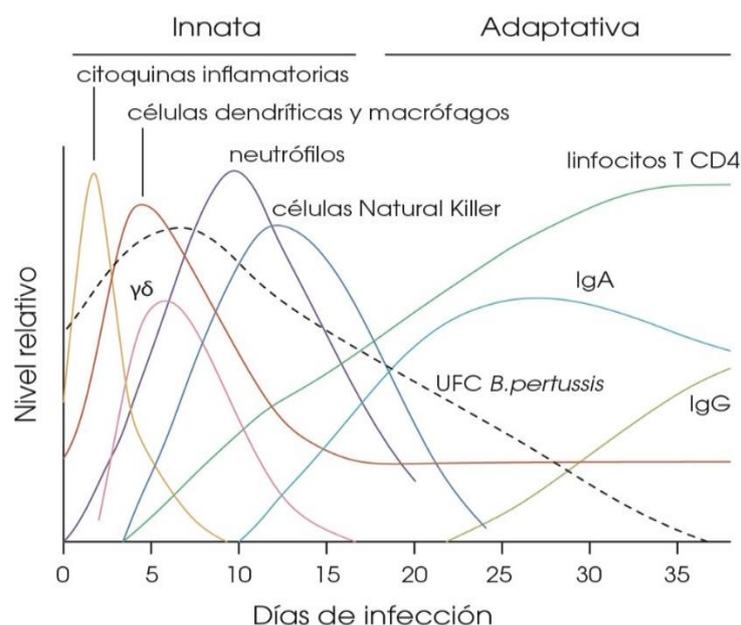
A pesar de los estudios realizados para esclarecer el papel de las vacunas frente a tosferina, y la respuesta inmunitaria generada, aún no se ha podido cuantificar el nivel de anticuerpos mínimo para considerar a un individuo protegido frente a dicha enfermedad. Además, los resultados obtenidos en la mayoría de los ensayos efectuados sobre eficacia vacunal, focalizan sus esfuerzos en detectar la cantidad de anticuerpos circulantes frente a *Bordetella*, habiéndose demostrado que dichos anticuerpos pueden no reflejar lo que realmente ocurre a nivel respiratorio (131,168).

- **Respuesta celular.** Los linfocitos T son los protagonistas en este tipo de respuesta adaptativa, y entre ellos destacan varios subtipos, fundamentalmente los dos prevalentes: linfocitos T CD4 y T CD8 (figura 20). Los linfocitos T CD8 son los llamados linfocitos T citotóxicos, encargados de las funciones efectoras de la inmunidad celular. Los linfocitos T CD4 o también conocidos como linfocitos T colaboradores, se encargan de iniciar la cascada de la respuesta inmune coordinada y, cuando se activan, se especializan, diferenciándose en linfocitos efectores, que se distinguen por el tipo de citoquinas que producen:

-**Linfocito efector Th1:** estos linfocitos migran a los tejidos infectados y colaboran en la activación de los macrófagos, ya que segregan interferón gamma (IFN- $\gamma$ ), siendo importantes en la defensa frente a microorganismos intracelulares y también frente a *B. pertussis* (155). La producción de dichos linfocitos específicos ocurre en etapas tardías de la infección (130).

Uno de los mecanismos por los que *B. pertussis* es capaz de modular la respuesta inmune a nivel celular, está relacionado con la expresión de la molécula co-estimuladora CD28. CD28 es uno de los receptores co-estimuladores más importantes descritos en células T, esencial para la completa activación de estas células. La molécula CD28 presenta afinidad por la molécula B7, que se expresa en las células dendríticas. La unión de ambas moléculas origina la denominada familia B7:CD28, que es el principal grupo de receptores/moléculas co-estimuladoras involucradas en procesos de co-estimulación y co-inhibición en los linfocitos T. Durante la infección por *B. pertussis* se ha objetivado un aumento en el número de linfocitos T pulmonares que expresan en su membrana CD28 (154). Queda por determinar qué molécula de *B. pertussis* es responsable de dicho fenómeno, habiéndose demostrado por el momento únicamente el papel de la toxina pertussis como desencadenante de la expresión de la molécula CD28 tras la infección (169).

- **Linfocito efector Th2:** permanecen sobre todo en los tejidos linfoides y colaboran en la activación de los linfocitos B; segregan principalmente interleuquina-4 (IL-4) e interleuquina-5 (IL-5). La función de los linfocitos Th2 frente a la infección se basa en la colaboración con los anticuerpos IgG para evitar la adherencia de la bacteria y en la neutralización de las distintas toxinas producidas por ella. A pesar de su función colaboradora, parece que la acción de este tipo de linfocitos es menos relevante en la defensa frente a la infección por *B. pertussis* que la de los linfocitos Th1.



**Figura 20.** Respuesta inmune innata y adaptativa frente a la infección por *B. pertussis* (130).

### 1.4.3.3 Inmunidad a largo plazo

*B. pertussis* es capaz de permanecer en el organismo durante varias semanas. La inmunización a partir de vacunas de células completas, vacunas acelulares y la propia inmunidad creada tras la infección por *B. pertussis*, produce distintos grados y tipos de respuesta inmunológica.

Existen discrepancias en la literatura acerca de la duración de la inmunidad ya sea tras la vacunación o tras haber padecido la propia infección por *B. pertussis*. Aunque algún estudio sugiere menor efectividad de la inmunidad natural frente a la inducida por vacunas (170), la mayoría apoyan que la inmunidad adquirida tras la vacunación es menos efectiva y duradera que la desarrollada tras una infección (171).

La mayoría de los estudios publicados han analizado la respuesta inmune producida inmediatamente tras la infección o inmunización, tanto en modelos animales (generalmente ratones), como en humanos, constatándose que dicha respuesta no se correlaciona con la observada a largo plazo (172). Como se mencionará más adelante (apartado de vacunación), las estimaciones actuales de la duración de la protección postinfección y postvacunal teniendo en cuenta las diferencias en la circulación de *B. pertussis*, los distintos sistemas de vigilancia y de esquemas de vacunación y las definiciones de caso, se sitúan generalmente entre 4-20 años y 4-12 años, para la infección natural y para la conferida por las vacunas, respectivamente (173,174). Los anticuerpos específicos contra *B. pertussis* producidos tras la infección disminuyen con el tiempo hasta hacerse en ocasiones prácticamente indetectables, pero, aun así, muchas de las personas vacunadas que entran en contacto con la enfermedad mantienen protección más tiempo (168).

Una de las respuestas que parece explicar este hecho se basa en que, para generar una respuesta inmune a largo plazo, no sería tan necesario el papel del anticuerpo como la acción del linfocito T (175). Desde hace décadas se ha demostrado que tanto la utilización de vacunas celulares como la propia infección generan el mismo tipo de respuesta, basada en la activación de la cascada molecular que activa finalmente al linfocito Th1 (172,176,177). Sin embargo, la aplicación de vacunas acelulares se asocia según la mayoría de los estudios, a la activación preferente de los linfocitos Th2, que como se ha comentado previamente, no parecen inducir una respuesta tan efectiva.

A continuación, se describen las respuestas inmunes tras la infección por *B. pertussis* y también según el tipo de vacunación (figura 21). Más adelante, en un capítulo exclusivo de vacunación, se describen las características de las distintas vacunas más detalladamente.

- **Respuesta inmune tras la infección y tras la vacunación con vacunas celulares o enteras.**

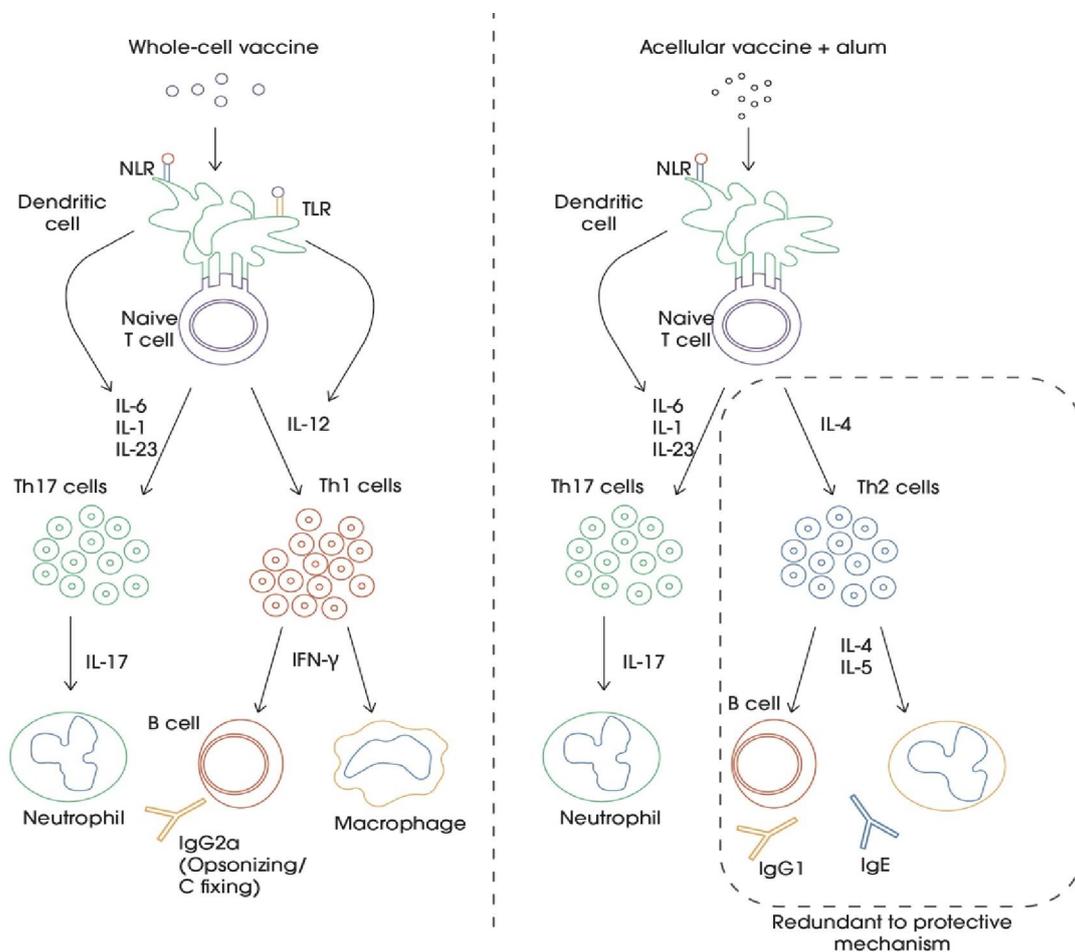
La infección o inmunización con vacunas celulares produce una respuesta predominantemente Th1. Las células dendríticas reconocen (mediante los TLR4) las secuencias de “patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs)”, como las que contiene el lipopolisacárido de la pared bacteriana, lo que produce liberación de citoquinas y factores proinflamatorios que finalizan con la activación de los linfocitos Th1 y Th17 (131,178). La activación de dichos subtipos de linfocitos activa a su vez a los macrófagos y neutrófilos para neutralizar las bacterias que se encuentran intracelularmente (en fagocitos).

- **Respuesta inmune tras la vacunación con vacunas acelulares.** Este tipo de vacuna no contiene los PAMPs procedentes del lipopolisacárido de la bacteria. La ausencia de dicho componente no permite que la célula dendrítica forme parte en el proceso inmune, pero, a pesar de ello, el aluminio que contienen estas vacunas como coadyuvante es capaz de estimular en cierto grado la producción de IL-1 y consecuentemente linfocitos Th17. De esta forma, se activan los neutrófilos, fundamentales para la destrucción de las cepas que se encuentran en el interior de los macrófagos. Así mismo, gracias a este tipo de vacunas, se produce también IL-4 que favorece la producción de inmunoglobulinas (IgG1, IgG3 e IgE) que evitan la adhesión de la bacteria al epitelio ciliado (172).

Recientemente se ha sugerido la posible relevancia en la polarización del linfocito T, del tipo de vacuna que se emplea en la primera dosis vacunal recibida en la infancia (179,180). Se ha descrito que, en el caso de recibir una primera dosis de vacuna celular, la respuesta Th1 y Th17 persistiría a largo plazo a pesar de recibir posteriormente nuevas dosis acelulares. Estos estudios abren nuevas vías de investigación para tratar de priorizar la activación de Th1 y Th17 tras la vacunación.

Sin embargo, las respuestas inmunes no son estancas ni excluyentes. El hecho de que tras la vacunación con vacunas acelulares en un primer momento se active de forma prioritaria la cascada de citoquinas propia del linfocito Th2, no determina definitivamente el tipo de respuesta a largo plazo. De hecho, hay estudios epidemiológicos que observan que la

respuesta predominante tras varios años de vacunación acelular es sorprendentemente Th1 (175). La explicación más probable de este fenómeno es el contacto en repetidas ocasiones (tras la vacunación), con *B. pertussis* circulante en la población, ya que tras sufrir de nuevo infecciones por *Bordetella* (muchas asintomáticas o pauci-sintomáticas), el sistema inmune refuerza la respuesta Th1. La información existente actualmente sugiere que, la producción de anticuerpos tras la vacunación acelular confiere protección al ser humano y evita las formas más graves de la enfermedad. Sin embargo, la utilización de estas vacunas, no parece garantizar que se puedan evitar infecciones posteriores, normalmente formas leves de tosferina, pudiendo ser esta una de las razones del rebrote de la enfermedad en poblaciones con alta tasa de cobertura vacunal (172,178).



**Figura 21.** Respuesta inmune tras la utilización de vacunas celulares y acelulares [modificado de Higgs et al., 2012 (130)].

## 1.5 MANIFESTACIONES CLÍNICAS

El periodo de incubación oscila normalmente entre 7-10 días (181). En el caso de contactos estrechos, producidos en el entorno familiar, se ha llegado a constatar un periodo de incubación más corto.

### 1.5.1 Forma clásica de tosferina

Esta forma de presentación es característica de los niños no inmunizados previamente, generalmente lactantes. El contagio ocurre frecuentemente tras contacto con algún adolescente o adulto que sufre una forma leve de la enfermedad (182,183,184). En algunas series el contagio más frecuente parece ser el ocurrido a partir de los hermanos (185) y en otros son las madres las principales transmisoras de la enfermedad (186).

La enfermedad tiene una duración aproximada de 6-12 semanas, aunque en ocasiones puede ser más larga. La forma clásica se clasifica en tres periodos: catarral, paroxístico y convaleciente.

- La **fase catarral** es indistinguible de cualquier otro proceso vírico que afecte al tracto respiratorio superior, como puede ser la infección por rinovirus. Dura generalmente de una a dos semanas. Los síntomas fundamentales son rinorrea, lagrimeo y tos inicialmente leve pero que progresivamente va adquiriendo mayor intensidad (133). Los pacientes no suelen presentar fiebre, o si aparece no suele ser muy elevada. En esta fase se puede conseguir el aislamiento de la bacteria hasta en un 90% de las muestras clínicas adecuadas.

- La **fase paroxística** se inicia normalmente en la segunda semana desde el contacto con la bacteria. Es la fase en la que tienen lugar las manifestaciones más características de la enfermedad. La tos que inicialmente era leve, se convierte en seca, en accesos y de gran intensidad. En cada paroxismo se producen unos 5 a 10 accesos durante una sola espiración. Los paroxismos se siguen de un esfuerzo inspiratorio importante, que, junto con la inflamación de la glotis, origina el característico gallo inspiratorio. Existen otras manifestaciones que también tienen lugar en ocasiones en esta fase, como cianosis, salivación, protrusión de la lengua e inyección conjuntival (181). Los vómitos post-tusígenos son muy frecuentes, y en

algunas series se observan hasta en un 50% de los pacientes (187,188), sobre todo en menores de un año, pero no es habitual la emisión de esputo purulento o sangre tras cada paroxismo.

Los accesos de tos ocurren independientemente del momento del día, normalmente en salvas tras las cuales los pacientes (sobre todo si son niños), quedan exhaustos y apáticos. Es frecuente la disminución del apetito, por lo que, si se asocia a vómitos, se produce la consecuente pérdida de peso. Hay que destacar que, en los periodos entre los accesos de tos, el niño se suele encontrar asintomático y sin signos de distrés respiratorio. Esta fase normalmente tiene una duración entre 3-8 semanas, aunque en ocasiones puede ser más larga.

- La **fase convaleciente** se inicia una vez disminuyen de intensidad y de frecuencia los accesos de tos y demás manifestaciones clínicas. Normalmente tiene una duración de una a dos semanas.

Las complicaciones de la forma clásica de la enfermedad generalmente ocurren durante la fase paroxística e incluyen neumonía, otitis media, convulsiones y encefalopatía. La neumonía es una de las manifestaciones más frecuentes, y puede ser debida tanto a la propia *B. pertussis* como más frecuentemente, a distintos organismos que infectan de manera secundaria los alveolos. Las convulsiones y la encefalopatía parecen ser debidas a los periodos de hipoxia secundarios a los paroxismos (45). Otras complicaciones poco frecuentes pero de gran repercusión clínica, son enfisema subcutáneo debido a accesos de tos de gran intensidad, hemorragia subaracnoidea e intraventricular, epistaxis, melenas, ruptura del diafragma, hernia umbilical, prolapso rectal, apneas, fractura costal y deshidratación (181). La leucocitosis es frecuente en los lactantes con tosferina y la cifra de leucocitos en sangre normalmente es mayor de 10.000 leucocitos/ $\mu$ L.

Es frecuente que los pacientes, sobre todo niños, que han presentado la forma clásica de la enfermedad, manifiesten durante un tiempo recurrencias de la sintomatología tras nuevas infecciones víricas (45).

### **1.5.2 Tosferina maligna**

La mayor parte de los cuadros de tosferina maligna se producen en menores de un año de edad. Esta entidad presenta manifestaciones clínicas graves, y suele ser frecuente la ausencia de sintomatología catarral que precede a las formas clásicas de la enfermedad. De esta forma pasa desapercibida y se produce un retraso en el diagnóstico. Posteriormente, la clínica se

manifiesta por accesos de tos asociando náuseas, vómitos, inyección conjuntival, apneas, cianosis y bradicardia (189). Los accesos de tos pueden no ser tan intensos como en la forma clásica de la enfermedad ni ser precedidos de gallo inspiratorio.

Las complicaciones son más frecuentes que en otras formas de tosferina e incluyen apnea, neumonía, dificultad respiratoria, hipertensión pulmonar, convulsiones, fallo renal, shock y muerte (190). Se desconoce el mecanismo fisiopatológico responsable de las apneas, pero parecen ser debidas no sólo a los paroxismos sino también a estímulo vagal. En ocasiones, la apnea es la única manifestación de la infección, sobre todo en los más pequeños. La neumonía, otra de las complicaciones más frecuentes, parece ser mejor predictor de mortalidad que las propias apneas (191). Las convulsiones ocurren en el 1-2% de los niños pequeños que sufren tosferina maligna, y encefalopatía según algunas series se produce en menos del 1% de los pacientes (192). En la tosferina maligna los lactantes presentan leucocitosis extrema, que parece estar relacionada con la severidad de la infección. Cifras superiores a 30.000 leucocitos/ $\mu$ L confieren un mal pronóstico de la enfermedad con alto riesgo de complicaciones, sobre todo neumonía, hipertensión pulmonar y muerte (191,193).

La mortalidad es mayor cuanto menor es la edad de los pacientes. En las últimas series publicadas se estima que existe un 1% de mortalidad entre los menores de seis meses, concentrándose la mayoría de los fallecimientos en los menores de dos meses (35).

Son muchos los estudios que tratan de esclarecer la relación entre la infección por *B. pertussis* y el síndrome de muerte súbita del lactante (194). Hasta la fecha no se ha podido demostrar una relación entre ambas entidades. De hecho, en uno de los estudios más relevantes hasta la fecha no se observó un incremento de aislamientos de *B. pertussis* en el grupo estudiado con respecto al grupo control (195). A pesar de ello, debería tenerse en cuenta como diagnóstico diferencial dadas las manifestaciones clínicas poco específicas que presentan en ocasiones los neonatos y lactantes menores de seis meses con tosferina.

### **1.5.3 Forma asintomática o con sintomatología leve**

Esta forma es característica de adolescentes y adultos que conviven con niños afectados de la enfermedad. Generalmente no presenta la gravedad del cuadro ni los paroxismos intensos de tos que definen la enfermedad, por lo que su diagnóstico además de ser tardío, muchas veces no es sospechado (196). En la mayoría de los casos se trata de personas que han padecido previamente la infección por *B. pertussis*, han sido vacunados o ambos. Por tanto, se estima

que haber padecido la infección previamente o el hecho de haber recibido alguna dosis de vacuna pueden modificar el curso de la enfermedad. No obstante, aunque la mayoría presente sintomatología leve, es posible sufrir también la forma clásica de la enfermedad. Desde los últimos años del siglo XX, y debido a la introducción de la vacunación en la mayoría de los países industrializados, la epidemiología de la enfermedad ha cambiado, observándose un incremento del número de adolescentes y adultos afectados de tosferina (197).

La infección por *B. pertussis* debería formar parte del diagnóstico diferencial del adolescente y adulto con tos prolongada de más de dos semanas. Se ha llegado a estimar que un 3% de todas las consultas de este colectivo en Atención Primaria son debidas a *B. pertussis* (198).

## 1.6 DEFINICIÓN CLÍNICA DE TOSFERINA

La heterogeneidad de las formas de presentación clínica de la tosferina constituye una dificultad a la hora de establecer un diagnóstico e incluso de definir la enfermedad y establecer criterios clínicos de sospecha de la infección.

Las definiciones establecidas por la OMS y el CDC son a menudo difíciles de universalizar, y por ello hasta la fecha, se han establecido distintos criterios intentando definir exactamente las manifestaciones tanto clínicas como de laboratorio, sin haberse alcanzado un consenso internacional. Esto es debido en parte a que persisten dificultades para definir y diagnosticar la enfermedad, consecuencia de su amplio espectro clínico, la modificación de la expresión clínica tras la inmunización, la coinfección con otros virus y bacterias respiratorias y el bajo grado de sospecha de la enfermedad ante adultos y adolescentes con tos persistente (199). A continuación, revisaremos los criterios de definición de caso según las distintas organizaciones y entidades.

### 1.6.1 Organización Mundial de la Salud

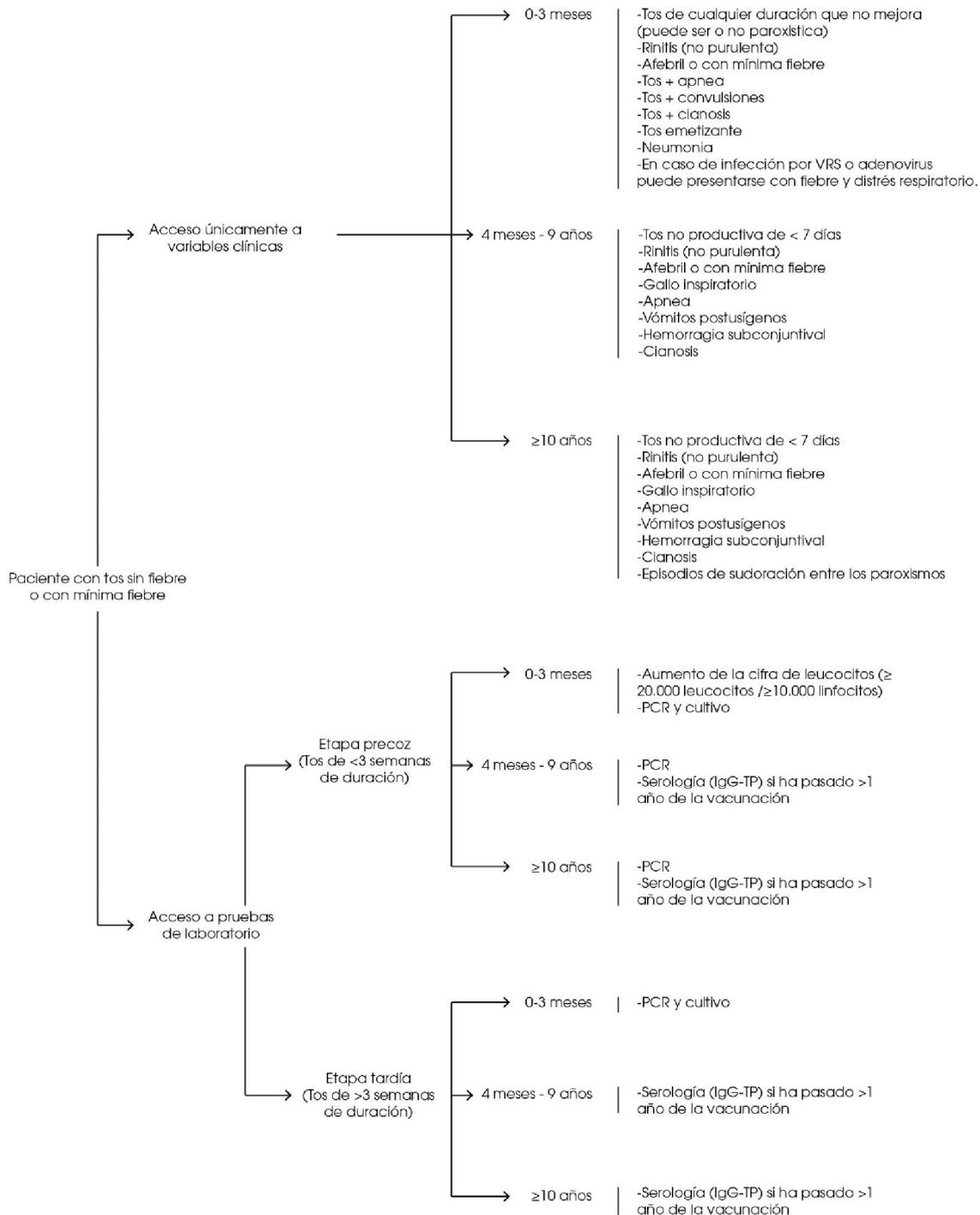
La OMS en el año 2000 (200), estableció los siguientes criterios clínicos y de laboratorio:

- Criterios clínicos. Persona que presente tos durante al menos 2 semanas y uno o más de los siguientes síntomas:
  - Tos paroxística
  - Gallo inspiratorio
  - Vómitos post-tusígenos sin otra causa aparente
- Criterios de laboratorio. Aislamiento de *B. pertussis* en medio de cultivo, PCR o serología positiva para la enfermedad.

La OMS (200) define como “caso clínico” aquel cuyas características clínicas son compatibles con la enfermedad pero en el que no se ha buscado la presencia de la bacteria. Aquellos en los que se aísla la bacteria o se detecta su ADN mediante PCR se denominan “casos confirmados por pruebas de laboratorio”.

### 1.6.2 Iniciativa mundial contra la tosferina

En el año 2001 se creó el foro denominado “Iniciativa Mundial contra la Tosferina” (*Global Pertussis Initiative*) (201), para monitorizar el estado de la enfermedad a nivel mundial y evaluar diversas estrategias de inmunización para mejorar control de la infección a nivel global. En la última reunión de este foro, en febrero de 2011, se establecieron una serie de definiciones para tratar de homogeneizar el diagnóstico de la enfermedad a escala mundial. Una de las novedades más relevantes fue, que, por primera vez, se tuvo en consideración los grupos de edad a la hora de definir distintos criterios (figura 22).



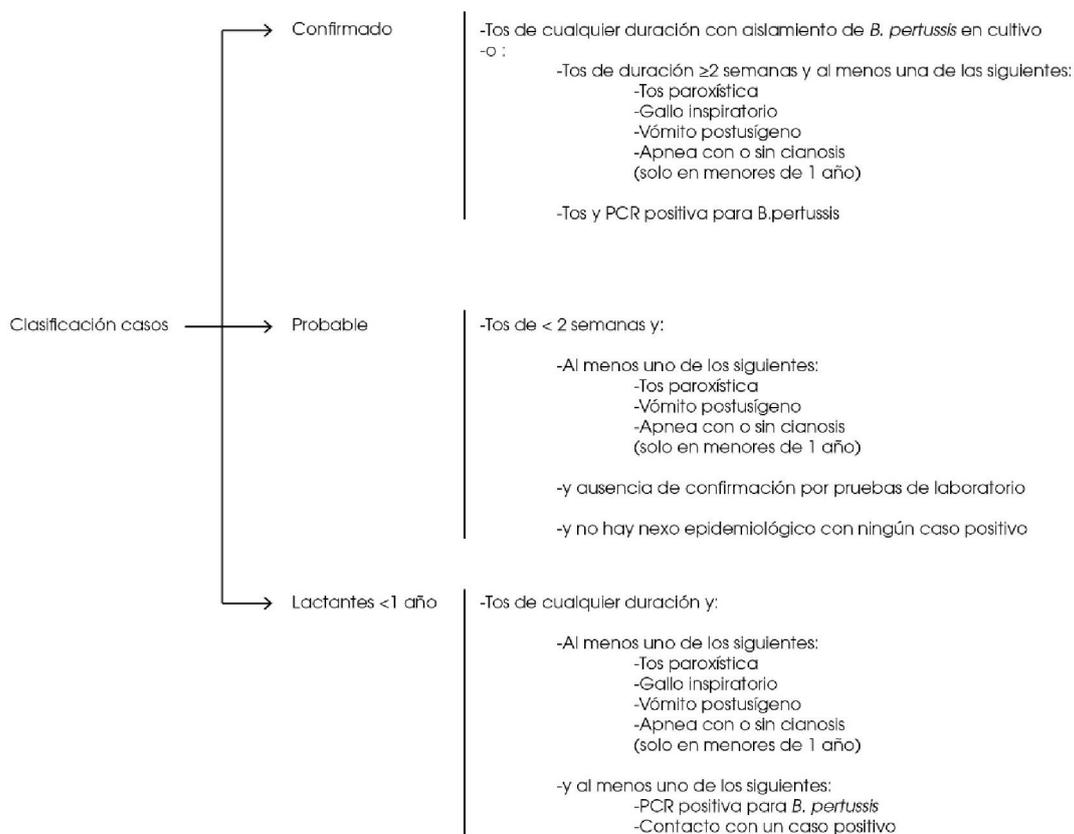
Abreviaturas: IgG, inmunoglobulina; PCR, reacción en cadena de la polimerasa; TP, toxina pertussis; VRS, virus respiratorio sincitial; en zonas que carecen de PCR, será necesario enviar la muestra a un laboratorio de referencia para confirmación.

**Figura 22.** Algoritmo de diagnóstico de tosferina [modificado de Cherry et al., 2012 (201)].

### 1.6.3 Centers for Disease Control and Prevention (CDC)

En el año 2014, el CDC (2) estableció los siguientes criterios diagnósticos (figura 23):

- Criterios clínicos. Persona que presente tos durante al menos dos semanas y uno o más de los siguientes síntomas:
  - Tos paroxística
  - Gallo inspiratorio
  - Vómitos post-tusígenos
  - Apnea (con o sin cianosis) (criterio sólo aplicable a menores de un año)
- Criterios de laboratorio. Aislamiento de *B. pertussis* en medio de cultivo o PCR positiva para la bacteria.



**Figura 23.** Clasificación de casos probables y confirmados según CDC (2).

#### 1.6.4 Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica

En el año 1997 a través del Real Decreto 2210/1995 de 28 de diciembre se estableció la Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica (RENAVE) (202). Con la implantación de la RENAVE, se utiliza a efectos de vigilancia la siguiente definición y clasificación de caso:

- Criterio clínico. Persona que presenta tos durante, al menos, dos semanas y uno o más de estos tres signos:
  - Tos paroxística.
  - Estridor inspiratorio.
  - Vómitos provocados por la tos.
- O:
- Niños menores de un año con episodios de apnea.
- Criterio de laboratorio. Al menos uno de los tres siguientes:
  - Aislamiento de *B. pertussis* en una muestra clínica.
  - Detección del ácido nucleico de *B. pertussis* en una muestra clínica.
  - Respuesta de anticuerpos específicos de *B. pertussis*.
- Criterio epidemiológico. Contacto con un caso de tosferina confirmado por laboratorio entre 6 y 20 días antes del inicio de los síntomas.

##### 1.6.4.1 Clasificación de los casos según RENAVE

- Caso sospechoso: persona que cumple los criterios clínicos.
- Caso probable: persona que cumple los criterios clínicos y tiene vínculo epidemiológico con un caso confirmado.
- Caso confirmado: persona que cumple los criterios clínicos y de laboratorio.

##### 1.6.4.2 Definición de brote según RENAVE

Se considerará brote la aparición de dos o más casos de tosferina relacionados, siendo al menos uno de ellos confirmado.

## 1.7 DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL (SÍNDROME PERTUSOIDE)

El diagnóstico de la tosferina se basaba hasta hace pocas décadas en criterios clínicos, sobre todo si se presentaban las manifestaciones típicas de la enfermedad (tos paroxística, vómitos post-tusígenos, gallo inspiratorio y ausencia de fiebre). Posteriormente se han desarrollado métodos diagnósticos de laboratorio para confirmar la infección y diferenciar los cuadros clínicos producidos por *B. pertussis*, de aquellos que no lo son.

Varios microorganismos patógenos pueden producir cuadros clínicos similares a la tosferina, que se conocen con el nombre de síndromes pertusoides o *pertussis-like syndromes*. Los pacientes presentan manifestaciones clínicas que afectan a la vía respiratoria superior, con tos paroxística e incluso gallo inspiratorio, pero con pruebas microbiológicas negativas para *B. pertussis*. La variedad de las manifestaciones de los síndromes pertusoides observados en lactantes (grupo de población en el que se dan la mayoría de estos cuadros) y la presentación leve o subclínica en adultos y adolescentes hacen que la sospecha clínica de tosferina no siempre sea evidente y en ocasiones se demore, retrasando y dificultando la confirmación microbiológica. A veces estas infecciones son producidas por bacterias de especies del mismo género *Bordetella*, pero en otras se aíslan bacterias de otros géneros y virus respiratorios.

### 1.7.1 Otras especies del género *Bordetella*

Dentro del género *Bordetella*, como ya se ha comentado previamente, existen otras especies responsables de cuadros infecciosos con espectro clínico similar a la infección por *B. pertussis*.

#### 1.7.1.1 *Bordetella parapertussis*

*B. parapertussis* comparte varios factores de virulencia con *B. pertussis* (hemaglutinina filamentosa, pertactina, citotoxina traqueal, toxina dermonecrótica y toxina adenilato ciclasa), aunque carece de la producción de toxina pertussis (exclusiva de la especie *pertussis*). Ambas bacterias poseen distintos epítomos en sus factores de virulencia (203), lo que dificulta el desarrollo de protección cruzada tras las infecciones (204,205,206).

La infección por *B. parapertussis* se asocia a cuadros más leves (134), debido a la ausencia de producción de la toxina pertussis. Diversos estudios han indicado además la menor duración de los síntomas de la infección por *B. parapertussis* (206), y referido la ausencia de protección inmunitaria cruzada una vez el paciente sufre infección por *B. pertussis* o se vacuna frente a ella (204). Sin embargo, un estudio reciente ha sugerido una “modesta” protección de las nuevas vacunas acelulares frente a *B. parapertussis* (207), debido a la importante cantidad de hemaglutinina filamentosa que contienen las últimas vacunas acelulares, que parecen inducir una gran respuesta anti-hemaglutinina filamentosa por parte del sistema inmune. Este efecto no se ha constatado en las vacunas de células completas (208).

Actualmente, la incidencia de la infección por *B. parapertussis* es desconocida. Se sospecha que dadas sus características clínicas (cuadros respiratorios de intensidad leve-moderada), está infravalorada. Al estudiar los cuadros sospechosos de tosferina en estudios de efectividad vacunal europeos, se ha estimado una prevalencia de *B. parapertussis* del 2,1% al 25% de las muestras analizadas (209). *B. parapertussis* afecta principalmente a lactantes y niños pequeños, y raramente a niños mayores o adultos (53).

#### **1.7.1.2 *Bordetella bronchiseptica***

Esta bacteria no plantea problema de diagnóstico diferencial dada su rareza como causante de infecciones humanas. En la mayoría de las ocasiones se trata de aislamientos en pacientes inmunocomprometidos. La forma de presentación en estos casos suele ser la neumonía (210), aunque se han descrito casos de sinusitis y bronquitis en pacientes inmunocompetentes (211).

#### **1.7.1.3 *Bordetella holmesii***

*B. holmesii* se asocia a infecciones de vía respiratoria superior en humanos. Carece de la mayoría de los factores de virulencia propios de *B. pertussis* (no produce pertactina, fimbrias, toxina pertussis ni toxina adenilato-ciclasa), aunque sintetiza hemaglutinina filamentosa (61).

En los últimos años se ha aislado en pacientes con sintomatología compatible con síndrome pertusoide. De hecho, en uno de los últimos estudios realizados en Francia, se ha observado en el 20% de los pacientes con cuadros clínicos propios de *B. pertussis* (212). Recientemente en Ohio (EEUU), se ha referido su detección en el 15% de los individuos estudiados por tos crónica (52). Otro estudio reciente, previamente comentado, que analizó la incidencia de *B. holmesii* en Cataluña, estimó unas cifras de prevalencia crecientes (3,9% en 2015 y 8,8% en 2016), e incidió en la posible infraestimación de este patógeno (62). Al igual que en el caso de *B.*

*parapertussis*, los cuadros clínicos asociados a esta especie son más leves y breves que los producidos por *B. pertussis*, lo que refuerza el papel de la toxina pertussis como principal factor de virulencia, ya que únicamente es producida por *B. pertussis*.

#### **1.7.1.4 Otros patógenos causantes de síndrome pertusoide**

Además de *Bordetella spp*, otros patógenos pueden causar infecciones con características clínicas similares, siendo los más relevantes *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae*, virus respiratorio sincitial (VRS), adenovirus (213) y otros virus respiratorios (parainfluenza, virus influenza A y B, metaneumovirus y rinovirus) (214). En el caso de síndromes pertusoides en los que el aislamiento de *Bordetella spp* se ha descartado, adenovirus ha sido el agente infeccioso hallado con más frecuencia (hasta en un 25% de los casos) (214). A pesar de que las infecciones producidas por adenovirus parecen ser de expresión clínica menor que las causadas por *B. pertussis*, hasta un 50% de los casos pertusoides en los que se detecta este virus cumplirían los criterios diagnósticos clínicos de la OMS para tosferina (215).

Además de la etiología infecciosa, es necesario tener en cuenta otras entidades en el diagnóstico diferencial de los cuadros pertusoides, como aspiración de cuerpos extraños en la vía aérea (propio de lactantes y niños pequeños), episodios de broncoespasmo, fibrosis quística, rinitis y sensibilización a distintos alérgenos del ambiente, así como enfermedad por reflujo gastroesofágico.

#### **1.7.2 Coinfección de varios patógenos**

Estudios *in vitro* (216) sugieren que la coinfección con *B. parapertussis*, observada ocasionalmente, se ve favorecida por la disminución de la efectividad del sistema inmune secundaria a la acción de *B. pertussis* (probablemente gracias a la acción de la toxina pertussis producida por esta última). Otra hipótesis consiste en que una de las especies se comporte como colonizadora de la vía respiratoria superior y los síntomas sean causados por la especie realmente patógena.

Otra de las situaciones más estudiadas hasta el momento es la coincidencia de tosferina y bronquiolitis. Ésta se define como el primer episodio de sibilancias en un lactante menor de 24 meses con una etiología infecciosa (generalmente producida por VRS, aunque hay otros patógenos). Varios estudios analizan la coinfección de *B. pertussis* con el VRS en lactantes ingresados por bronquiolitis (217,218,219). En ellos hasta un 10% de los pacientes ingresados con clínica de bronquiolitis presentaron pruebas diagnósticas positivas para *B. pertussis*, sobre

todo lactantes no inmunizados frente a tosferina. El 50% presentaron coinfección de ambos patógenos (VRS y *B. pertussis*), siendo indistinguibles por la clínica (217,219).

## **1.8 MÉTODOS DIAGNÓSTICOS ESPECÍFICOS PARA *BORDETELLA***

Los procedimientos empleados para el diagnóstico de tosferina pueden agruparse en dos categorías: métodos directos, basados en el aislamiento de la bacteria o en la detección de alguno de sus componentes (cultivo, inmunofluorescencia directa, reacción en cadena de la polimerasa [PCR]) y métodos indirectos en los que el diagnóstico se realiza mediante la determinación de la respuesta inmunitaria específica del paciente (serología). Existen factores que pueden influir en la sensibilidad y especificidad de la técnica empleada, como la edad, el contacto previo con la bacteria, la utilización de antibioterapia previa a la recogida de la muestra y la vacunación, entre otros. A continuación, se describen brevemente las principales técnicas destinadas al diagnóstico de laboratorio de *B. pertussis*.

### **1.8.1 Cultivo**

El aislamiento de la bacteria mediante cultivo continúa siendo el patrón de oro (*gold standard*) para el diagnóstico microbiológico de la tosferina, con la máxima especificidad. El inconveniente de esta técnica es su escasa sensibilidad (45). Hay una serie de factores condicionantes de la rentabilidad de la técnica, como se comenta a continuación.

#### **1.8.1.1 Momento en el que se recoge la muestra**

El momento idóneo para la recogida de muestras tiene lugar entre el final de la fase catarral y el comienzo de la paroxística. Cuanto más se demora la obtención de las muestras respiratorias menos rentables resultan (220). Algunos estudios establecen un punto de corte crítico de 21 días tras la instauración de los síntomas más floridos, a partir del cual no resulta rentable la utilización del cultivo como método diagnóstico, debido al escaso número de muestras positivas (221) (figura 24).

#### **1.8.1.2 Muestras biológicas adecuadas y técnica de obtención**

Hay varios tipos de muestras biológicas útiles para su posterior cultivo, como el aspirado de moco nasofaríngeo, o los frotis (pequeños raspados) de la mucosa faríngea o nasofaríngea. Como ya se ha mencionado, la bacteria tiene especial afinidad por las células ciliadas del aparato respiratorio superior, que recubren la parte posterior de las fosas nasales. Por este

motivo, las muestras nasofaríngeas se consideran más sensibles que las faríngeas. Además, el aspirado de moco nasofaríngeo es la muestra con mayor sensibilidad, mayor a la observada si se utiliza frotis de la misma localización. De hecho se estima que, empleando el cultivo, el frotis nasofaríngeo es un 12% menos sensible que el aspirado nasofaríngeo (222). Estas diferencias se atenúan empleando la más sensible técnica de PCR. Un problema frecuente en la práctica clínica, sobre todo en las consultas de Atención Primaria (Pediatría y Medicina de Familia), es la escasa disponibilidad de medios adecuados para la obtención de muestras para cultivo. De hecho, en la mayoría de los centros únicamente se dispone de hisopos destinados a la recogida de frotis faríngeo, que, como ya se ha comentado, presenta menor rentabilidad.

Los hisopos destinados a efectuar tomas de nasofaringe o faringe pueden contener distintos materiales, siendo los más frecuentes el algodón, alginato cálcico y Dacron® (material formado por un poliéster). En algunos estudios se ha demostrado que la bacteria sobrevive peor en el algodón, debido al efecto tóxico de sus ácidos grasos sobre el microorganismo. Por otra parte, el alginato cálcico y el aluminio pueden inhibir las reacciones de amplificación de ADN, siendo Dacron® el material óptimo en el caso de obtener la muestra mediante frotis (223).

### **1.8.1.3 Transporte**

*B. pertussis* es una bacteria lábil, sensible a condiciones físicas y químicas, y por ello el transporte al laboratorio debe ser lo más rápido posible. Es preferible una siembra inmediata de la muestra en la placa de cultivo, pero no suele ser una opción por limitaciones técnico/logísticas. Debido a la demora de horas desde su obtención hasta su procesamiento, es necesario utilizar medios de transporte que preserven la bacteria y eviten el crecimiento de otros microorganismos. El medio de elección para el transporte es el medio semisólido de Regan-Lowe ya que contiene carbón vegetal para neutralizar los ácidos grasos tóxicos en la muestra y se complementa con cefalexina para inhibir bacterias autóctonas de la nasofaringe. Otros medios también aceptables son el de Amies o el de Casamino (224).

### **1.8.1.4 Cultivo específico**

Se dispone de varios medios selectivos para el cultivo, aunque el más utilizado es el agar-carbón suplementado con 10% de sangre de caballo y cefalexina (40 mg/l) (Agar de Regan-Lowe) (45,220). A pesar de que el cultivo clásico de Bordet-Gengou se sigue utilizando, es menos práctico porque se debe elaborar diariamente en el laboratorio, a diferencia del agar-

carbón que dura más de una semana una vez preparado. Otra opción es el agar de Sciainer-Scholte. Ambos suelen ser suplementados con cefalexina (224).

Una vez sembrada la muestra, ésta debe ser incubada durante una semana a 35-36°C. Al ser una bacteria de crecimiento lento, no se visualizan colonias de *B. pertussis* hasta el tercer o cuarto día. Para la identificación de la bacteria es necesario valorar su morfología, aspecto microscópico, velocidad de crecimiento (tabla 4) y la reacción en las pruebas rápidas de identificación (tabla 5).

Especie	Tiempo de crecimiento	Hemólisis (Bordet-Gengou)	Morfología de la colonia
<i>B. pertussis</i>	2-4 días (hasta 7)	Betahemólisis estrecha	Pequeñas, convexas y translúcidas
<i>B. parapertussis</i>	2 días	Gammahemólisis	Mayores, opacas y pálidas
<i>B. bronchiseptica</i>	1-2 días	Gammahemólisis	Aún mayores, superficie rugosa

**Tabla 4.** Características de crecimiento de las principales especies patógenas para el ser humano del género *Bordetella* (220).

Especie	Crecimiento agar-sangre	Gram	Catalasa	Oxidasa	Ureasa	Aglutinación (antisero específico)
<i>B. pertussis</i>	No crece	Cocobacilo gramnegativo	+	+	-	Pertussis +
<i>B. parapertussis</i>	Si crece	Cocobacilo gramnegativo	+	-	+	Parapertussis +
<i>B. bronchiseptica</i>	Si crece	Cocobacilo gramnegativo	+	+	+	Bronchiseptica +

**Tabla 5.** Diferenciación de especies del género *Bordetella* (220).

### 1.8.2 Inmunofluorescencia directa

Se trata de un método sencillo y rápido basado en la utilización de anticuerpos policlonales o monoclonales específicos de cada especie de *Bordetella*. Sus principales inconvenientes son la poca sensibilidad de la técnica y que es observador-dependiente, por lo que se trata de un procedimiento subjetivo cuyos resultados dependerán de la experiencia del técnico que interpreta el resultado de la prueba. Otro problema lo constituyen las frecuentes reacciones cruzadas que presenta con otros microorganismos presentes en la flora habitual del aparato respiratorio. Por estos motivos, en el caso cada día más raro de emplear esta técnica, no deberá realizarse como alternativa al cultivo, sino como complementaria a éste.

### 1.8.3 Reacción en cadena de la polimerasa

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) permite obtener millones de copias de un segmento de ADN a partir de una muestra, para poder analizarla posteriormente. El uso de esta técnica se ha generalizado en los últimos años, y se ha convertido en un método rápido y fiable [ya que aumenta la rentabilidad del cultivo hasta en un 40% (223)]. Además, los requerimientos para el transporte y conservación de la muestra son menos estrictos que en el caso del cultivo, ya que no necesita que la bacteria se mantenga viable. Su elevada sensibilidad y especificidad la convierten en el método de elección para el diagnóstico precoz durante la fase inicial de enfermedad. La PCR tiene el inconveniente de su mayor coste y, como sucede con las otras técnicas directas, disminuye su sensibilidad en el caso de demora en la obtención de la muestra, en sujetos vacunados y con la edad del paciente (infecciones repetidas).

De momento no existe una región específica de amplificación de ADN universalmente reconocida, pero las secuencias más utilizadas son la región promotora de la toxina pertussis (ptxP) (220,225) específica de *B. pertussis*, y la secuencia repetida de inserción 481 (IS481) que se encuentra unas 200 veces en el genoma de *B. pertussis*. Esta secuencia se encuentra también en *B. holmesii* (10 copias) y *B. bronchiseptica* (<5 copias). IS481 es altamente sensible para *B. pertussis* debido a su carácter multicopia, más que el gen ptxP (toxina pertussis) presente en el genoma de la bacteria en forma monocopia (224). Para detectar *B. parapertussis* se puede amplificar la secuencia repetida de inserción 1001 (IS1001) (226). La combinación de resultados de diversas secuencias (IS481, IS1001, IS1002, hIS1001, ptxP, recA) permite detectar y diferenciar las distintas especies.

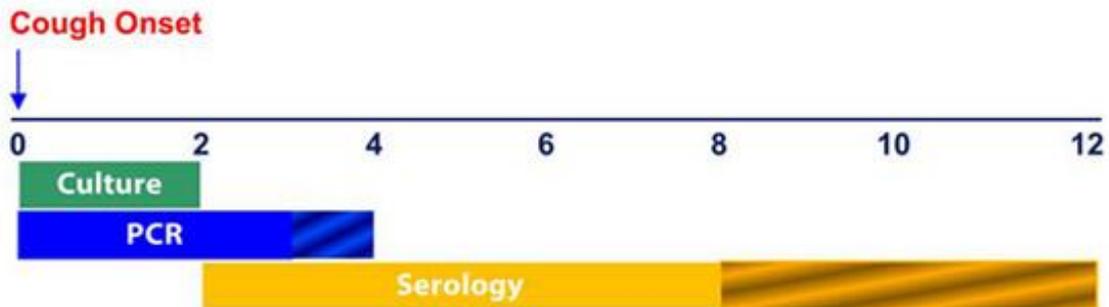
#### 1.8.4 Serología

La serología es un método indirecto para detectar la respuesta inmunitaria del paciente a la infección, analizando los anticuerpos circulantes que se generan tras el contacto con *B. pertussis*. Actualmente los anticuerpos se detectan mediante enzimoimmunoanálisis (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* o ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas [ELISA]), o sus derivaciones (quimioluminiscencia, etc.). Estos inmunoensayos sitúan el antígeno en una fase sólida a la que se unen los anticuerpos circulantes que serán revelados mediante un segundo anticuerpo anti IgG-humana marcado, con el fin de poder detectar el anticuerpo buscado y así confirmar la infección (220). Los antígenos más utilizados son la toxina pertussis (TP) (el marcador mejor conocido y más empleado) y la hemaglutinina filamentosa (FHA), aunque también se han utilizado fimbrias, pertactina, toxina adenilato ciclasa y lipopolisacárido.

Uno de los principales inconvenientes de las técnicas serológicas es que no se dispone de valores de referencia de los títulos de anticuerpos obtenidos en los pacientes (salvo en el caso de los anticuerpos frente a la toxina pertussis), constituyendo a día de hoy un problema para validar estas técnicas de manera fiable. Además, no se puede diferenciar entre la respuesta inmunitaria frente a la vacunación y la generada tras la infección. Tampoco se conoce, de momento, el nivel de anticuerpos necesario para considerar a una persona inmune frente a la enfermedad.

Los anticuerpos IgG-TP e IgG-FHA son detectables después de la infección y tienden a desaparecer en un período variable, desde unos 4 años hasta incluso veinte o más años (227,228) (en función de si el sujeto tiene inmunidad vacunal y el tipo de vacuna, natural y de la variabilidad individual). La detección de estos anticuerpos es bastante sensible para diagnóstico en el contexto de la enfermedad clásica, sobre todo si se trata de una primoinfección, pero resulta menos útil en el caso de enfermedad leve en un sujeto vacunado (220). Para que esta técnica se considere diagnóstica, es conveniente demostrar seroconversión, es decir, un aumento de 4 veces del título de anticuerpos en una segunda muestra extraída unas semanas más tarde. En la práctica esto resulta difícil de aplicar, por lo que a día de hoy la PCR y en menor medida el cultivo, son los métodos diagnósticos de elección, sobre todo en la fase aguda de la infección. Otros estudios han señalado que la detección de un único título de IgG-TP (antitoxina pertussis) puede ser válido para el diagnóstico de tosferina, con unos valores de sensibilidad y especificidad cercanos al 93% (229). En sujetos no vacunados en el último año, actualmente se considera que títulos de IgG-

TP por debajo de 40 UI/mL no son indicativos de contacto reciente con la bacteria, títulos >100 UI/mL lo serían de contacto reciente, siendo los títulos intermedios dudosos (224). La detección de IgM no es recomendable por su baja especificidad.



**Figura 24.** Técnica diagnóstica de elección según momento de la infección [modificado de CDC, 2019 (230)]. Escala en semanas.

## 1.9 TRATAMIENTO

### 1.9.1 Tratamiento antibiótico

El tratamiento de los últimos 30 años ha consistido en la utilización de macrólidos, hasta hace pocos años eritromicina oral, y más recientemente azitromicina y claritromicina, todos ellos activos frente a un amplio espectro de microorganismos, y bacteriostáticos, al igual que otros antibióticos que inhiben la síntesis de proteínas mediante la unión con la subunidad mayor 50S del ribosoma bacteriano.

En los distintos ensayos clínicos realizados hasta la fecha con el fin de determinar la efectividad de la eritromicina, se han utilizado diferentes sales de este antibiótico. El estolato de eritromicina a 40-50 mg/kg/día en varias dosis ha demostrado la eliminación de *B. pertussis* de las fosas nasales una semana tras haber iniciado el tratamiento (231). También hay estudios que analizan la efectividad del etilsuccinato de eritromicina a 50-55 mg/kg/día y del estearato de eritromicina a 40-50 mg/kg/día con resultados dispares, ya que en algún estudio se han referido fallos en la erradicación de la bacteria (232) y en otros efectividad similar al estolato de eritromicina (233). El hecho de que tradicionalmente se asocie mayor efectividad al estolato puede ser debido a que en esta forma parece ser más resistente al medio ácido y se absorbe en mayor cantidad que las otras dos sales, alcanzando mayores concentraciones en sangre (234). Los macrólidos azitromicina y claritromicina han demostrado ser igual de efectivos frente a *Bordetella* (235) y actualmente han sustituido a la eritromicina debido a la mala tolerancia de ésta y sus efectos secundarios gastrointestinales (náuseas, vómitos, dolor epigástrico e incluso su posible relación con la estenosis hipertrófica de píloro en los neonatos).

Los CDC recomiendan comenzar el tratamiento antibiótico tan pronto se sospeche la enfermedad, incluso anticiparse al resultado de confirmación microbiológica en caso de alta sospecha. Si existe retraso en el inicio del tratamiento antibiótico, éste no resultará útil para acortar los síntomas ni evitar el contagio, por lo que recomienda el tratamiento de los mayores de un año si se encuentran en las tres primeras semanas del debut de los síntomas respiratorios, y en el caso de los menores de un año y las embarazadas siempre que se encuentren dentro de las primeras seis semanas.

A pesar de que en algunos estudios se indica azitromicina por su mejor tolerancia (235), los CDC recomiendan cualquiera de los tres macrólidos (azitromicina, claritromicina y eritromicina) para el tratamiento de tosferina de los mayores de un mes (230). En los menores de un mes aboga por la utilización de la azitromicina para evitar el riesgo de estenosis hipertrófica de píloro. En marzo de 2013 la FDA publicó una alerta (236,237) en relación con la azitromicina, debiéndose evitar su uso en pacientes con cardiopatías (prolongación del intervalo QT o cardiopatías arritmogénicas). A día de hoy *B. pertussis* no ha desarrollado una especial resistencia a los macrólidos que justifique el aumento de incidencia de la enfermedad observado en las últimas décadas (238).

Otro tratamiento antibiótico, trimetoprim-sulfametoxazol, ha demostrado eficacia en algunos estudios para el tratamiento de esta entidad. El trimetoprim es un bacteriostático derivado de la trimetoxibenzilpirimidina, mientras que el sulfametoxazol es una sulfonamida de acción intermedia. Ambos actúan sobre la ruta de síntesis del tetrahidrofolato, cuya inhibición provoca finalmente que las bacterias afectadas no puedan sintetizar purinas. Este tratamiento está indicado por los CDC como alternativa en pacientes que no toleren macrólidos (230).

En una de las revisiones sistemáticas más amplias elaboradas hasta la fecha (Cochrane Library, 2007) (239) sobre la efectividad del tratamiento antibiótico para erradicar *B. pertussis* se extraen varias conclusiones. Se estudiaron 13 ensayos clínicos que cumplían los criterios de inclusión establecidos, publicados desde 1953 a 2011, con un total de casi 1.800 pacientes. A pesar de la heterogeneidad de los distintos estudios y la disparidad de criterios utilizados, la antibioterapia con macrólidos parece ser efectiva para la erradicación de la bacteria de las fosas nasales de los pacientes estudiados (y consecuentemente útil para evitar la diseminación de dicho patógeno), pero no parece alterar el curso de la enfermedad. Así mismo, determinó que no existe suficiente evidencia para recomendar la profilaxis en los contactos con antibioterapia, salvo que se trate de convivientes de menores de seis meses, por el beneficio que supone evitar el contagio de dicha población tan sensible a las complicaciones de la tosferina.

Esta revisión sistemática concluyó, basándose en la literatura publicada hasta la fecha, que los regímenes de tratamiento más efectivos son:

- Tres días de azitromicina (10 mg/kg en una dosis única)
- Cinco días de azitromicina (10 mg/kg el primer día de tratamiento y 5 mg/kg del segundo al quinto día de tratamiento)

- Siete días de claritromicina (7,5 mg/kg/dosis dos veces al día)

En los pacientes que no toleren el tratamiento con macrólidos, como ya se ha comentado previamente, se puede utilizar trimetoprim-sulfametoxazol (20 mg trimetoprim y 100 mg sulfametoxazol por dosis, dos veces al día durante 7-14 días, en el caso de niños menores de seis meses, y dosis doble en el caso de que se trate de niños mayores de esa edad). El uso de oxitetraciclina o cloranfenicol no se recomienda por sus potenciales efectos secundarios.

### 1.9.2 Otros tratamientos

Los paroxismos que caracterizan la tosferina son responsables de complicaciones, sobre todo en los pacientes pediátricos, que es el grupo más vulnerable. Por ello, desde hace décadas se han realizado numerosos estudios que tratan de determinar la efectividad de varios tratamientos sintomáticos, sobre todo teniendo en cuenta que la antibioterapia es capaz de erradicar la bacteria, pero no ha demostrado alterar el curso de la enfermedad. Entre los fármacos más estudiados se encuentran los corticoides, los agonistas  $\beta_2$ -adrenérgicos, la inmunoglobulina específica contra *B. pertussis*, los antihistamínicos y los antagonistas de los receptores de leucotrienos.

En 2014 se publicó una revisión sistemática [Cochrane Library (240)] sobre la efectividad del tratamiento sintomático de la tosferina. Se analizaron 12 estudios con un total de 578 pacientes. Ningún estudio demostró una mejoría de la clínica respiratoria estadísticamente significativa. Como excepción, un estudio que analizaba la efectividad de la inmunoglobulina específica contra *B. pertussis*, observó un discreto menor número de accesos de tos paroxística sin que disminuyeran los días de ingreso (241). El resto de las intervenciones no mejoraron la clínica ni variables como los días totales de ingreso, vómitos, cianosis y mortalidad. La revisión sistemática concluyó que a día de hoy no hay evidencia de que las terapias analizadas mejoren la sintomatología de la tosferina.

## 1.10 ESTRATEGIAS DE PREVENCIÓN Y CONTROL

### 1.10.1 Vacunación

#### 1.10.1.1 Tipos de vacunas, composición y presentación

Actualmente en España se utilizan vacunas inactivadas acelulares (DTPa y dTpa) (el empleo de letras “d” y “p” mayúsculas o minúsculas depende de la mayor o menor carga antigénica que contenga la vacuna), que sustituyeron a las vacunas de células enteras (DTPw), porque eran más reactógenas.

Las vacunas frente a *B. pertussis* son vacunas muertas que se componen de microorganismos inactivados, térmica o químicamente, o de fracciones o subunidades de los mismos, incapaces de reproducirse, y por ello de producir la enfermedad en el huésped o de transmitirse a otro sujeto. Son bien toleradas, menos reactógenas que las vacunas vivas (usadas en otras enfermedades), muy seguras y de más fácil fabricación. Desde el punto de vista inmunológico son menos inmunógenas que las vacunas vivas, precisando adyuvantes, la administración de varias dosis para la primovacunación y posteriormente dosis de refuerzo para que la protección obtenida sea más prolongada.

Las vacunas comercializadas frente a *B. pertussis* se combinan con antígenos que confieren inmunidad frente a otras enfermedades (siempre con los toxoides tetánico y diftérico, ya que no se encuentran disponibles vacunas monocomponentes frente a tosferina), y pueden ser trivalentes, pentavalentes o hexavalentes (añadiendo otros antígenos como los de hepatitis B, *Haemophilus influenzae* y poliomielitis). Utilizan como coadyuvante sales de aluminio. Estas vacunas contienen hasta cinco componentes de *B. pertussis*: hemaglutinina filamentosa, toxina pertussis, pertactina y aglutinógenos de por lo menos dos tipos de fimbrias (tipos 2 y 3).

Las vacunas utilizadas para la primovacunación (con carga antigénica estándar), se denominan “Pa” y forman parte de la vacuna DTPa, mientras que las que se utilizan en mayores de siete años (con una carga antigénica menor de tosferina) se denominan “pa” y forman parte de la vacuna dTpa. Estas últimas (dTpa) se utilizan en adolescentes y adultos, incluyendo las gestantes. Entre los cuatro y siete años de edad se podrían usar vacunas “pa” aunque habitualmente se usan “Pa”.

Existen hoy en día varios preparados comerciales que incluyen el componente de tosferina. En España únicamente se utilizan vacunas inactivadas acelulares, por sus menores efectos secundarios, a pesar de que parecen menos inmunógenas que las vacunas de células enteras. Por el contrario, en los países en vías de desarrollo se siguen utilizando las vacunas de células enteras, por su mayor efectividad frente a vacunas inactivadas acelulares y menor coste. Además, el riesgo de complicaciones debidas a la tosferina (en ocasiones se trata de países con recursos sanitarios muy escasos), es mucho mayor que los efectos secundarios de estas vacunas.

En la tabla 6 se exponen los preparados que se utilizan (aprobados para uso en España en el momento de la redacción de esta Tesis Doctoral), en la primovacunación e infancia (DTPa).

Nombre comercial	Indicación	Rango de edad recomendado	Composición	Antígenos
<b>Infanrix Hexa®</b> (GlaxoSmithKline)	Primovacunación y refuerzo	6 semanas a 3 años	Hexavalente: DTPa + VPI + Hib + HB	Toxoide pertúsico: 25 µg Hemaglutinina filamentosa: 25 µg Pertactina: 8 µg
<b>Hexyon®</b> (Sanofi Pasteur MSD)	Primovacunación y refuerzo	6 semanas a 2 años	Hexavalente: DTPa + VPI + Hib + HB	Toxoide pertúsico: 25 µg Hemaglutinina filamentosa: 25 µg
<b>Infanrix – IPV + Hib®</b> (GlaxoSmithKline)	Primovacunación y refuerzo	2 meses a 5 años	Pentavalente: DTPa + VPI + Hib	Toxoide pertúsico: 25 µg Hemaglutinina filamentosa: 25 µg Pertactina: 8 µg
<b>Pentavac®</b> (Sanofi Pasteur MSD)	Primovacunación y refuerzo	2 meses a 7 años	Pentavalente: DTPa + VPI + Hib	Toxoide pertúsico: 25 µg Hemaglutinina filamentosa: 25 µg
<b>Infanrix®</b>	Primovacunación	2 meses a 7 años	Trivalente:	Toxoide pertúsico: 25

(GlaxoSmithKline)	y refuerzo	DTPa	µg
			Hemaglutinina filamentosa: 25 µg Pertactina: 8 µg

**Tabla 6.** Preparados comerciales disponibles para la primovacunaación e infancia año 2017 (174,242).

En la tabla 7 se muestran los preparados que se utilizan de baja carga antigénica, para la vacunaación del adolescente y el adulto (dTpa).

Nombre comercial	Indicación	Rango de edad recomendado	Composición	Antígenos de tosferina
<b>Boostrix®</b> (GlaxoSmithKline)	Refuerzo	A partir de los 4 años	Trivalente: dTpa	Toxoide pertúsico: 8 µg Hemaglutinina filamentosa: 8 µg Pertactina: 2,5 µg
<b>Triaxis®</b> (Sanofi Pasteur MSD)	Refuerzo	A partir de los 4 años	Trivalente: dTpa	Toxoide pertúsico: 2,5 µg Hemaglutinina filamentosa: 5 µg Pertactina: 3 µg Fimbrias tipo 2 y 3: 5 µg
<b>Boostrix Polio®</b> (GlaxoSmithKline)	Refuerzo	A partir de los 4 años	Tetraivalente: dTpa + VPI	Toxoide pertúsico: 8 µg Hemaglutinina filamentosa: 8 µg Pertactina: 2,5 µg

**Tabla 7.** Preparados comerciales disponibles de baja carga antigénica (dTpa), año 2017 (174,242).

### 1.10.1.2 Vías de administración

Todas las vacunas disponibles para tosferina deben ser administradas por vía intramuscular profunda, en el tercio medio del vasto externo del muslo en menores de 1-2 años y en el deltoides en mayores de esta edad. Hay que garantizar la administración profunda en el músculo (se tendrá en cuenta el tamaño de la masa muscular para adaptar el tipo de aguja). Sin embargo, en pacientes con alteraciones de la coagulación se podría aplicar por vía subcutánea profunda para reducir el riesgo de sangrado.

### 1.10.1.3 Eficacia

La revisión sistemática realizada por la Cochrane Library en 2014 (243), trataba de esclarecer la eficacia de las vacunas disponibles en el mercado, y si las vacunas acelulares son menos eficaces que las de células enteras. Como primera conclusión de la revisión cabe destacar que no existen suficientes estudios para realizar un metaanálisis con buena potencia estadística en este tema.

A pesar de ello, se efectuaron algunas consideraciones. La primera, que las vacunas acelulares que contienen tres o más componentes de la bacteria parecen más eficaces que las formadas por uno o dos. Este hecho parece demostrado tanto para evitar tosferina clásica (tos paroxística de más de 21 días con confirmación microbiológica de la bacteria en el epitelio respiratorio), como formas más leves de la enfermedad. La eficacia de las vacunas con tres o más antígenos de tosferina se encuentra en torno a 84-85% (244) a la hora de prevenir el cuadro típico de tosferina, y entre 71-78% de las formas más leves (111). Sin embargo, las que llevan uno o dos antígenos presentan una eficacia entre 59-78% para el cuadro típico y 41-58% en el caso de tosferina leve (245). Por tanto, se puede asumir la mayor eficacia de las vacunas inactivadas acelulares con tres o más componentes. Sin embargo, no hay datos suficientes que demuestren superioridad de las vacunas que contienen cinco antígenos respecto a las que contienen tres.

Otra consideración de la revisión sistemática es que a pesar de lo que se ha supuesto tradicionalmente, no todas las vacunas de células completas que existen en el mercado son igual de eficaces, y de hecho, en varios estudios se observan eficacias inferiores con respecto a las acelulares [en uno de ellos la eficacia de la vacuna de células completas se situó en un 36% con un intervalo de confianza (IC) de 95% de 14-52% (244), y en otro en un 48% con un IC95% de 37-58% (111)]. Esta heterogeneidad en la eficacia de las vacunas de células completas hace

difícil su comparación con la de las vacunas acelulares. A día de hoy las vacunas acelulares con más de tres componentes frente a *B. pertussis* son más eficaces que algunas vacunas celulares “de eficacia menor”, pero siguen sin ser tan eficaces como las vacunas celulares de “eficacia alta”.

Por último, los autores de la revisión sugieren que el repunte en el número de casos de tosferina en países con altas coberturas vacunales, podría estar relacionado con la introducción de la forma acelular de la vacuna, pero son necesarios más estudios que demuestren este hecho (243).

#### **1.10.1.4 Inmunogenicidad de las distintas vacunas**

Tal y como se ha mencionado en el capítulo de etiopatogenia en el apartado de inmunidad a largo plazo, los dos tipos de vacunas y la propia infección generan respuestas distintas del sistema inmune.

En lo que respecta a la inmunidad humoral, aunque se han realizado numerosos estudios de inmunogenicidad, la comparación entre ellos es difícil porque las poblaciones y las pruebas serológicas utilizadas son distintas. A día de hoy no existe una correlación entre el nivel de anticuerpos producido y el grado de protección, así como tampoco de que los distintos subtipos de anticuerpos confieran mayor o menor grado de defensa frente a *B. pertussis*. En el estudio multicéntrico *Multicenter Acellular Pertussis Trial* (MAPT) (246) se compararon 13 vacunas acelulares y dos de células enteras. Todas produjeron aumentos significativos de anticuerpos frente a los antígenos que contenían, que en la mayoría de los casos igualaron o superaron a las concentraciones inducidas por la vacuna de células enteras de referencia. Cabe destacar que algunos ensayos clínicos evidenciaron mayor protección en el caso de detectarse anticuerpos circulantes frente a la toxina pertussis, que frente a otros antígenos (hemaglutinina filamentosa, fimbrias, pertactina) (247).

La inmunidad celular es más compleja y desconocida, pero existe evidencia de la activación de distintas respuestas inmunes dependiendo de si se trata de vacunas de células completas o acelulares. Como se ha expuesto previamente (ver apartado 1.4.3.2 Inmunidad adaptativa), la activación de una respuesta predominantemente de linfocitos Th1 parece responder a la administración de vacunas de células enteras y a la propia infección natural, mientras que la respuesta Th2 parece propia de las vacunas acelulares. Esta diferente respuesta, sumada a

otras múltiples causas podría haber influido en el aumento de la incidencia de la enfermedad observado en los últimos años (248).

Las estimaciones actuales de la duración de la protección postinfección y postvacunal teniendo en cuenta las diferencias en la circulación de *B. pertussis*, los distintos sistemas de vigilancia y de esquemas de vacunación y las definiciones de caso, oscilan entre 4-20 años y 4-12 años, para la infección natural y para la conferida por las vacunas, respectivamente (173,174,227,228) . Una de las revisiones sistemáticas más actual sobre inmunogenicidad a largo plazo tras la administración de vacunas, es la publicada en *Pediatrics* en el año 2015 (228). Este metaanálisis se realizó con el fin de determinar la duración de la inmunidad con esquemas de vacunación de tres o cinco dosis de DTPa. Se estimó que la duración media de la protección con DTPa es de unos tres años y que sólo el 10 % de los niños estarían protegidos a los 8,5 años después de la última dosis (228).

#### **1.10.1.5 Perfil de seguridad**

Las vacunas acelulares presentan un perfil más seguro y con menos reacciones que las vacunas de células completas. Utilizando de nuevo la revisión sistemática Cochrane de 2014 (uno de los metaanálisis sobre eficacia y seguridad vacunal más exhaustivos realizados hasta la fecha), se puede observar que, cuando se compara la vacuna acelular con placebo, no se observan diferencias estadísticamente significativas en cuanto a los efectos secundarios, salvo en el caso de las reacciones locales en el punto de inserción, que son mayores con la vacuna que con placebo (243).

Los autores pusieron de manifiesto que el escaso número de efectos secundarios registrados en los distintos ensayos clínicos disminuye la potencia estadística del metaanálisis realizado. De hecho, aún queda por esclarecer la tendencia al alza que presentan varios de los efectos secundarios considerados “menores” tras la exposición de un individuo a la vacunación sistemática durante la infancia con las vacunas acelulares. La fiebre y las reacciones locales (dolor, eritema y tumefacción en el lugar de la inyección), parecen incrementar su incidencia conforme aumenta el número de dosis administradas, a pesar de lo cual siguen siendo mucho menores que las correspondientes a las vacunas de células enteras. Hasta un 2% de pacientes pueden presentar reacciones locales significativas, lo que no constituye una contraindicación para la administración de dosis posteriores. Las reacciones infrecuentes, tales como el llanto excesivo y los episodios de hipotonía-hiporrespuesta son menos frecuentes desde la introducción de las vacunas acelulares. La aparición de convulsiones es muy infrecuente.

### 1.10.1.6 Indicaciones y esquemas de vacunación

La vacunación frente a tosferina forma parte del calendario de vacunaciones sistemáticas de todas las CCAA de España. En todas ellas, hasta el año 2017 se administraban cinco dosis [primovacunación (2, 4, 6 meses), refuerzo a los 18 meses y una última dosis de refuerzo a los 4-6 años], con excepción de Madrid, Ceuta y Melilla, que incluían una dosis adicional a los 13-14 años.

El Comité Asesor de Vacunas de la Asociación Española de Pediatría (CAV-AEP) recomienda el uso de vacunas combinadas en el calendario infantil, indicando que la vacunación frente a la tosferina en el calendario se realice con vacuna combinada hexavalente (DTPa-VPI-Hib-HB) en primovacunación de 2 y 4 meses; el refuerzo a los 11 meses, también con vacuna hexavalente (esquema 2+1), con un refuerzo posterior con dTpa-VPI o DTPa-VPI a los 6 años y la dosis final de Tdpa entre los 12-18 años.

La estrategia 2+1 se aplica en todas las comunidades desde enero de 2017, con la siguiente pauta: 2, 4 y 11 meses de edad. Navarra ya la aplicaba desde marzo de 2016, Asturias desde abril de 2016 y Murcia y Cataluña desde julio de 2016. En la CAPV se comenzó a aplicar en enero 2017 sin modificaciones en el nuevo calendario de 2018 ni 2019 (tabla 8).

Edad de administración	Vacuna	Zona de administración	Intervalo mínimo entre dosis	Edad máxima administración
<b>2, 4 y 11 meses</b>	DTPa-VPI-HB-Hib	Intramuscular en el tercio medio del vasto externo del muslo, ángulo 90º	1 mes entre las dos primeras dosis y 6 meses entre la 2ª y la 3ª	36 meses
<b>6 años</b>	DTPa-VPI	Intramuscular en deltoides, ángulo de 90º	6 meses	7 años
<b>Nacidos desde 1 enero 2017</b>				
<b>6 años</b>	dTpa			No tiene
<b>Nacidos antes de 2017</b>				

**Tabla 8.** Calendario vacunal de la Comunidad Autónoma del País Vasco, año 2018.

En septiembre de 2005 se sustituyó, en la CAPV, la vacunación de vacunas de células enteras por vacunas acelulares.

#### 1.10.1.7 Contraindicaciones de la vacunación

Las vacunas frente a *B. pertussis* están contraindicadas en las siguientes situaciones:

- Reacción anafiláctica a una dosis previa de la misma vacuna o a cualquiera de sus componentes.
- Antecedente de encefalopatía (coma, disminución de la conciencia o convulsiones prolongadas) en los siete días posteriores a la administración de una dosis previa de vacuna DTP, DTPa, dTpa u otras vacunas combinadas que contengan el componente de la tosferina, y que no pueda atribuirse a otra causa.

Algunas situaciones consideradas contraindicaciones de las vacunas de células enteras ya no lo son para las vacunas acelulares, y simplemente se consideran situaciones de precaución que no contraindican dosis posteriores de la vacuna:

- Trastorno neurológico progresivo, incluidos espasmos infantiles, epilepsia no controlada y encefalopatía progresiva. En estos casos se recomienda retrasar la vacunación hasta la estabilización del proceso.
- Temperatura superior a 40,5°C en las primeras 48 horas de la vacunación sin otra causa identificable y asociada a la administración de vacunas con componente tosferina.
- Llanto inconsolable de más de tres horas de duración en las 48 horas siguientes a la administración de una dosis previa de DTP/DTPa.
- Episodio hipotónico-hiporreactivo (colapso o estado similar al shock) en las primeras 48 horas después de la administración de una dosis de vacuna DTP/DTPa.
- Convulsión en los tres días posteriores a la administración de una dosis previa de DTP/DTPa.
- Enfermedad moderada o grave, con o sin fiebre en el momento de la administración de la vacuna.
- Síndrome de Guillain-Barré en las seis semanas posteriores a la administración de una vacuna que contenga toxoide tetánico. Como todas las vacunas de la tosferina están combinadas con toxoide tetánico, esta precaución es válida para todas ellas.

La vacuna Td también está autorizada en menores de siete años cuando haya contraindicación para la vacuna de la tosferina o, como sucedió en 2016 y principios de 2017, por desabastecimiento de las vacunas con ese componente, situación que ya se ha subsanado en la CAPV a mediados de 2017 con disponibilidad completa para la vacunación en todas las edades.

### **1.10.2 Medidas de control ante un caso y sus contactos**

#### **1.10.2.1 Actuación recomendada en el caso índice**

La primera medida a tomar una vez se sospecha la enfermedad es el aislamiento respiratorio (con especial precaución en los lactantes, por su mayor riesgo de complicaciones), hasta cinco días después de haber iniciado el tratamiento antibiótico. Se debe intentar evitar la propagación de la infección ubicando al paciente en una habitación individual (en el caso de encontrarse ingresado) o permaneciendo en su propio domicilio (sin salir ni recibir visitas). Las personas que vayan a entrar en contacto con la persona infectada deben portar mascarilla (si se van a encontrar a menos de un metro del paciente) y realizar una correcta higiene de manos portando, a poder ser, guantes no estériles si se van a prestar cuidados al paciente (249).

Aquellos que no vayan a recibir tratamiento (generalmente debido a que los síntomas estuvieran presentes durante más de 21 días previos a la sospecha diagnóstica), deberán mantener aislamiento respiratorio hasta la desaparición de los síntomas. A pesar de ello, existe un riesgo bajo de contagio una vez transcurran tres semanas o más desde el inicio de los síntomas.

Además del aislamiento respiratorio, es necesario instaurar el tratamiento antibiótico previamente comentado, a base de un macrólido vía oral, según las distintas pautas disponibles. Así mismo, es recomendable recoger muestra microbiológica del individuo con el fin de poder establecer un diagnóstico definitivo (250). Por último, se revisará el calendario vacunal del caso índice y se actualizará una vez se encuentre recuperado del proceso, aunque esta medida no tiene efecto sobre el curso de la enfermedad.

#### **1.10.2.2 Actuación recomendada en los contactos de un caso confirmado de tosferina**

La prioridad es detectar los posibles contactos de alto riesgo, ya que pueden sufrir las formas más graves de la enfermedad. Es importante que se establezca una búsqueda activa de casos en el entorno cercano al caso confirmado, con vigilancia estrecha de los menores de un año. El Protocolo de Vigilancia de Tosferina del Departamento de Salud del Gobierno Vasco, establece

un orden de riesgo de transmisión para actuación en caso de brote, que en orden decreciente es: familia, cuidadoras en ambiente familiar, guarderías, escuelas y comunidad. No es necesaria la exclusión de contactos asintomáticos de las guarderías, escuelas u otros grupos comunitarios.

### **1.10.2.3 Profilaxis antibiótica tras exposición**

La profilaxis post-exposición con antibioterapia tiene impacto limitado a la hora de controlar la transmisión y frecuencia de la enfermedad en los contactos estrechos. En estudios publicados sobre el impacto de la profilaxis, no se han podido demostrar resultados estadísticamente significativos, aunque sugieren que la antibioticoterapia podría disminuir discretamente la incidencia de la enfermedad en los convivientes de los casos afectos de tosferina (251).

Los pocos ensayos clínicos que estudian la efectividad de la profilaxis, consideran a todos los convivientes de una misma vivienda como una unidad familiar, es decir, no tienen en cuenta los distintos individuos que las conforman, su edad y su estado vacunal, entre otras variables (251,252). Esta manera de proceder simplifica el análisis de los resultados, pero resulta incompleta para entender el comportamiento de la enfermedad, ya que no tiene en cuenta la heterogeneidad de cada unidad familiar y su vulnerabilidad frente a la bacteria. Además, en la mayoría de los estudios no se incluye a los menores de seis meses, grupo de especial riesgo para el desarrollo de complicaciones si se produce un contagio.

La Asociación Española de Pediatría y su Comité Asesor de Vacunas (174), tras analizar la evidencia de la literatura, recomiendan la profilaxis con antibioticoterapia a pesar de su impacto limitado, en el ámbito familiar y entre los contactos estrechos, si se consideran contactos de alto riesgo y la enfermedad en el caso índice se ha iniciado en un periodo inferior a los 21 días previos. Se consideran de alto riesgo las personas que tienen riesgo elevado de sufrir tosferina grave y aquellas que pueden transmitir la infección a individuos que están en riesgo de tosferina grave:

- Niños menores de un año sin tres dosis de vacuna.
- Mujeres en las tres últimas semanas de gestación que no han sido vacunadas con dTpa durante el embarazo o que han sido vacunadas hace menos de siete días (para evitar la transmisión al recién nacido)

- Personas en contacto estrecho con alguno de los dos grupos anteriores (son de riesgo como posibles transmisores), como convivientes, trabajadores de guarderías y sanitarios de Pediatría, Neonatología y Obstetricia.

El Departamento de Salud del Gobierno Vasco, en el Protocolo de Vigilancia Epidemiológica de Tosferina (250), realiza las mismas recomendaciones de tratamiento profiláctico, limitando esta actuación al ámbito familiar y sólo en los contactos estrechos. En dicho documento, define “contacto estrecho” como el que convive en el mismo domicilio que un caso índice, y descarta la consideración de contactos estrechos a compañeros de trabajo y de aulas en escuelas (aunque tiene en cuenta las peculiaridades de cada caso, si alguno de ellos es un contacto de alto riesgo). La antibioticoterapia utilizada y la duración del tratamiento para la profilaxis postexposición se basan en las mismas pautas utilizadas para el tratamiento de la enfermedad:

- Tres días de azitromicina (10 mg/kg en una dosis única)
- Cinco días de azitromicina (10 mg/kg el primer día de tratamiento y 5 mg/kg del segundo al quinto día de tratamiento)
- Siete días de claritromicina (7,5 mg/kg/dosis dos veces al día)

### **1.10.2.4 Vacunación tras exposición**

En las recomendaciones del Departamento de Salud del Gobierno Vasco plasmadas en el Protocolo de Vigilancia de Tosferina, se propone actualizar y revisar el calendario vacunal de los contactos estrechos de un caso confirmado positivo. En la Comunidad Autónoma del País Vasco se distingue si los contactos son menores o mayores de siete años.

- Contactos menores de siete años:
  - Nacidos antes de enero 2017. Los menores de cuatro años de edad, deberán completar la pauta de cuatro dosis de vacuna en caso de que no las hubieran recibido, respetando los intervalos mínimos recomendados entre dosis. A los contactos entre 4-6 años que sólo hayan recibido esas cuatro dosis, se les administrará una 5ª dosis de dTpa.
  - Nacidos a partir de enero 2017. Los menores de cuatro años de edad deberán completar la pauta de tres dosis de vacuna en caso de que no las hubieran recibido, respetando los intervalos mínimos recomendados entre

dosis. A los contactos entre 4-6 años que hayan recibido las tres dosis de vacuna de tosferina se les administrará una 4ª dosis de DTPa-VPI.

- Contactos mayores de siete años. Los contactos a los que se les haya recomendado quimioprofilaxis antibiótica deberán recibir una dosis de dTpa, siempre que no hayan recibido una dosis de vacuna de tosferina en los últimos 10 años.

### **1.10.3 Nuevas estrategias de vacunación**

#### **1.10.3.1 Vacunación en el adolescente**

En los últimos años se ha referido que el adolescente puede actuar como reservorio de la enfermedad, también para los lactantes. Los adolescentes suelen presentar formas más leves de tosferina por lo que en muchas ocasiones no acuden a los Servicios Sanitarios o lo hacen demasiado tarde para instaurar un tratamiento eficaz, resultando difícil controlar la transmisión a sus contactos estrechos. En esta situación, el objetivo primario de esta estrategia vacunal es la protección del adolescente, confiando que se podría conseguir, secundariamente, una disminución del número de menores de un año infectados.

Debido a la controversia existente sobre la efectividad de esta medida, son pocos los países en los que se está aplicando de manera sistemática (Australia, Canadá, Francia, Alemania y EEUU). Los países que la han implantado lo han hecho recientemente y, por tanto, carecemos de resultados sólidos en relación a su objetivo fundamental, es decir, la reducción de la incidencia de tosferina en el lactante. Se han publicado los datos de seguimiento de la epidemia de tosferina en California en 2010 (253), donde desde 2006 administra un recuerdo de dTpa a los 11-12 años. Aunque con un número limitado de casos, se ha estimado que en el grupo de edad entre 8-12 años (habían recibido cinco dosis de DTPa y la última de éstas a los 4-6 años) la efectividad fue del 24% (IC95%: 0- 40), alcanzando el 79% (IC95%: 73-84) en los vacunados de 13 a 18 años que habían recibido una dosis adicional de dTpa a los 11-12 años.

La OMS, en su informe de posicionamiento de 2010 (254), no encontró suficiente evidencia que apoyara la inclusión de una dosis de recuerdo en el adolescente con el objetivo de alcanzar una reducción de enfermedad grave en la infancia, pero dejó una puerta abierta a la decisión de incorporar esta vacunación, dependiendo de los datos de incidencia y de coste-efectividad. Señaló que en los mayores de siete años cumplidos solo se debería administrar vacuna con componente pertúsico de baja carga, recomendación reiterada en el documento publicado en 2015 (5).

También en la última Revisión del Programa de Vacunación frente a Tosferina en España, realizada por el Ministerio de Sanidad en 2013 (255), se cuestionó esta medida alegando que no hay evidencia de que la vacunación a adolescentes y adultos con una dosis de recuerdo, como se ha hecho en Alemania, Francia, EEUU, Canadá y Australia, tenga impacto sobre la tosferina grave en el lactante. De hecho, se puso en duda que la vacunación de adolescentes tenga un beneficio en niños tan pequeños por la baja tasa de contacto entre los dos grupos de edad e incluso que podría desplazar la enfermedad a los padres jóvenes. En España, solo Ceuta, Melilla, Asturias y la Comunidad de Madrid han incluido una sexta dosis con vacuna dTpa a los 14 años de edad.

Por el contrario, el Comité Asesor de Vacunas de la Asociación Española de Pediatría recomendó en su último informe (174), una dosis entre los 11 y 12 años que sería fácil de aplicar en las escuelas, y con un escaso coste, puesto sustituiría la vacuna existente actualmente Td, por la de baja carga antigénica dTpa.

El Departamento de Salud del Gobierno Vasco, tras consultar y evaluar las recomendaciones del Consejo Asesor de Vacunaciones de Euskadi ha decidido no modificar las pautas previas de vacunación en el calendario infantil del año 2018, por lo que la última dosis de tosferina sistemática que se administra en esta Comunidad Autónoma a la población general, con la excepción de la embarazada, es a los seis años (DTPa-VPI).

### **1.10.3.2 Vacunación universal del adulto**

Estrategia consistente en administrar dosis de recuerdo de vacuna dTpa cada 10 años. Los objetivos de la vacunación universal antipertussis de los adultos, como continuación de la vacunación pediátrica, serían los siguientes:

- Reducir la morbilidad en los adultos
- Desarrollar inmunidad de grupo
- Disminuir la transmisión a los lactantes
- Reducir la incidencia de la enfermedad en todos los grupos de edad.

La vacunación del adulto es una medida difícil de aplicar a pesar de que algunos estudios apoyan su uso sistemático para disminuir la carga de la enfermedad en la población, y al menos dos estudios han mostrado un buen perfil de inmunogenicidad y seguridad (256,257). La OMS, en su documento publicado en 2015, refirió que no existe suficiente evidencia que avale la implantación sistemática en los calendarios vacunales del adulto (5).

La medida más factible y con menor coste sería sustituir las dosis de recuerdo de Td (tétanos y difteria) por dTpa, pero desde el año 2009 ya no se indican las dosis de recuerdo de Td cada 10 años, lo que en la práctica hace inviable esta estrategia vacunal. Actualmente en España, según el calendario vigente se recomienda a las personas correctamente vacunadas en el calendario vacunal infantil (cinco dosis de tétanos y difteria) la administración de una única dosis de recuerdo (Td) a partir de los 65 años de edad.

### **1.10.3.3 Vacunación del personal sanitario**

La vacunación del personal sanitario (especialmente de Pediatría y de la Maternidad) así como trabajadores de guarderías, debería de considerarse prioritaria a la hora de proteger a los menores de seis meses. Numerosas publicaciones (258,259,260) han documentado que la transmisión de la enfermedad también ocurre en el entorno hospitalario, con importantes costes totales (directos e indirectos) por parte del personal que atiende a este grupo de edad. De hecho, el coste para tratar de contener un brote producido en un entorno hospitalario en algunos casos, superaría el gasto correspondiente a vacunar a todos los trabajadores de dicho centro (261), por lo que es una medida a tener en cuenta.

La OMS en su informe de posicionamiento de 2010 (254), recomienda la vacunación del personal sanitario que atiende a población pediátrica sobre todo en países con alta tasa de transmisión nosocomial. En 2015 mantiene su posicionamiento a favor de la vacunación, advirtiendo de su efectividad sólo parcial a la hora de disminuir la tasa de infección intrahospitalaria (5).

En España, el Consejo Interterritorial del Sistema Nacional de Salud, recomienda esta medida desde el año 2004 en el documento “Vacunación en adultos. Recomendaciones” (262), y en concreto la vacunación del personal sanitario que atiende a niños prematuros y a recién nacidos que precisen hospitalización. Posteriormente (abril, 2017), se reiteró la necesidad de vacunación con dTpa al personal sanitario que trabaja en áreas de Pediatría y Obstetricia, y sus áreas de Urgencias, así como la vacunación de los profesionales sanitarios que hayan tenido contacto estrecho con los casos, en el control de brotes epidémicos de tosferina (263). La pauta de administración será una dosis única de dTpa, siempre que hayan recibido la primovacunación con 3 dosis. A día de hoy se desconoce la aplicación de dicha medida en las distintas Comunidades Autónomas.

En la CAPV, con el fin de evitar la transmisión en niños con riesgo de sufrir complicaciones, se recomienda la vacunación con una dosis de dTpa al personal sanitario que trabaja en áreas de Pediatría y Obstetricia que hayan tenido contacto estrecho con algún caso de tosferina, siempre que no hayan recibido una dosis en los últimos cinco años e independientemente del tiempo transcurrido desde la última dosis de vacuna Td (250).

#### **1.10.3.4 Vacunación precoz en el neonato y en el lactante**

En Estados Unidos, el 80% de las muertes por tosferina se producen en menores de tres meses (6). Este hecho ha llevado a pensar que la vacunación en los primeros días o semanas de vida podría ser una estrategia a considerar en este grupo de edad tan vulnerable. Por el momento solo las vacunas frente a BCG, hepatitis B y polio oral están autorizadas en el período neonatal (264), estando recomendado iniciar la vacunación frente a tosferina transcurridas las seis primeras semanas de vida. Ningún país ha implementado la vacunación frente a tosferina en el recién nacido y hay muy poca información sobre su efectividad en prevenir la infección por *B. pertussis*.

La OMS, en su documento del año 2015 (5), estableció que no existe suficiente evidencia que avale la implantación de dicha medida en el neonato ni en el lactante menor de dos meses, por lo que recomienda una actitud expectante hasta la obtención de resultados fiables y completos. Menos de una decena de estudios ha analizado *in vivo* la eficacia de la inmunidad neonatal al respecto. La mayoría de ellos estudia la activación del sistema inmune en un número pequeño de casos (entre 50 y 100 neonatos en cada estudio), por lo que los resultados son insuficientes para establecer conclusiones.

Algunos estudios utilizaron una vacuna monocomponente acelular (pa), mientras que otros usaron la vacuna acelular normalmente empleada para la primovacunación (DTPa). Entre los primeros cabe destacar tres estudios recientes (265,266,267). En uno de ellos (265), realizado en Australia, se dividió a los neonatos en tres grupos según el número de dosis de vacuna que se administraba: el primer grupo recibió una dosis al nacimiento y otra al mes de vida; el segundo sólo una dosis al nacimiento y el tercero ninguna; todos posteriormente seguían el calendario oficial australiano (dosis de DTPa a los 2-4 y 6 meses). El esquema con mejor respuesta fue el primero. En el segundo estudio(266), se administró la primera dosis al nacimiento y se continuó el esquema a los 3, 5 y 11 meses, observándose un aumento del número de anticuerpos a los seis meses de edad en el grupo que había recibido la dosis al nacimiento. En el tercer estudio (267), se observaron resultados similares a los del segundo

estudio con una pauta de administración de primera dosis al nacimiento, seguida del esquema de vacunación a los 2,4 y 6 meses. Solo se dispone de un estudio realizado con vacuna combinada (DTPa) en el período neonatal (268), y se observó una peor respuesta inmunitaria frente a pertactina, toxina pertussis y difteria en comparación con el esquema convencional.

Por tanto, hay estudios que sugieren que la vacunación en el neonato podría ser eficaz, aunque son pocos e incluyen pocos niños. Además, se basan en resultados serológicos y, como se ha comentado previamente, no existen valores de anticuerpos (con la excepción de la antitoxina pertussis) que se correlacionen con una mayor protección frente a *B. pertussis*. Hay que destacar, así mismo, que ninguno de los estudios ha referido efectos secundarios relevantes en los neonatos que han recibido la vacuna.

### **1.10.3.5 Vacunación en la embarazada**

La situación epidemiológica alarmante de la tosferina en Estados Unidos en los últimos años, con importantes brotes como el de California en 2010 (afectando a unas 10.000 personas), y el aumento del número de muertes en lactantes, llevó a que, en octubre de 2011 el *Advisory Committee on Immunization Practices* (ACIP) (269), con el apoyo del *American College of Obstetricians and Gynecologists* (ACOG) de Estados Unidos, aconsejara la vacunación con dTpa a las embarazadas de más de 20 semanas de gestación. Posteriormente, en febrero 2013, la misma institución actualizó las recomendaciones y limitó el período de administración a las semanas 27-36 de gestación. El último documento publicado por dicha institución (270), en septiembre 2017, confirmó dichas recomendaciones. Revisados los datos disponibles desde la implantación de la vacunación en EEUU, el ACIP concluyó que no existía un exceso de riesgo de reacciones adversas en mujeres que recibieran una dosis de dTpa en cada embarazo (269). EEUU se convirtió en el primer país en incorporar esta estrategia vacunal, tras el cual varios países, entre ellos España, han adoptado medidas similares.

Uno de los primeros países de la Unión Europea en incorporar esta medida fue el Reino Unido, en octubre de 2012 (271), recomendando la vacunación sistemática de todas las embarazadas entre la semana 28 y 38 de gestación. Este programa ha demostrado alta efectividad, apreciándose un importante descenso en los ingresos hospitalarios de casos confirmados en lactantes. En concreto, el número de casos de tosferina en hijos de mujeres embarazadas que habían recibido la vacuna se redujo en un 90% (272). Además, datos recientes sobre seguridad avalan su uso sistemático en las embarazadas (273).

La OMS, en su documento de 2015 (5), estableció que esta medida es segura y efectiva, por lo que recomendó su aplicación. Además, indicó que la vacunación de la tosferina en mujeres embarazadas es la estrategia más coste-efectiva en la prevención de la mortalidad infantil asociada a la tosferina. Por último, consideró necesaria la realización de estudios que evalúen la implantación de esta medida en países que emplean vacunas de células enteras, así como estudios que analicen la efectividad de esta medida con las mujeres embarazadas que hayan recibido vacunas acelulares durante la infancia.

En España, las sociedades científicas involucradas con las vacunaciones y la atención a mujeres gestantes (Asociación Española de Pediatría, Sociedad Española de Medicina Preventiva, Salud Pública e Higiene, Asociación Española de Vacunología y Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia), plantearon, en el año 2013, la necesidad de incluir la vacunación frente a tosferina en las embarazadas. En junio de 2015, el Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad recomendó que las Comunidades Autónomas pusieran en marcha la vacunación de las gestantes (255). Los datos oficiales, de abril de 2015, indicaban que la vacunación con dTpa en embarazadas se había introducido en siete Comunidades Autónomas (tabla 9): Asturias, Canarias, Cataluña, Comunidad Valenciana, Navarra, País Vasco y Extremadura (255). La indicación de vacunación se estableció entre las semanas 27-28 y la semana 36 de embarazo.

Posteriormente se ha introducido en las restantes Comunidades Autónomas: Andalucía, Cantabria, Islas Baleares y Castilla-La Mancha en noviembre 2015; Galicia, La Rioja, Aragón, Ceuta, Madrid y Castilla-León en diciembre 2015; y en enero 2016 Murcia y Melilla (tabla 9). En la CAPV, como ya se ha comentado previamente, en febrero de 2015 se inició la vacunación de mujeres embarazadas entre las semanas 27 y 36 de gestación, con una dosis de dTpa en cada embarazo. En la actualidad se administra preferentemente entre las semanas 27-31 de gestación.

Comunidades Autónomas	2014												2015												2016			
	En	Fb	Mz	Ab	My	Jn	Jl	Ag	Sp	Dc	Nv	Dc	En	Fb	Mz	Ab	My	Jn	Jl	Ag	Sp	Dc	Ne	Dc	En	Fb		
Andalucía																												
Aragón																												
Asturias																												
Baleares																												
Canarias																												
Cantabria																												
C León																												
C La Mancha																												
Cataluña																												
C Valenciana																												
Extremadura																												
Galicia																												
C Madrid																												
Murcia																												
Navarra																												
País Vasco																												
La Rioja																												
Ceuta																												
Melilla																												

**Tabla 9.** Implantación de la Estrategia de Vacunación de tosferina en embarazadas. Fuente RENAVE (41).

Se estima que la vida media de los anticuerpos antipertusis transferidos desde la mujer embarazada al feto es de unas seis semanas (269). Esta inmunización pasiva se adquiere por el paso transplacentario de anticuerpos IgG específicos. En un estudio reciente en el que se ha cuantificado el título de anticuerpos presentes al nacimiento en 335 neonatos (274), se ha observado mayor efecto en el niño si la vacunación de la madre tiene lugar en el segundo trimestre de embarazo con respecto a etapas más tardías. Varios estudios (275) demuestran que la actual recomendación de vacunación entre la semana 27 y 31 de gestación protege menos o no protege al recién nacido prematuro al no dar tiempo al paso transplacentario de los anticuerpos maternos, por lo que algunos países como EEUU y Reino Unido recientemente han adelantado la administración de la vacunación a etapas más precoces del embarazo (entre la semana 16 y 32 de gestación) con el fin de proteger también al recién nacido pretérmino (276,277). La medida pretende que el paso de anticuerpos proteja al lactante durante los primeros tres meses de vida. Además, los anticuerpos maternos no interfieren con la respuesta inmunitaria a las vacunas acelulares que se administran a partir de los dos meses de edad (278). La vacunación de la embarazada parece ser más efectiva y eficiente que la del nido y que la vacunación en el posparto antes del alta hospitalaria (279,280).

### 1.10.3.6 Estrategia del nido

La estrategia del nido (cocooning) consiste en la administración de vacuna dTpa a los contactos domiciliarios de lactantes que no han completado la vacunación frente a la tosferina. Diversas

sociedades científicas recomiendan su aplicación (279), incluido el Comité Asesor de Vacunas de la Asociación Española de Pediatría (174).

Las condiciones ideales de implementación serían como complemento de la vacuna de la embarazada a partir del tercer trimestre de embarazo, vacunando al padre y otros convivientes/cuidadores (hermanos, abuelos) del bebé dos semanas antes de la fecha prevista de parto para que desarrollen una respuesta vacunal protectora antes del nacimiento del bebé susceptible.

No obstante, la estrategia del nido tiene importantes limitaciones (por ejemplo, la dificultad en la práctica de alcanzar a todos los sujetos diana) y por sí sola no es probable que pueda evitar un número importante de muertes relacionadas con la tosferina en el recién nacido, siendo obviamente la complementación con la vacuna de la embarazada en el tercer trimestre del embarazo la opción más beneficiosa. Según algunos trabajos recientes, el número necesario de vacunas para evitar tanto hospitalizaciones como fallecimientos sería demasiado elevado, mostrando la ausencia de coste-efectividad de esta medida en países con baja incidencia de la enfermedad (281,282).

## **2 JUSTIFICACIÓN**

En los últimos años, en países con coberturas vacunales elevadas como España, se ha observado de manera inesperada un incremento de la frecuencia de tosferina, desencadenándose brotes de notable magnitud. En la Comunidad Autónoma del País Vasco se ha observado un aumento importante en la incidencia de la enfermedad.

En algunos países afectados por esta reemergencia, se ha referido que los casos de tosferina presentan una distribución por edad atípica, siendo lactantes por un lado y niños, adolescentes y jóvenes adultos por otro, los grupos de edad más afectados. Los lactantes son referidos como el grupo más vulnerable, y presentan tasas elevadas de complicaciones y mayor mortalidad, por su inmadurez inmunológica y porque por su edad no han iniciado o completado la primovacunación. En el caso de los niños, adolescentes y adultos la infección se describe más leve y se piensa es debida a la disminución de su inmunidad vacunal o natural.

Los cambios epidemiológicos comentados, asociados al importante incremento en la incidencia de la enfermedad en el País Vasco, una Comunidad Autónoma en la que la vacunación frente a la tosferina ha alcanzado cobertura elevada durante más de 30 años, justifican la realización de un estudio clínico-epidemiológico con el fin de conocer las características de la tosferina en Gipuzkoa y de valorar el impacto del programa de vacunación. Hasta la fecha no se ha realizado en el País Vasco ningún estudio sobre una muestra amplia de casos que abarque un periodo temporal prolongado.

### **3 HIPÓTESIS**

En los últimos años se ha observado una reemergencia de la tosferina en poblaciones con altas tasas de vacunación, como es la de Gipuzkoa. Entre los factores posiblemente implicados en la reemergencia destacan la sustitución de las vacunas celulares por acelulares en el Calendario Vacunal Infantil, lo que conlleva una disminución de la efectividad de la respuesta inmune con el paso del tiempo, así como cambios en el patrón clínico-epidemiológico que han provocado un infra-diagnóstico de la enfermedad facilitando la circulación del patógeno en la población vulnerable.

### **3.1 HIPÓTESIS OPERATIVA**

1. La vacunación con vacunas acelulares ha modificado la respuesta a la enfermedad, de manera que no evita en muchos casos infecciones posteriores, las cuales se expresan actualmente pronto (pocos años tras la primovacunación) y con poca gravedad.
2. En la época postvacunal, la distribución por edad de la tosferina en la población ha cambiado. Si bien sigue teniendo la incidencia más elevada y mayor gravedad el grupo de menores de seis meses, incidencia e impacto son también significativos en niños, adolescentes y adultos jóvenes.

### **3.2 HIPÓTESIS NULA**

1. La vacunación con vacunas acelulares no ha modificado la respuesta a la enfermedad.
2. En la época postvacunal la distribución por edad de la tosferina no ha cambiado y la incidencia e impacto de la enfermedad no son elevados en niños, adolescentes y adultos jóvenes.

## **4 OBJETIVOS**

#### **4.1 OBJETIVO GENERAL**

Describir las principales características clínico-epidemiológicas de las infecciones causadas por *Bordetella pertussis* en el Territorio Histórico de Gipuzkoa durante el período 1998-2017.

#### **4.2 OBJETIVOS PRINCIPALES**

1. Estudiar la incidencia de la infección por *Bordetella pertussis* a partir de los casos declarados al Sistema de Vigilancia Epidemiológica de Gipuzkoa y de los casos confirmados microbiológicamente.
2. Estudiar la ocurrencia de cambios en el patrón epidemiológico (comportamiento epidémico, estacionalidad, edad, brotes...) y clínico de la enfermedad. Describir los brotes de tosferina que han sucedido en Gipuzkoa durante el período de estudio.
3. Determinar las características clínicas y epidemiológicas de los casos confirmados microbiológicamente. Valorar su impacto (consultas, hospitalización...) en el Sistema Sanitario.

#### **4.3 OBJETIVOS SECUNDARIOS**

1. Valorar si la implantación en 2015 de la vacunación frente a tosferina en la embarazada ha causado algún cambio reconocible en el patrón de distribución de la enfermedad.
2. Comparar los resultados obtenidos a lo largo del estudio con los obtenidos en otros estudios similares realizados en otros países.

## **5 MÉTODO**

## 5.1 DISEÑO DEL ESTUDIO

Estudio (I) retrospectivo, descriptivo, por revisión de historias clínicas (enero 1998–diciembre 2013) y (II) prospectivo (enero 2014 – diciembre 2017), observacional, de todos los casos con diagnóstico principal o secundario de tosferina, con confirmación microbiológica (PCR positiva para *B. pertussis*), en el área sanitaria de Gipuzkoa. Asimismo, se emplearon en esta Tesis los datos de vigilancia epidemiológica existentes en Gipuzkoa hasta 2017 (1984-2017).

## 5.2 ÁMBITO GEOGRÁFICO Y POBLACIÓN DE ESTUDIO

### 5.2.1 Situación geográfica

El territorio histórico de Gipuzkoa pertenece a la CAPV. Su capital es Donostia-San Sebastián. Limita con el departamento francés de Pirineos Atlánticos por el noreste, Navarra al este, Bizkaia al oeste, Araba al suroeste y el golfo de Bizkaia al norte. Gipuzkoa presenta una orografía muy accidentada al encontrarse en la unión de la Cordillera Cantábrica al oeste y los Pirineos al este. Es la segunda provincia más montañosa de España atendiendo al desnivel del terreno (figura 25).



**Figura 25.** Mapa de relieve, hipsometría y red hidrográfica de Gipuzkoa (283).

### 5.2.2 Climatología de Gipuzkoa

Prácticamente todo el territorio de Gipuzkoa pertenece a la vertiente atlántica (figura 26). Se trata de un tipo de clima mesotérmico, con temperaturas moderadas y abundantes lluvias (50% de días lluviosos). En este clima, el océano Atlántico ejerce una influencia notoria. Los inviernos suelen ser moderados, con temperaturas mensuales medias en torno a los 8-10 °C.

Los veranos son también frescos, con valores que oscilan entre los 18-20 °C, por lo que las temperaturas medias anuales registran en la costa unos 14°C.



En amarillo se encuentra la vertiente atlántica, en verde claro la zona media que comprende los climas subatlántico y submediterráneo. El verde oscuro corresponde a la zona con clima mediterráneo.

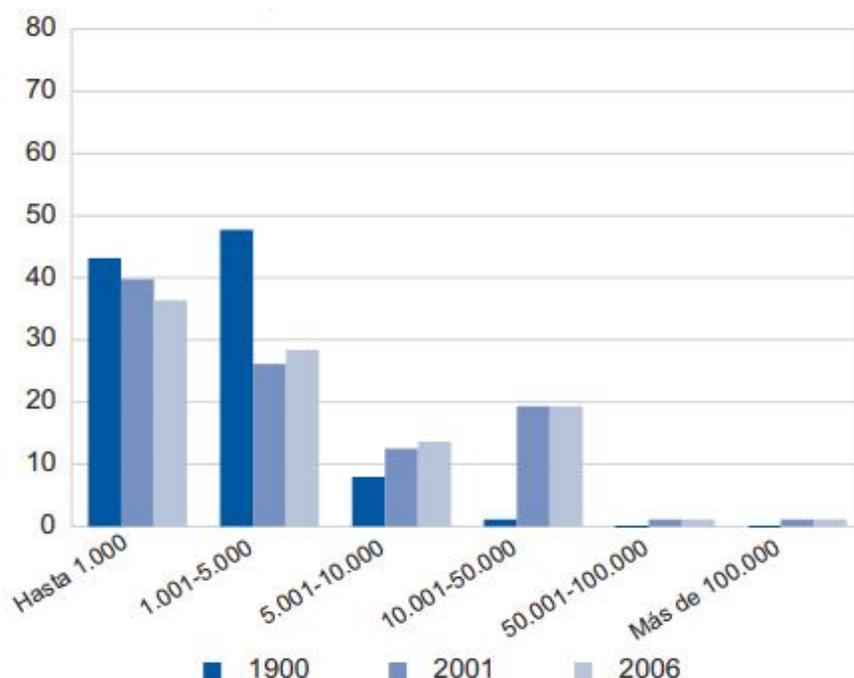
**Figura 26.** Clasificación de territorios climáticos del País Vasco (284).

### 5.3 DESCRIPCIÓN DE LA POBLACIÓN DE GIPUZKOA

A comienzos del siglo XX la población de Gipuzkoa no alcanzaba los doscientos mil habitantes (196.531), el 1% de la población total española. Algo más de cien años después, en 2006, la población era más del triple alcanzando los 691.895 habitantes, el 1,5% de la población de España. Actualmente Gipuzkoa cuenta con 712.801 habitantes (2017), y es la cuarta provincia española (tras Madrid, Barcelona y Bizkaia) con mayor densidad de población, 360,3 habs./km<sup>2</sup> (2017). Por grupos de edad la población se distribuye de la siguiente manera: 0-19 años, 138.503 habitantes; 20-64 años, 422.936 habitantes; igual o más de 65 años, 151.362 habitantes (285).

Pese a su pequeño tamaño (1.909 km<sup>2</sup>), la población se agrupa en 88 municipios de los que 19 tienen más de 10.000 habitantes, concentrándose en esos municipios el 77,9% de la población (figura 27). El municipio más poblado es Donostia-San Sebastián (180.558 habitantes), seguido de Irún (61.006 habitantes), Rentería (39.217 habitantes) y Eibar (27.396 habitantes).

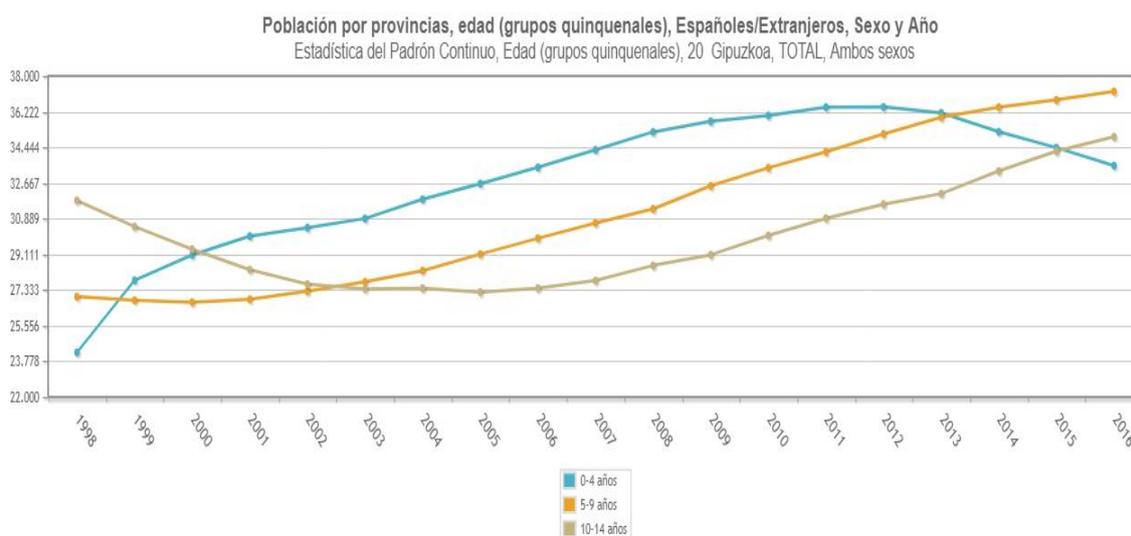
Analizando los datos disponibles del Instituto Vasco de Estadística (Eustat), existe una pérdida continuada de peso relativo de los municipios más pequeños, y la correspondiente ganancia de los comprendidos entre los 5.000 y 50.000 habitantes. Es interesante comprobar que a comienzos de siglo no existía ningún municipio con más de 50.000 habitantes.



**Figura 27.** Municipios por tramos de población de Gipuzkoa, años 1900, 2001 y 2006 expresado en porcentajes (286).

Tras haber alcanzado su máximo histórico en los años ochenta, Gipuzkoa vive un proceso de desaceleración del crecimiento con tendencia a la estabilidad o, para ser más precisos, una fase de regresión demográfica, de pérdida efectiva de población por efecto del crecimiento natural negativo y de una emigración que supera a las llegadas.

La población infantil ha experimentado una evolución parecida en Gipuzkoa, y la tendencia de los tres grandes grupos de edad (0-4 años, 5-9 años y 10-14 años) está al alza en las últimas dos décadas, con algunas variaciones más acusadas en el grupo de menores de cinco años (figura 28). Si bien en 1986 había 36.219 niños menores de cinco años de edad, este número descendió hasta 26.439 en 1996 (descenso del 27,0%), aumentando progresivamente hasta 37.229 en 2016.



**Figura 28.** Población por edad (grupos quinquenales) y año en Gipuzkoa. Estadística del Padrón Continuo (287).

#### 5.4 SECTORIZACIÓN DE LA GESTIÓN SANITARIA DE OSAKIDETZA EN GIPUZKOA

Desde el año 2011, los niveles asistenciales de Osakidetza en Gipuzkoa están divididos en distintas Organizaciones Sanitarias Integradas (OSI). Actualmente existen seis OSI distintas en el territorio: Alto Deba, Bidasoa, Bajo Deba, Donostialdea, Goierri-Alto Urola, y Tolosaldea. Cada una de estas OSI engloba varios Centros de Salud y Hospitales (figura 29):

- OSI ALTO DEBA: Hospital Alto Deba y los Centros de Salud de Armaio, Aretxabaleta, Arrasate, Bergara, Eskoriatza y Oñati.
- OSI BIDASOA: Hospital Comarcal Bidasoa y los Centros de Salud de Irún Centro, Dumboa y Hondarribia.
- OSI BAJO DEBA: Hospital Mendaro y Centros de Salud de Deba, Eibar, Elgoibar, Ermua, Mutriku, Sorluze, Torrekua.
- OSI DONOSTIALDEA: HU Donostia y los Centros de Salud de Amara Berri, Gros, Larzabal, Pasai San Pedro, Zarautz, Aia, Alde Zaharra, Altza, Amara Centro, Astigarraga, Bidebieta, Egia, Errenteria-Beraun, Errenteria Iztieta, Getaria, Hernani, Intxaurrenondo, Lasarte, Lezo, Loiola, Oiartzun, Ondarreta, Orio, Pasai Antxo, Pasai Donibane, Urnieta, Usurbil, Zumaia, Zestoa
- OSI GOIERRI-ALTO UROLA: Hospital Zumarraga y los Centros de Salud de Azkoitia, Azpeitia, Beasain, Lazkao, Legazpi, Ordizia y Zumarraga

- OSI TOLOSALDEA: Centros de Salud de Alegia, Andoain, Ibarra, Tolosa y Villabona.



Figura 29. Organizaciones Sanitarias Integradas del sistema de Osakidetza (288).

El HU Donostia (HUD) recibe este nombre en febrero 2011. Atiende directamente a una población de alrededor de 350.000 habitantes y es centro de referencia para toda Gipuzkoa. Los datos de la Encuesta de Salud del año 2013 indican que la gran mayoría de la población (92%) acude a la red asistencial pública para recibir Atención Primaria. Los datos de la Estadística Extrahospitalaria señalan que, en la CAPV, desde el año 2006, se producen más de 10 millones de consultas anuales de Medicina General y Pediatría en la red extrahospitalaria pública, siendo los Centros de Salud los que reciben la mayor parte de esta demanda sanitaria (aproximadamente el 80% de las consultas).

## 5.5 TERRITORIO EN EL QUE SE HA REALIZADO EL ESTUDIO

El estudio clínico se realizó a partir de los pacientes con muestras clínicas positivas a *B. pertussis* en el Servicio de Microbiología del HUD desde el año 1998 a 2017, procedentes tanto de pacientes ingresados del propio hospital, como atendidos en Urgencias Hospitalarias o en los distintos Centros de Salud de Gipuzkoa.

Desde el inicio del estudio y de una forma progresiva, el Servicio de Microbiología ha ido aumentando el área de población atendida según se han ido reestructurando las distintas áreas sanitarias de la provincia de Gipuzkoa. Inicialmente el Servicio prestaba servicio a los Centros de Salud del área de San Sebastián, Tolosa y Urola-Costa, con una población estimada de casi 443.000 habitantes (289). En julio 2011 el Servicio amplió sus prestaciones a los Centros de Salud y la población de todo el área de Bajo Bidasoa (aumentando la asistencia a unos 520.000 habitantes). Posteriormente, en julio 2014, se asumió también la comarca de Goierri-Alto Urola y Bajo Deba. Tras esta ampliación el Servicio de Microbiología del HUD presta sus servicios a una población aproximada de 641.000 personas, perteneciente a más de 50 Centros de Salud. Supone el 90% de la población total de Gipuzkoa (29% de toda la CAPV).

### **5.5.1 Datos de Vigilancia epidemiológica**

Para dar un marco adecuado al estudio clínico y obtener una visión general de la tosferina en Gipuzkoa se obtuvieron datos de la Unidad de Epidemiología de Gipuzkoa (Subdirección de Salud Pública y Adicciones, Departamento de Sanidad del Gobierno Vasco), principalmente mediante consulta de las Memorias de Vigilancia Epidemiológica oficiales, publicadas anualmente a partir de 1984 o mediante consultas personales sobre aspectos concretos, con especial detalle en el período 1998-2017. Las Memorias de Vigilancia se basan en los datos recopilados por distintos sistemas de información como: Enfermedades de Declaración Obligatoria (EDO), Sistema de Información Microbiológica (SIM), Registro de Altas Hospitalarias a partir del Conjunto Mínimo de Datos Básicos (CMDDB) y Registro de Vacunaciones, entre otros.

## **5.6 ANÁLISIS DE MUESTRAS**

### **5.6.1 Recogida y transporte de las muestras**

Durante el período de estudio la técnica de toma de muestras y cultivo fue la misma.

**Técnica de recogida de muestra a través de aspirado nasofaríngeo.** Se trata de un sistema de vacío, cerrado, mediante el que se obtiene una muestra nasofaríngea a través de una sonda

que se introduce en las fosas nasales (figura 30). Una vez que la sonda introducida alcanza la nasofaringe, se activa el vacío. El catéter se rota manualmente y de forma lenta para obtener las secreciones respiratorias. A continuación, se repite el procedimiento a través de la otra fosa nasal. Por último, se introducen 2-3 ml de suero salino fisiológico para arrastrar todo ese material hasta el envase estéril.

Este procedimiento se utilizó en los pacientes más pequeños (principalmente lactantes) por su mayor facilidad de obtención.



**Figura 30.** Material para realizar el aspirado nasofaríngeo.

**Técnica de recogida de muestra a través de frotis faríngeo.** La muestra se obtiene por toma faríngea, con hisopo para virus (UTM™, *Universal Transport Medium*) (figura 31). Con ayuda de un depresor lingual, el hisopo entra en contacto con la faringe posterior evitando rozar la mucosa oral, lengua o úvula.



**Figura 31.** Hisopo para toma de muestra utilizado en el estudio.

Ambas tomas las realiza el personal de enfermería de los distintos centros de donde provienen las muestras (generalmente de Atención Primaria y del Servicio de Urgencias Generales y de Pediatría del HUD), tanto a pacientes ambulatorios como ingresados, siempre manteniendo condiciones de asepsia (guantes y mascarilla).

#### **Envío al Laboratorio**

Las muestras procedentes de pacientes ingresados en el propio HUD o del Servicio de Urgencias, fueron remitidas al Área de Recepción de muestras del laboratorio inmediatamente tras su recogida, normalmente a través de tubo neumático. Desde allí fueron enviadas al Servicio de Microbiología (en menos de 2 horas) en horario de 8-21 h, o almacenadas a 2-8º C fuera de ese horario, hasta la mañana siguiente. Las muestras procedentes de los Centros de Atención Primaria fueron enviadas al Servicio de Microbiología del HUD habitualmente en la misma mañana, utilizando el transporte especial diario (lunes a viernes). En caso de no llegar a tiempo para el envío, estas muestras se mantuvieron en frigorífico entre 2-8º C con un tiempo máximo de recepción de la muestra en el Laboratorio de Microbiología de 72 horas (290).

- Procesamiento de las muestras:

Todas las muestras fueron analizadas mediante métodos de PCR, siendo este el único método diagnóstico empleado a lo largo del estudio. El ADN bacteriano se obtuvo con el extractor automático BioRobot® M48 (Qiagen GmbH, Hilden, Germany), hasta el año 2007 y a partir del año 2008 empleando el equipo NucliSens en el extractor automático EasyMAG (BioMérieux, Marnes-la-Coquette, France). En cada tanda de pruebas de PCR se introdujo un control negativo (control de agua) que se trataba idénticamente a la muestra original. Todos los procedimientos fueron ejecutados siguiendo las recomendaciones establecidas para evitar contaminaciones.

- Métodos de detección e identificación de *Bordetella*:

Entre 1998 y 2011 la detección de ADN de *B. pertussis* se efectuó empleando una PCR convencional “casera” con cebadores previamente descritos para amplificar la región IS481 (291). Desde julio de 2012 estas técnicas fueron sustituidas por una técnica comercial en tiempo real multiplex (kit SmartBp/Bpp, Cepheid AB), que permite la detección simultánea de *B. pertussis*, *B. parapertussis* y *B. bronchiseptica*, en base a la amplificación simultánea de las secuencias genéticas de inserción IS481 e IS1001. Desde el año 2015 se efectúa la detección de *B. holmesii* mediante una PCR en tiempo real “casera” que amplifica la región hIS1001 de esta bacteria (292). Las distintas PCRs se efectuaron en los correspondientes termocicladores validados (figura 32).



**Figura 32.** Termociclador CFX96 (BioRad) empleado en pruebas de PCR en tiempo real multiplex.

- Interpretación de resultados:

Los resultados microbiológicos fueron interpretados por personal facultativo experto en técnicas moleculares del Servicio de Microbiología del HUD.

- Instalaciones y equipos de investigación:

El Laboratorio de Microbiología del HUD posee la infraestructura e instalaciones necesarias para el procesamiento y manipulación de las muestras biológicas y sus derivados, cumpliendo las condiciones requeridas de bioseguridad en el trabajo. Para los trabajos de microbiología convencional dispone de congeladores a  $-80^{\circ}\text{C}$  para la conservación de las muestras, estufas, centrifugas normales y refrigeradas, campanas de seguridad biológica para el procesamiento de muestras biológicas contaminadas y preparación de medios de cultivo y equipo de fluorescencia. También del aparataje necesario y común a otras técnicas como baños de agua, agitadores-vortex, neveras, microscopios, soporte informático adecuado para el registro de resultados, etc.

Además, dispone de infraestructura adecuada para el desarrollo de técnicas moleculares con salas independientes, dotadas de gradientes de presión para manejo de muestras, preparación de reactivos, reacciones de amplificación, detección de productos de PCR y aparatos especiales como: lector de ADN (NanoDrop 1000TM), termocicladores convencionales (Applied ByoSystemsTM), cubetas y fuentes de alimentación para realización de electroforesis en gel de agarosa, Light-CyclerTM (Roche) y CFX™ (Bio-Rad) para realización de PCR en tiempo real, extractores automáticos de ácidos nucleicos (EasyMagTM, BioMerieux) (figura 33), etc.



**Figura 33.** Extractor de ácidos nucleicos Easy-MAG

## 5.7 POBLACIÓN OBJETO DE ESTUDIO

### 5.7.1 Inclusión de casos: estudio clínico y estudio epidemiológico

#### 5.7.1.1 Estudio clínico

Se incluyeron los casos sospechosos de tosferina que cumplían el criterio de laboratorio (PCR de *B. pertussis* en una muestra faríngea o nasofaríngea). Por tanto, se incluyeron solo casos confirmados microbiológicamente, con el fin de obtener datos fiables. De esta manera se evitaba la interferencia de infecciones producidas por otros microorganismos con espectro clínico parecido, sobre todo en los periodos en los que coexisten otras epidemias respiratorias de características clínicas similares.

Las muestras de los pacientes procedían de los Centros de Salud de las áreas de estudio, de las distintas Unidades de Hospitalización tanto de adultos como de pediatría del HUD, de las

distintas Consultas Externas del HUD, del Servicio de Urgencias Generales y de Urgencias Pediátricas del HUD. Para evitar episodios duplicados, sólo se incluyó la primera muestra recibida en el Servicio de Microbiología de cada paciente (una muestra por paciente).

#### 5.7.1.2 Estudio epidemiológico

Se utilizaron los datos oficiales existentes en la Unidad de Epidemiología de Gipuzkoa (Subdirección de Salud Pública y Adicciones, Departamento de Salud, Gobierno Vasco), contabilizándose no solo los casos confirmados que cumplieran criterios microbiológicos, sino también los casos probables (es decir que cumplen criterios clínicos y tienen vínculo epidemiológico con un caso confirmado) y los casos sospechosos (que cumplen criterios clínicos). Por este motivo, hay una discreta disparidad entre el número de pacientes obtenido en el estudio clínico y los registrados por el Departamento de Salud del Gobierno Vasco (estudio epidemiológico), discreta porque la mayor parte de los casos sospechosos o probables fueron objeto de estudio microbiológico.

#### 5.7.2 Definición de caso

Existen tres criterios establecidos (clínico, de laboratorio y epidemiológico) que se utilizan para la definición clásica de tosferina (202):

**Criterio clínico:** Todo lactante menor de un año con episodios de apnea o aquellas personas que presenten tos durante, al menos, dos semanas con, al menos, uno de estos tres signos:

- Tos paroxística.
- Estridor inspiratorio.
- Vómitos provocados por la tos.

**Criterio de laboratorio:** Al menos uno de los tres siguientes:

- Aislamiento de *B. pertussis* en una muestra clínica.
- Detección del ácido nucleico de *B. pertussis* en una muestra clínica.
- Respuesta de anticuerpos específicos de *B. pertussis*.

**Criterio epidemiológico:** Contacto con un caso de tosferina confirmado por laboratorio entre 6 y 20 días antes del inicio de los síntomas.

### 5.8 DEFINICIONES CLÍNICAS

**Apnea:** Episodio de ausencia de flujo respiratorio de duración superior a 20 segundos, independientemente de la repercusión clínica que presente, o episodios de ausencia de flujo

en la vía aérea de menor duración que se acompañan de repercusión cardiocirculatoria (bradicardia y/o hipoxemia) (293).

**Bronquiolitis:** Primer episodio agudo de sibilancias, en el contexto de una enfermedad respiratoria viral que afecta a lactantes menores de 24 meses (294).

**Bronquitis:** Bronquitis aguda, definida como una infección respiratoria de etiología viral que no suele durar más de dos semanas, con tos, con o sin expectoración, y sibilancias (294).

**Dificultad respiratoria:** Afección que involucra una sensación subjetiva de dificultad o incomodidad al respirar o la sensación de no estar recibiendo suficiente aire. Se define asimismo como la presencia de tiraje supraesternal, intercostal o subcostal y/o taquipnea.

**Cardiopatía congénita:** Malformaciones del corazón y los grandes vasos que se originan antes del nacimiento.

**Cianosis:** Coloración azul o lívida de mucosas y/o piel.

**Fiebre:** Temperatura superior a 37,5°C medida en región axilar y/o 38,0°C en recto.

**Oxigenoterapia:** Administración de oxígeno.

**Neumonía:** Diagnóstico según los criterios de la OMS.

**Neumopatía crónica:** Conjunto de las patologías crónicas que afectan a los pulmones, como displasia broncopulmonar (295) y asma (296).

**Prematuridad:** Un recién nacido que nace antes de la semana 37 de gestación (297).

**Rinorrea:** Emisión de abundante mucosidad por ambas fosas nasales.

**Ventilación mecánica:** Procedimiento de respiración artificial que emplea un aparato mecánico para ayudar o sustituir la función respiratoria.

**Ventilación mecánica no invasiva:** Cualquier forma de soporte ventilatorio administrado sin necesidad de intubación endotraqueal.

## 5.9 VARIABLES ANALIZADAS

En el estudio clínico se analizaron variables de diversos tipos en cada paciente con muestra de laboratorio positiva para *B. pertussis*. Los datos epidemiológicos y clínicos fueron recogidos de la Historia Clínica de cada paciente en el episodio de tosferina.

### Variables sociodemográficas

- Sexo
- Fecha de nacimiento
- Fecha de recogida de la muestra microbiológica
- Procedencia de la muestra (Atención Primaria, Urgencias, Hospitalización)
- Localidad de residencia

### **Variables epidemiológicas**

- Existencia de ambiente epidemiológico familiar
- Relación del caso con muestra para tosferina positiva: hermano/a, padre/madre, hijo/a, abuelo/a, nieto/a, primo/a, tío/a, pareja, contacto escolar, laboral, nosocomial u otros.
- Recogida de muestras microbiológicas al resto de convivientes de un caso con muestra para tosferina positiva.

### **Variables clínicas**

- Antecedentes Personales
  - Tipo de lactancia durante los primeros meses: lactancia materna o artificial.
  - Antecedentes de prematuridad
  - Patología respiratoria (asma o displasia broncopulmonar, entre otros)
  - Patología cardíaca (tipo de cardiopatía)
- Vacunación frente a *B. pertussis*: número de dosis y fecha de la última vacuna.
- Motivo de consulta: si la recogida de la muestra se realizó como parte de un estudio en contactos estrechos asintomáticos, o bien por la presencia de sintomatología compatible (tos, apnea, cianosis, fiebre, rinorrea, vómitos o dificultad respiratoria).
- En el caso de presentar síntomas, las variables clínicas recogidas fueron: tos, días de tos, características de la tos (tos en accesos o no), la presencia de gallo inspiratorio, apneas, cianosis, fiebre (y días de fiebre), rinorrea, vómitos o pérdida de apetito.
- Diagnóstico: se recogieron los distintos diagnósticos de cada episodio de tosferina, catalogándose en infección respiratoria de vías altas, bronquiolitis, apnea, neumonía, tos crónica, cianosis, bronquitis, laringitis, tosferina maligna o asintomático.
- Se recogieron datos relativos a tratamiento previo a la recogida de la muestra y tipo de tratamiento (antibiótico, broncodilatador, antitusivos, mucolíticos, corticoides u otros).

- Exploración física: estado general, frecuencia respiratoria, saturación de oxígeno, signos externos de dificultad respiratoria y anomalías en la auscultación pulmonar.

#### **Variables de diagnóstico de laboratorio e imagen**

- Tipo de muestra: frotis faríngeo, aspirado nasofaríngeo o serología para *B. pertussis*.
- Coinfección con otros virus respiratorios en el caso de pacientes ingresados.
- Variables analíticas en el momento agudo de la infección: hemograma (cifra absoluta de leucocitos, neutrófilos, monocitos, eosinófilos, plaquetas, hemoglobina, hematocrito), proteína C reactiva y procalcitonina, valores bioquímicos (sodio, cloro y potasio).
- Radiografía de tórax: condensaciones alveolares, infiltrados intersticiales...

#### **Variables de ingreso**

- Duración del ingreso en días: fecha de ingreso y fecha de alta.
- Unidad en la que se realiza el ingreso: Unidad de Hospitalización, Unidad de Cuidados Intensivos de Pediatría, Adultos.

#### **Variables de tratamiento**

- Tratamiento antibiótico con macrólido y tipo de macrólido (azitromicina, claritromicina, eritromicina).
- Necesidad de oxigenoterapia suplementaria, así como necesidad de ventilación mecánica (invasiva y no invasiva).
- Variables relacionadas con el número de consultas posteriores al diagnóstico microbiológico (si ha precisado nueva consulta por mismo motivo tras el diagnóstico, lugar en el que se ha realizado la consulta, número de consultas posteriores y la recogida de nuevas muestras microbiológica tras la confirmación de la infección por *B. pertussis*).
- Evolución (curación o éxitus).

### **5.10 ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Se construyó una base de datos Microsoft Access<sup>TM</sup> en la que se introdujeron los resultados microbiológicos junto con los datos demográficos, epidemiológicos y clínicos. El análisis

estadístico se efectuó en el paquete estadístico SPSS Statistics versión 24, IBM, Chicago, IL, USA.

De cada variable cualitativa se estableció la frecuencia absoluta y los porcentajes correspondientes. De cada variable cuantitativa continua de distribución normal se estableció la media y desviación estándar de la media, y en el caso de las que no presentaron una distribución normal, la mediana y el rango. Las variables categóricas se han descrito en proporciones.

Dependiendo de sus características, se realizó la comparación de las distintas variables. En el caso de variables cuantitativas de distribución normal en dos grupos independientes se realizó la prueba de la t de Student (en el caso de no seguir una distribución normal, se realizó la prueba estadística de la U de Mann Whitney). Para la comparación de las medias de una variable cuantitativa en más de dos grupos independientes de distribución normal, se realizó el análisis de varianza ANOVA (en el caso no seguir una distribución normal, se estudió mediante el test de Kruskal Wallis). Para la comparación de proporciones de una variable cualitativa de grupos independientes se realizó el test de chi cuadrado ( $\chi^2$ ) de Pearson o la prueba exacta de Fisher considerando significativos, en todos los casos, los valores de p menores de 0,05.

El estudio se divide en tres subestudios. En primer lugar, se ha estudiado la situación de la tosferina en base a los datos de vigilancia epidemiológica de Gipuzkoa y de la CAVP, describiendo la incidencia de la enfermedad en el Territorio y su evolución en el tiempo a nivel global, por grupos de edad, tamaño de localidad... En segundo lugar, y durante el período de reemergencia, se ha realizado un análisis clínico-epidemiológico de los casos de tosferina confirmados. Finalmente, se ha analizado el impacto de la tosferina en el Sistema de Salud en el período de reemergencia, en términos de necesidad de consulta en Centros de Salud, Servicios de Urgencias, así como de hospitalización.

### **5.11 ASPECTOS ÉTICOS**

Este proyecto de Investigación fue aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica (CEIC) del HU Donostia, de acuerdo a la Ley 14/2007 de Investigación Biomédica, Principios Éticos de la declaración de Helsinki y resto de principios éticos aplicables.

### **5.12 HERRAMIENTAS INFORMÁTICAS**

Los programas informáticos utilizados para la realización de la presente Tesis Doctoral fueron los siguientes:

Búsqueda bibliográfica:

- PubMed (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>)
- Cochrane Library (<http://www.cochranelibrary.com/>)

Gestor bibliográfico:

- Mendeley Desktop 1.17.12

Análisis estadístico:

- Paquete estadístico SPSS Statistics versión 24

### **5.13 CONFLICTO DE INTERESES**

La doctoranda y los codirectores de esta Tesis Doctoral, declaran no tener conflicto de intereses.

## **6 RESULTADOS**

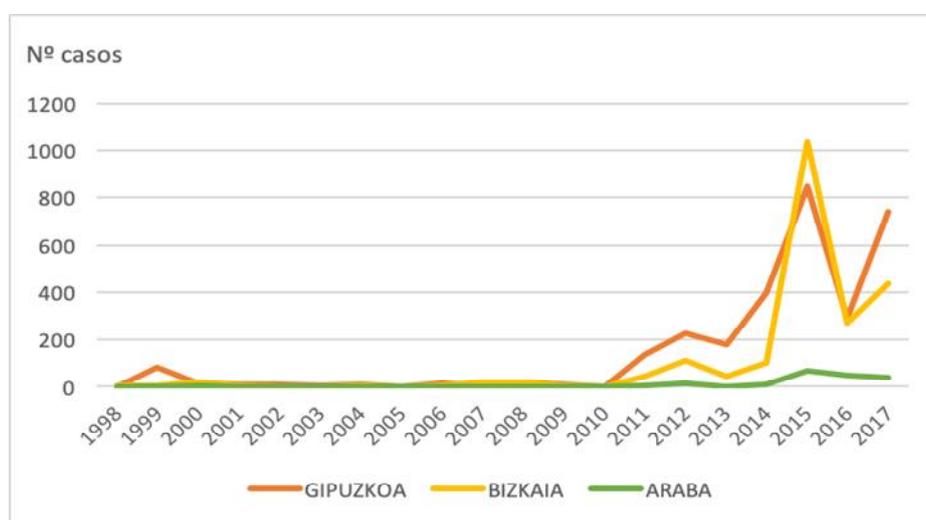
## 6.1 TOSFERINA EN BASE A LOS DATOS DE VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA DE GIPUZKOA Y DE LA COMUNIDAD AUTÓNOMA DEL PAÍS VASCO

Los métodos de este apartado han sido detallados en los puntos 5.5.1. (Datos de Vigilancia epidemiológica) y 5.7.1 (Inclusión de casos: estudio clínico y estudio epidemiológico) de la Sección Métodos.

### 6.1.1 Casos por Territorio Histórico y año (CAPV 1998-2017)

Entre 1998 y 2017 se declararon en la CAPV un total de 5349 casos de tosferina, con distribución por Territorio desigual. Sin embargo, la incidencia mostró una tendencia similar en los tres Territorios, creciente a partir de 2011. Gipuzkoa fue el Territorio con mayor número de casos declarados, seguido de Bizkaia y Araba (figura 34).

En Araba se declararon 216 casos (4,0% del total de casos de la CAPV). En este Territorio, hasta el año 2012 el número de pacientes detectados por año no superó los seis casos. Posteriormente, al igual que en los otros Territorios, los casos fueron en aumento alcanzándose la incidencia máxima en 2015 (70 casos). En Bizkaia, que ese mismo año fue el Territorio del País Vasco que declaró más casos de tosferina (1.035), la cifra total correspondiente al periodo 1998-2017 fue de 2129 casos (39,8% del total de casos de la CAPV). Gipuzkoa fue el Territorio con mayor número de casos declarados, 3004 (56,2% del total de casos de la CAPV). En número de casos registrados, el pico de la epidemia en Gipuzkoa fue algo menor que en Bizkaia (en 2015, el año de mayor incidencia, se declararon 846 casos), pero ésta fue más prolongada en el tiempo (se declaró un mayor número de casos con respecto a Bizkaia desde 2011).



**Figura 34.** Distribución del número de casos de tosferina por territorio y año.**6.1.2 Incidencia (casos por 100.000 habitantes) por Territorio Histórico y año (CAPV 1998-2017)**

Teniendo en cuenta la población de cada Territorio, la tasa de incidencia de tosferina más elevada se registró en Gipuzkoa, seguida de Bizkaia y Araba (tabla 10). En Gipuzkoa, la tasa mínima se registró en el año 2005 (0,15/100.000 hab.) y la máxima en 2015 (119,2/100.000 hab.). Asimismo, llama la atención el pequeño brote que ocurrió en Gipuzkoa en 1999 (12,0 casos/100.000 hab., incidencia similar a la registrada en 2011). En Bizkaia, durante todo el periodo de estudio la tasa osciló entre 0,2 y 90,7/100.000 hab. (año 2015) y en Araba entre 0/100.000 hab. (ya que algunos años no se detectó ningún caso de tosferina, como ocurrió en 1998, 2002, 2010 y 2013) y 21,6/100.000 hab. (2015). En 2017 se constató un nuevo repunte de tosferina en Bizkaia y especialmente Gipuzkoa.

	Gipuzkoa		Bizkaia		Araba	
	Nº casos	Tasa de Incidencia	Nº casos	Tasa de Incidencia	Nº casos	Tasa de Incidencia
1998	2	0,29	4	0,36	0	0
1999	81	11,96	4	0,35	2	0,71
2000	15	2,21	19	1,68	6	2,13
2001	8	1,18	3	0,27	1	0,35
2002	11	1,62	1	0,88	0	0
2003	6	0,89	2	0,18	1	0,34
2004	11	1,63	3	0,27	1	0,34
2005	1	0,15	2	0,18	2	0,67
2006	13	1,93	6	0,53	1	0,33
2007	7	1,04	19	1,69	1	0,34
2008	21	3,06	18	1,58	2	0,65
2009	10	1,50	5	0,44	1	0,32
2010	2	0,30	2	0,18	0	0
2011	134	19,51	42	3,69	3	0,94
2012	229	32,58	110	9,55	15	4,71

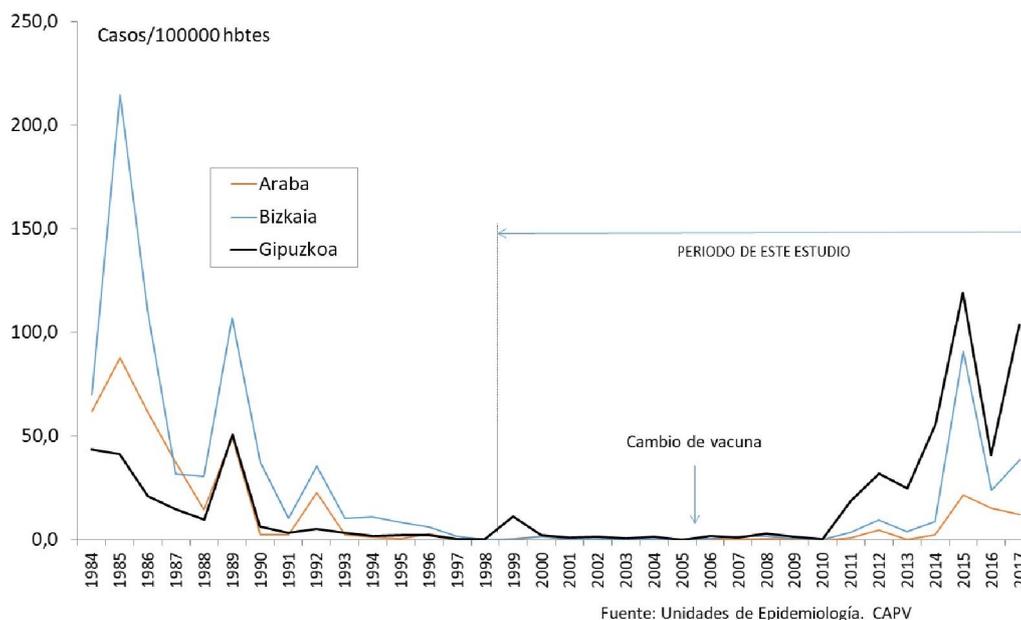
<b>2013</b>	177	25,10	44	3,81	0	0
<b>2014</b>	399	56,58	102	8,91	9	2,80
<b>2015</b>	846	119,15	1035	90,67	70	21,63
<b>2016</b>	292	41,09	270	23,71	49	15,20
<b>2017</b>	739	103,70	438	38,46	40	12,36

**Tabla 10.** Tosferina: Tasa de incidencia (Casos/100.000 hab.) por territorio y año.

### **6.1.3 Incidencia (serie histórica 1984-2017) en los tres Territorios de la Comunidad Autónoma del País Vasco.**

Con el fin de poner en contexto los casos declarados de tosferina en el período de estudio (1998-2017) se ha recogido también la evolución de la incidencia declarada en la CAPV desde 1984, primer año con datos de registro fiable. Los casos declarados con anterioridad a 1998 (inicio de este estudio) corresponden en su práctica totalidad a casos sospechosos procedentes del sistema de Enfermedades de Declaración Obligatoria, puesto que, en ese período, fue excepcional la confirmación microbiológica.

La parte izquierda de la gráfica (figura 35) permite ver los ciclos epidémicos naturales de la tosferina, antes de que se consiguiera el control de la enfermedad tras la introducción de la vacunación, ciclos que se sucedían cada 3-5 años y de magnitud progresivamente menor. Estas epidemias dejaron de verse entre mediados de los 90 y 2010, y sólo en 1999 se registró un pequeño brote, como antes se ha referido, en Gipuzkoa. Con la excepción de dicho año en Gipuzkoa, la incidencia a partir de 1997 se mantuvo muy baja en los tres Territorios, por debajo de 3,5 casos/100.000 hab. Pero en 2011, se observó un incremento de la incidencia, más evidente en Gipuzkoa, que siguió creciendo en 2012, 2014, 2015 y 2017, rebasándose en este Territorio los 100 casos/100.000 hab., una cifra 50 veces más elevada que la observada en la primera década de este siglo.



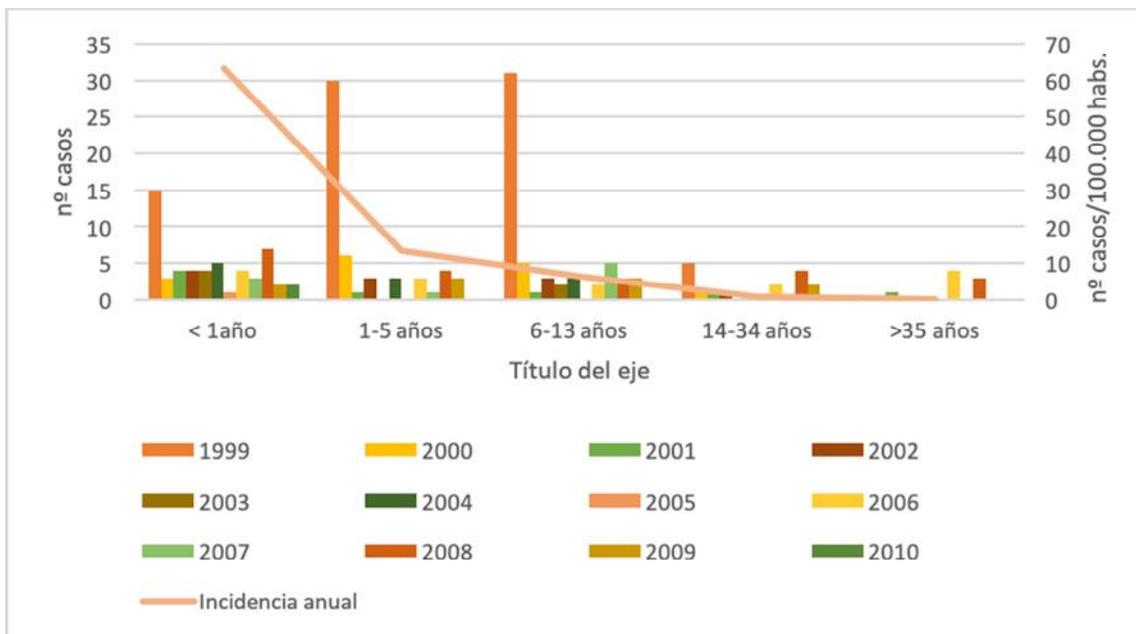
**Figura 35.** Incidencia de tosferina en los tres Territorios de la Comunidad Autónoma del País Vasco 1984-2017.

#### 6.1.4 Casos y tasa de incidencia por grupo de edad (Gipuzkoa 1999-2017)

A continuación, se muestra la distribución de los casos de tosferina en Gipuzkoa en el periodo 1999-2017 según el año natural y el grupo de edad. Se han distribuido los datos en dos gráficas separadas (hasta 2010 y desde 2011 hasta 2017) para facilitar su presentación (figura 36 y 37). Nótese que la escala correspondiente a ambos ejes presenta rangos muy diferentes en ambas figuras, debido al diferente nivel de circulación de *B. pertussis* en ambos subperíodos. En el primer subperíodo (previo a 2010) el mayor número de casos correspondió a los niños menores de 13 años de edad (en todos los tramos) siendo raramente detectados casos en adultos. En el segundo (2011-2017) disminuyó el peso relativo de los menores de 1 año aumentando el de los niños mayores y el de los adultos, especialmente mayores de 35 años.

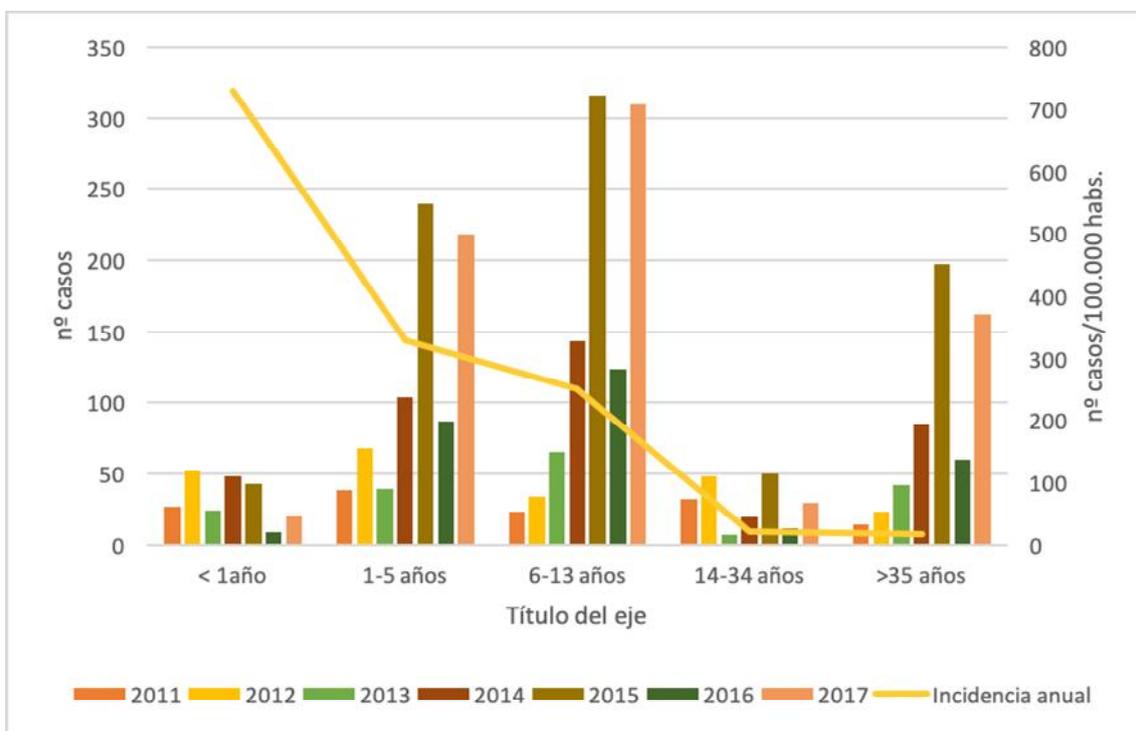
La incidencia media de tosferina por grupo de edad (casos/100.000 hab., período 1999-2017) fue máxima en los menores de 1 año (326,7), y mostró una tendencia descendente, siendo 101,3, 73,4, 7,5 y 5,1 en los grupos de 1-5, 6-13, 13-44 y >35 años de edad, respectivamente. Sin embargo, en los últimos años del estudio aumentó el número de casos especialmente en los niños de 1-5 y 6-13 años de edad, así como en los mayores de 35 años y la gráfica de incidencia mostró una tendencia a aplanarse. En concreto en el último bienio del estudio (2016-2017) la incidencia (casos/100.000 hab.) para los grupos citados fue 331,8 (< 1 año),

441,5 (1-5 años), 375,5 (6-13 años), 14,7 (14-34 años) y 23,5 ( $\geq 35$  años de edad), dejando de ser los menores de 1 año de edad el grupo de mayor incidencia.



Nota: no se muestran los datos correspondientes a 1998 ya que en ese año solo se dieron 2 casos.

**Figura 36.** Distribución del número de casos de tosferina por edad y año. Incidencia por grupo de edad (1999-2010). Datos en Anexo 1.



**Figura 37.** Distribución del número de casos de tosferina por edad y año. Incidencia por grupo de edad (2011-2017). Datos en Anexo 2.

La incidencia por grupo de edad obtenida en los dos períodos puede observarse en la tabla 11 y en mayor detalle en los anexos 1 y 2.

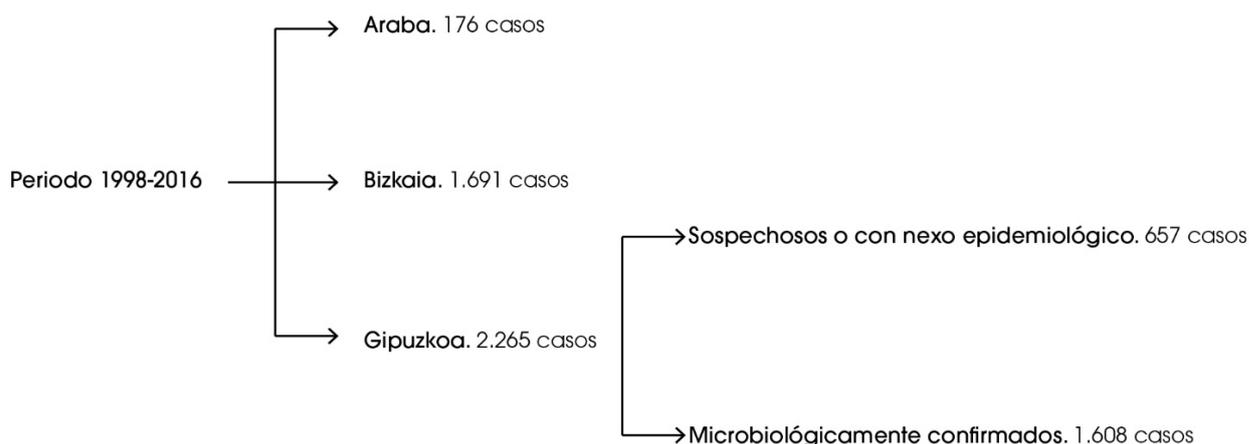
Período	<1 año	1-5 años	6-13 años	14-34 años	≥35 años	Total
	Nº (tasa)	Nº (tasa)	Nº (tasa)	Nº (tasa)	Nº (tasa)	Nº (tasa)
<b>1998-2001</b>	54 (63)	54 (13)	58 (6,5)	16 (0,9)	8 (0,2)	190 (2,3)
<b>2011-2017</b>	223 (729)	794 (328)	1015 (251)	196 (20,6)	583 (17,6)	2811 (57,0)
<b>ratio</b>	4,1	14,7	17,5	12,3	72,9	14,8

**Tabla 11.** Casos, incidencia media anual (casos/100.000 habitantes) por grupo de edad en base a los casos declarados en Gipuzkoa (1998-2017), y ratio de incidencias en dos períodos de estudio.

## 6.2 TOSFERINA. ESTUDIO DE LOS CASOS CONFIRMADOS MICROBIOLÓGICAMENTE

### 6.2.1 CARACTERÍSTICAS SOCIODEMOGRÁFICAS Y EPIDEMIOLÓGICAS

En este subestudio, desde enero 1998 a diciembre 2016, se incluyeron todos los pacientes de Gipuzkoa con muestras clínicas en las que se detectó *B. pertussis* (casos confirmados microbiológicamente). En concreto, se analizaron las historias clínicas de 1.608 pacientes con tosferina confirmada (en su totalidad mediante PCR), procedentes tanto de pacientes ingresados en el HUD o en hospitales comarcales de Gipuzkoa, como de casos atendidos en Urgencias o en Centros de Salud de la provincia. En este capítulo se muestra el análisis descriptivo, observacional, con las características sociodemográficas más relevantes tras el estudio pormenorizado de la cohorte (figura 38).



**Figura 38.** Distribución del número de casos de tosferina en el periodo de estudio 1998-2016.

### 6.2.1.1 Proporción de casos confirmados respecto al total de casos declarados

Si bien, globalmente, entre 1998 y 2016 el 71,1% de los casos declarados en Gipuzkoa (1608/2263), fueron confirmados microbiológicamente, a lo largo del periodo estudiado la relación entre el número de casos sospechosos/probables y confirmados no fue uniforme. En 1999, un 48,1% de los casos fueron confirmados microbiológicamente. Desde el año 2002 los casos confirmados constituyeron más del 80% del total salvo en 2011 (en el que representaron el 59,7% del número total).

### 6.2.1.2 Casos confirmados por año

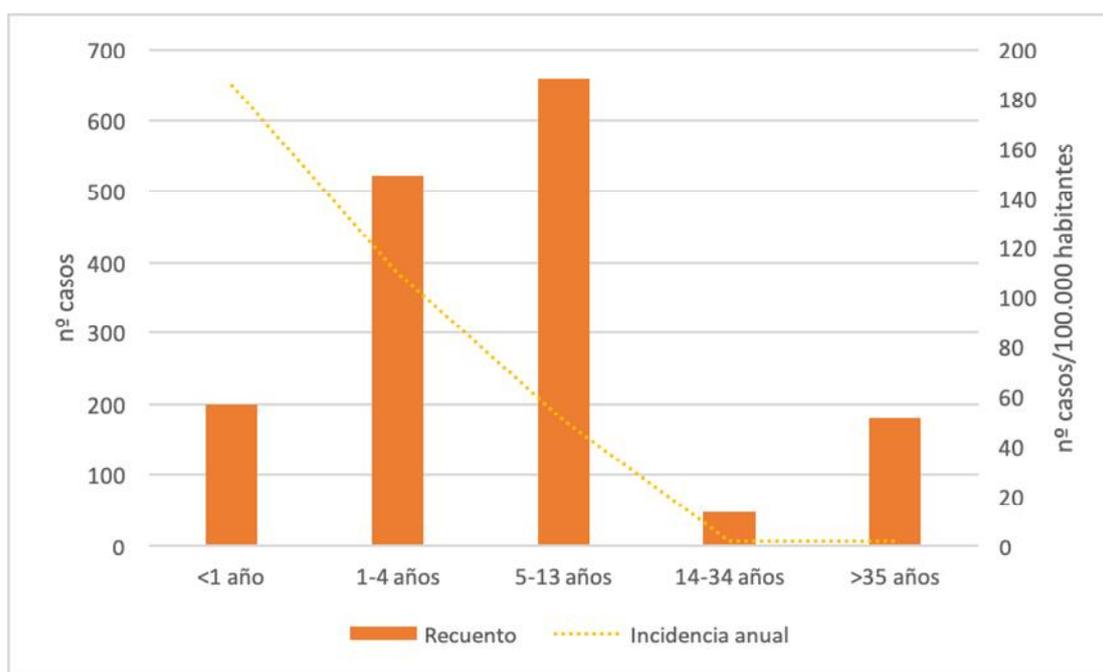
La distribución del número de casos confirmados por año en el periodo estudiado siguió una tendencia similar a la obtenida de los datos de Vigilancia Epidemiológica. El número anual osciló entre 0 en 1998 y 637 en 2015 (año de máxima incidencia).

En el periodo de estudio, como se ha señalado en los datos de vigilancia epidemiológica, también en base a los casos confirmados se observaron dos brotes y/o ondas epidémicas: un pequeño brote correspondiente a 1999 con 41 casos confirmados (2,5% de los casos confirmados en el período de estudio), y una importante epidemia que abarcó desde 2011 a 2016, con 1.484 casos (92,2% del total de casos confirmados entre 1998 y 2016). En el resto del período de estudio, desde el año 2000 al 2010, hubo una media anual de 7,5 casos confirmados, representando el 5,2% de los casos confirmados. En 2016 se observó un importante descenso (28,4% respecto a 2015), volviéndose a cifras cercanas a las referidas para el año 2013 (los datos concretos pueden verse en el Anexo 2), pero en 2017 (ya finalizado el estudio de casos confirmados) la tendencia se volvió a invertir con un nuevo e importante incremento.

### 6.2.1.3 Casos confirmados por edad

La distribución del número de casos confirmados entre los distintos grupos de edad (menores de un año, 1-4 años, de 5-13 años, de 14-34 años y 35 y mayores) se muestra en la figura 39. Como se ha referido en los datos de vigilancia epidemiológica, la distribución de los casos no fue uniforme en relación a la edad.

A nivel global y en números absolutos, el grupo de 5-13 años reunió el mayor número de casos confirmados, con un 41% del total ( $n=659$ ), seguido del de 1-4 años, con un 32,5% ( $n=522$ ), y de los menores de un año, que sumaron un 12,4% ( $n=200$ ). Los mayores de 35 años aportaron un número de casos similar a los menores de un año, representando un 11,1% ( $n=178$ ) de los casos confirmados. Por último, los adolescentes y adultos jóvenes (14-34 años de edad), aportaron el número de casos menor, representando el 2,9% de la muestra ( $n=47$ ). Entre los 200 casos confirmados en menores de 1 año de edad, 60 correspondieron a menores de 2 meses (30%), 62 a niños de 2 y <4 meses (31%), y 27 a niños de 4 y <6 meses (13,5%). Los datos son similares a los obtenidos en base a los casos declarados.

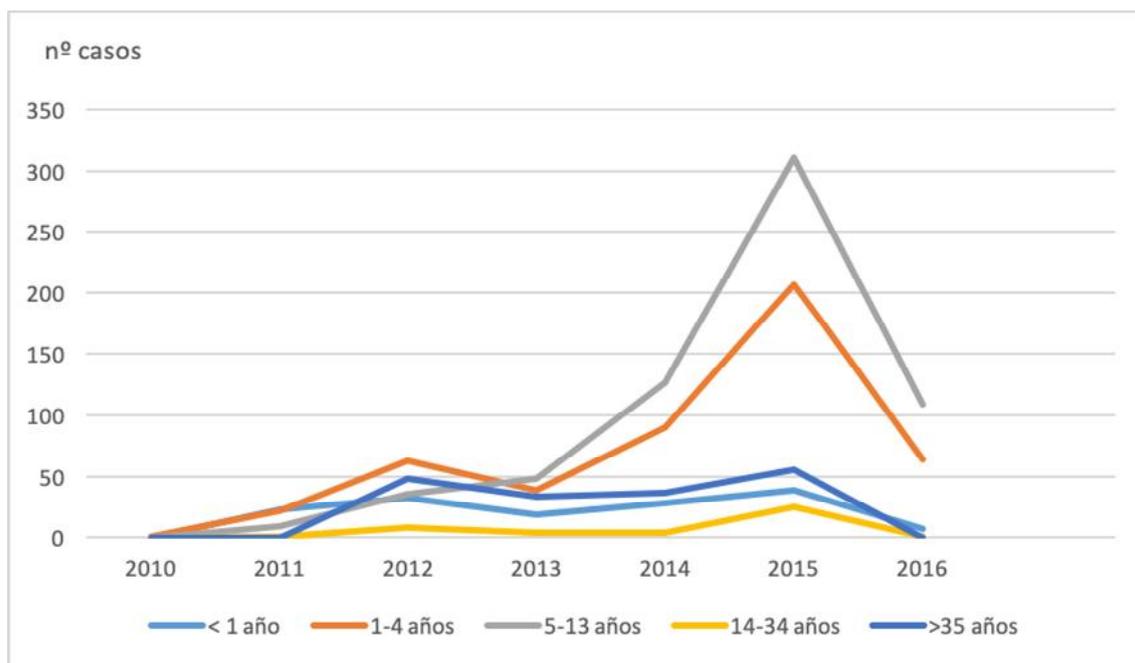


**Figura 39.** Distribución del número de casos confirmados de tosferina por grupo de edad (1998-2016).

Sin embargo, cuando se trasladan estos datos a incidencia media anual la imagen es diferente. Para el periodo epidémico (2011-2016), y en base a los casos declarados, la incidencia media anual disminuyó con la edad, siendo 774,2 casos/100.000 hab. y año para menores de 1 año de edad y 277,9, 203,3, 20,5 y 14,9 para los de 2-5, 6-13, 14-34 y >35 años de edad,

respectivamente. Esta diferencia con la visión obtenida cuando se miran números absolutos es debida a que las categorías de edad son arbitrarias y la magnitud de su denominador poblacional muy diferente.

En la figura 40 se muestra la distribución del número de casos según los grupos de edad, en los años del estudio. Se puede observar cómo el incremento de incidencia registrado a partir del año 2011 afectó en mayor o menor medida a todos los grupos de edad.

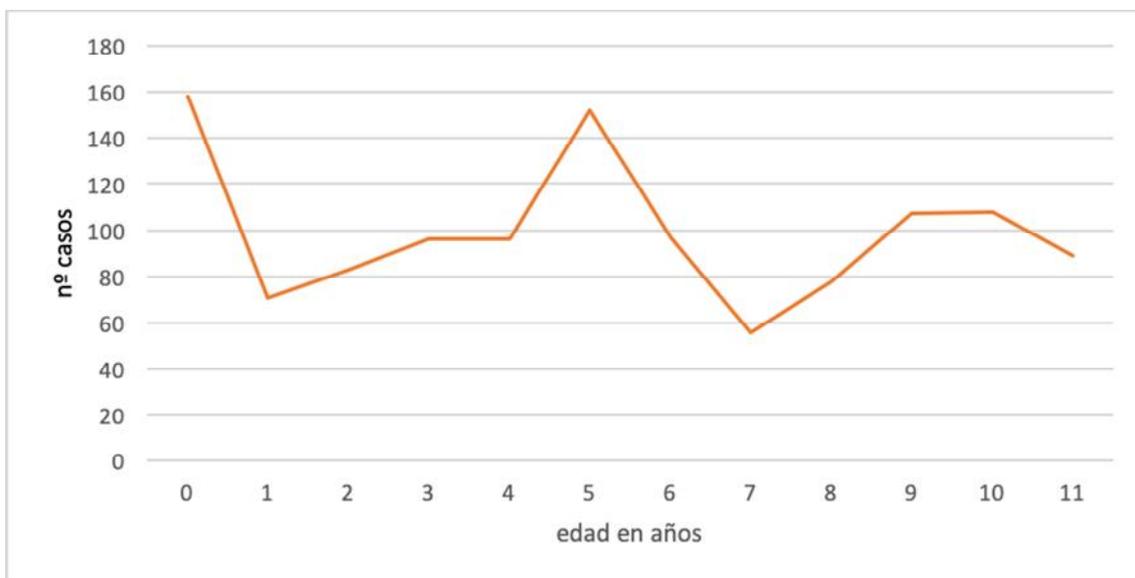


**Figura 40.** Distribución del número de casos de tosferina confirmados por grupo de edad y año (2010-2016)

La distribución por edad referida en la muestra global en el párrafo anterior presentó variaciones a lo largo del período de estudio. En el subperíodo 2000-2009, los menores de un año constituyeron el grupo en el que se detectaron más casos. Sin embargo, posteriormente se observó una tendencia al aumento en la edad de los casos siendo el grupo de 1-4 años el que aportó más casos en el período 2011-2012 y el de 5-13 años entre los años 2013 y 2016. Los datos concretos pueden verse en el Anexo 3.

Estos resultados (distribución por año y por edad) son coherentes con los obtenidos en el estudio en base a los casos declarados (Vigilancia epidemiológica, apartado 6.1.4) y apoyan por tanto la fiabilidad de los datos obtenidos con los pacientes confirmados microbiológicamente.

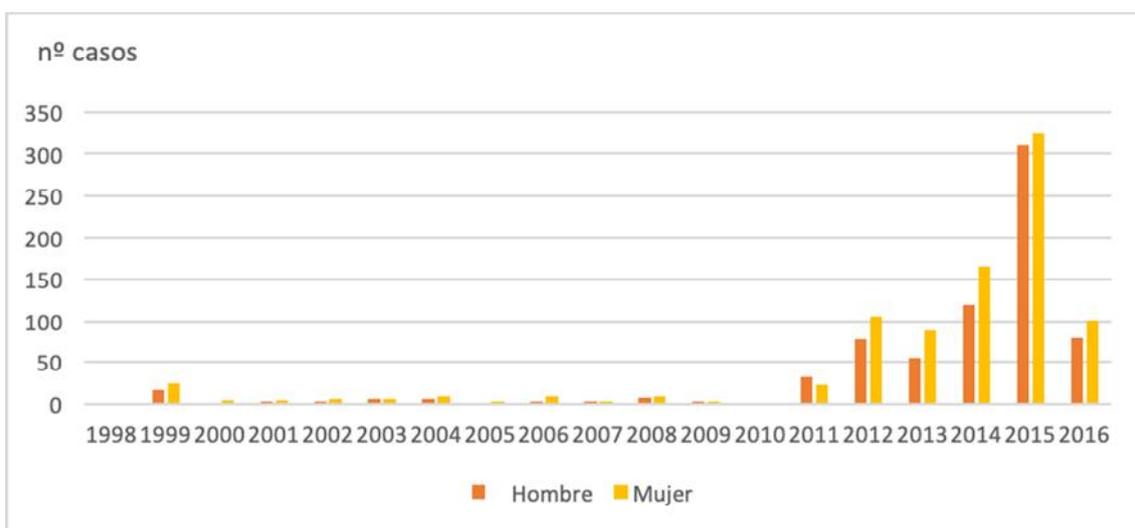
En este último período, al analizar pormenorizadamente (por cada año de edad) la distribución de los casos confirmados de tosferina en la primera década de la vida, se observó la ocurrencia de un mayor número de casos en los menores de un año, con un descenso posterior, pero incrementos en los niños de 5 años y a partir de los 8-9 años de edad (figura 41).



**Figura 41.** Casos confirmados de tosferina según la edad en años (2011-2016).

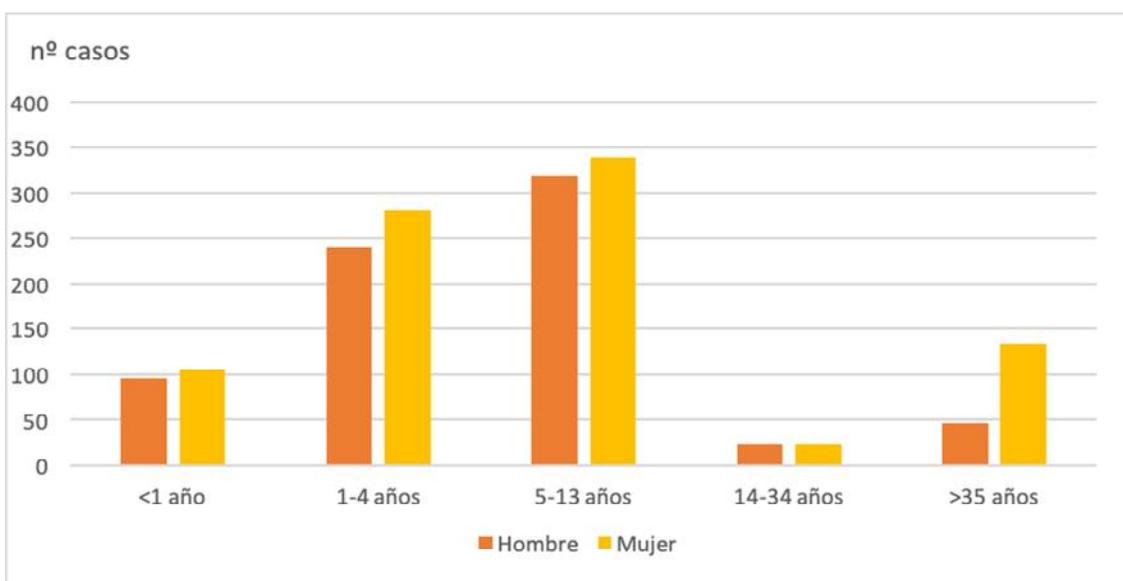
#### 6.2.1.4 Casos confirmados por sexo

A nivel global, se detectó un mayor número de casos en mujeres, siendo mujeres el 54,9% de los casos (n=883). Se observó un predominio de mujeres todos los años del estudio, exceptuando 2011 en el que los hombres constituyeron el 58,2% (figura 42).



**Figura 42.** Casos confirmados de tosferina por sexo y año natural (1998-2016).

Al analizar la relación entre sexo y grupo de edad, se encontró una relación estadísticamente significativa entre ambas [ $\chi^2$  (4gl)=31,491;  $p<0,001$ ]. Como se puede observar en la figura 43, la mayor diferencia se observó en los mayores de 35 años (proporción de mujeres 74,3%), siendo esta diferencia estadísticamente significativa ( $p<0,01$ ), mientras que, en el resto de grupos de edad, aunque la proporción fue mayor también en mujeres, las diferencias no alcanzaron significación estadística.

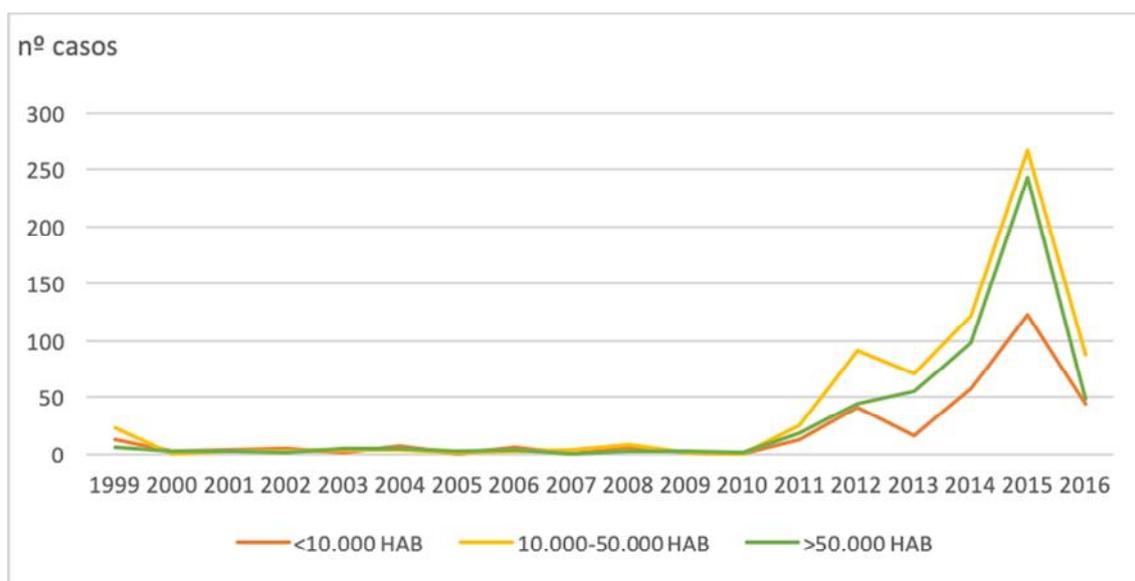


**Figura 43.** Casos confirmados de tosferina por sexo y grupo de edad (1998-2016).

#### 6.2.1.5 Distribución geográfica (Gipuzkoa) de los casos confirmados

La infección se distribuyó ampliamente por el Territorio. La incidencia media anual para 2011-2016 osciló entre 50,4 o 47,3 casos/100.000 hab. en las áreas sanitarias de mayor incidencia, San Sebastián y Bidasoa, respectivamente y 22,6 en la de menor, Bajo Deba. La evolución anual del número de casos por Área Sanitaria y Centro de Salud puede observarse en el Anexo 4 y Anexo 5 respectivamente.

La evolución de la epidemia de tosferina en localidades con menos de 10.000 habitantes (ámbito rural), de 10.000-50.000 habitantes, y de más de 50.000 habitantes (ámbito urbano) fue similar, observándose en todas ellas un incremento en el número de casos durante el período 2011-2016 (figura 44). Las poblaciones medianas (entre 10.000 y 50.000 habitantes) registraron un número algo mayor de casos todos los años, lo que se corresponde bien con la demografía del Territorio, ya que el 38,7%, 40,5% y 20,8% de los habitantes vive en municipios con más de 50.000, de 10000 a 50.000 y menos de 10.000 habitantes, respectivamente.



**Figura 44.** Infección por *B. pertussis* en relación al número de habitantes del municipio de residencia (1999-2016).

### 6.2.1.6 Estacionalidad de los casos confirmados

#### 6.2.1.6.1 Casos por mes y por mes y año

Se observó circulación de *B. pertussis* durante todo el año. Globalmente, el mes con mayor número de casos en el período 1998-2016 fue mayo (n=224) (13,9%), seguido de junio (n=197) (12,3%), agosto (n=195) (12,1%) y julio (n=193) (12,0%). El mes con menor número de casos fue enero (n=57) (3,5%), seguido de diciembre (n=61) (3,8%) (figura 45).



**Figura 45.** Distribución estacional de los casos confirmados de tosferina (1998-2016).

Al analizar la circulación de la bacteria por año en el período 2011-2016 (figura 46), se constataron períodos epidémicos prolongados, de perfiles poco acusados, con detección ininterrumpida de *B. pertussis* durante muchos meses. Aunque se registraron diferencias entre unos y otros años, se observó una tendencia global a mayor detección de casos en períodos centrales del año (cálidos).

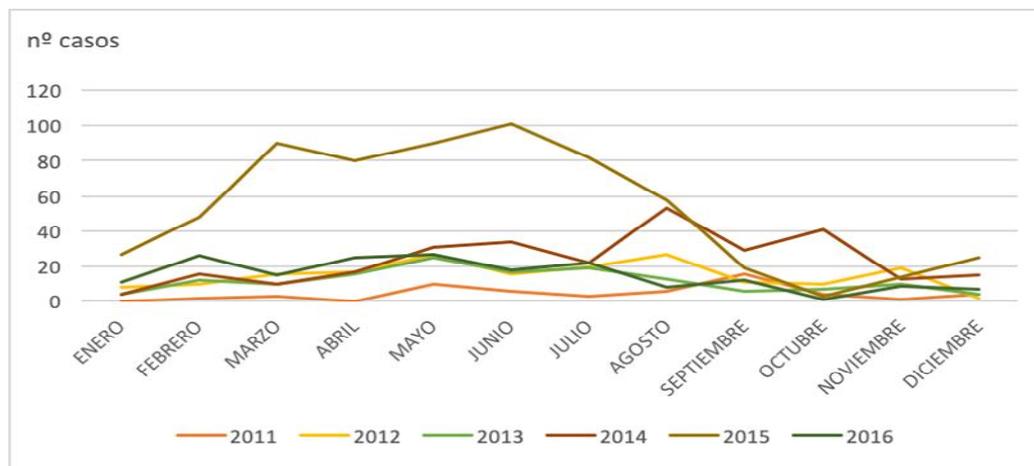
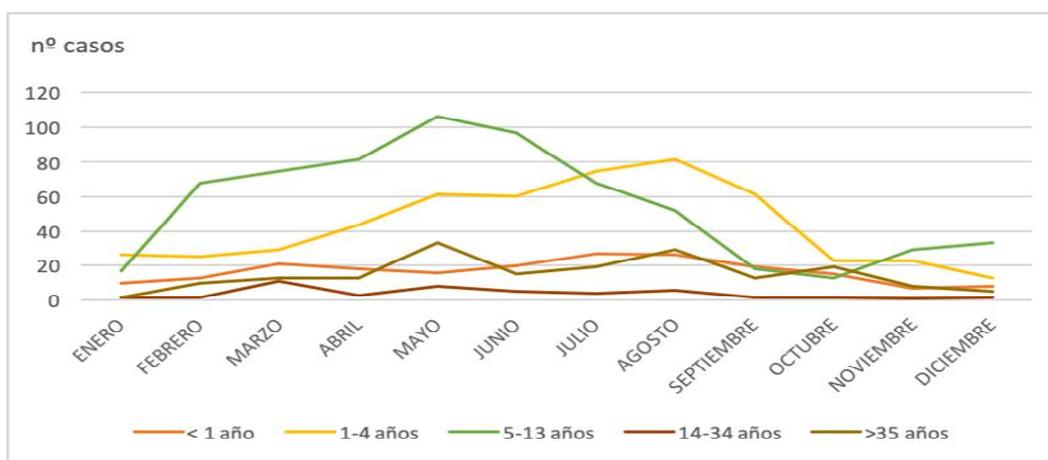


Figura 46. Casos confirmados de tosferina por año y mes (2011-2016).

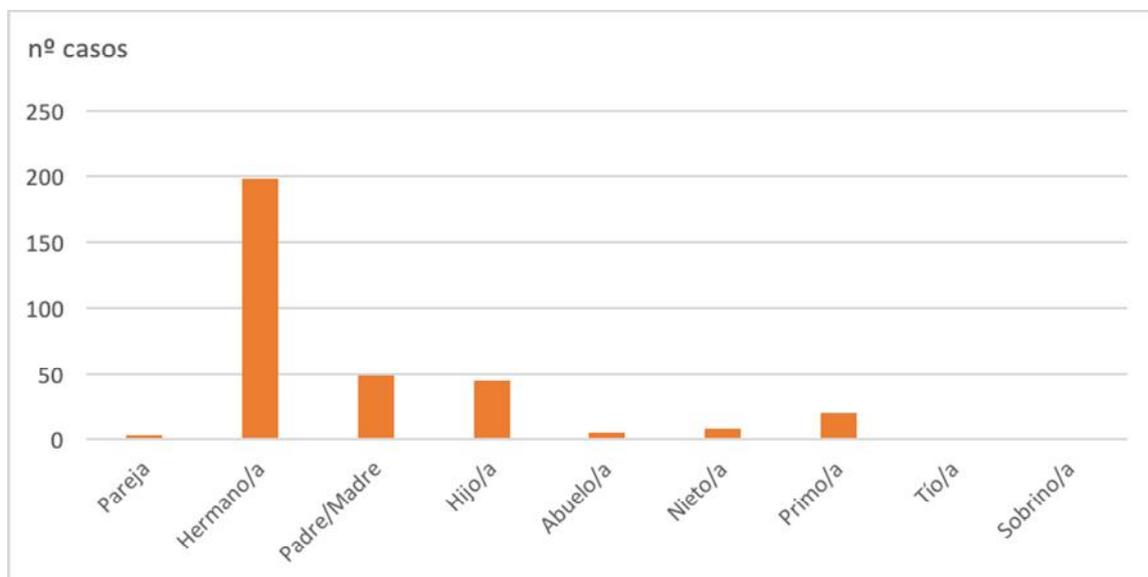
#### 6.2.1.6.2 Estacionalidad según grupo de edad

Se observaron pequeñas variaciones en la estacionalidad por grupo de edad (figura 47). Los pacientes con edades comprendidas entre 1 y 4 años, presentaron un incremento durante los meses de verano (incidencia máxima en agosto), a diferencia de los niños más mayores, de 5-13 años, en los que el mayor número de casos se registró en primavera (incidencia máxima en mayo). En todos los grupos se observó un descenso progresivo en la parte final del período estival.

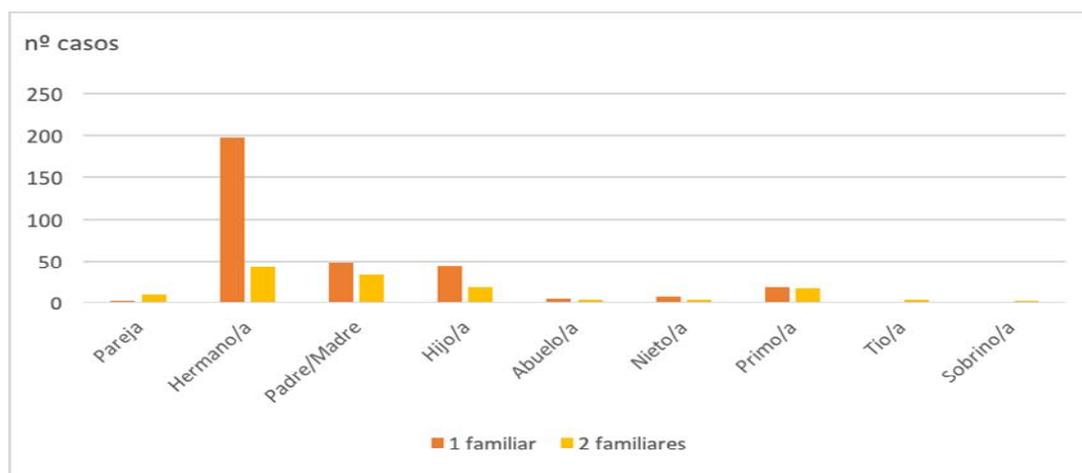


**Figura 47.** Casos confirmados de tosferina por mes y grupo de edad (1998-2016).**6.2.1.7 Relación de los casos confirmados con otros del mismo entorno****6.2.1.7.1 Casos en el entorno familiar**

Un 26,2% (n=421) del total de los casos confirmados microbiológicamente presentó alguna relación con otro caso en ámbito familiar también confirmado microbiológicamente. El 51,1% de estos casos se relacionó con un hermano o hermana afecto, seguido de la madre o el padre en un 17,8% de las ocasiones (madre, padre o ambos en el 63%, 28% y 9% de los casos respectivamente). La enfermedad del hijo o hija de un caso índice ocupó la tercera posición, con un 13,0% (figura 48). En 93 ocasiones (22,1%), el caso índice se asoció con dos (n=86) o más (n=7) familiares afectos.

**Figura 48.** Relación de parentesco entre los casos confirmados de tosferina dentro de un mismo núcleo familiar.

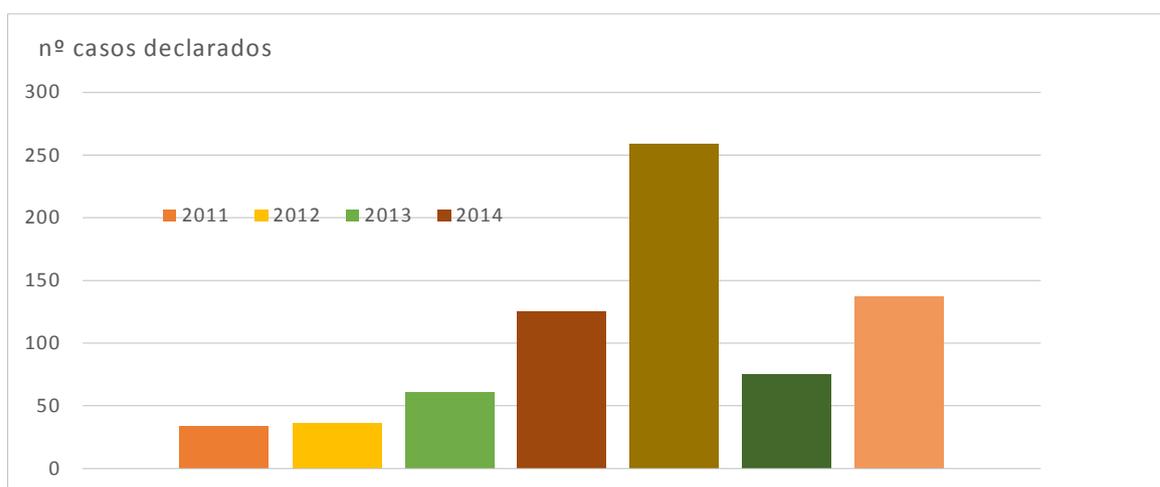
Al analizar por separado el parentesco en caso de tosferina en familiares del caso índice, se observó que cuando sólo se detectó un familiar afecto (además del caso índice), eran los hermanos el parentesco más relacionado, pero en caso de afectación de dos familiares, la diferencia entre la afectación de los hermanos y los padres/madres fue menor (figura 49).



**Figura 49.** Parentesco en el caso de uno o dos familiares afectados.

#### 6.2.1.7.2 Casos en el entorno escolar y laboral

Durante el período epidémico (2011-2017) se detectaron numerosos brotes en Centros escolares. En el año 2011, en base a los casos declarados, se detectaron 6 brotes, 4 de ellos en centros escolares, otro en un grupo de jóvenes deportistas y el último en una comunidad religiosa protestante. En el año 2012 se detectaron 6 brotes, todos en el ámbito escolar. En el año 2013 el número total de brotes ascendió a 9, también en el entorno escolar. Uno de los brotes, localizado en el barrio de Ondarreta, tuvo una evolución tórpida, ya que se extendió desde finales de marzo hasta mediados de julio a pesar de las medidas adoptadas. En los años posteriores el número de brotes ascendió a 17, 36, 13 y 23, todos en centros escolares, en 2014, 2015, 2016 y 2017 respectivamente. Por tanto, se detectaron un total de 110 brotes, la mayor parte (98%) en ámbito escolar, que sumaron el 25,8% del total de casos declarados (727/2812) (figura 50).



**Figura 50.** Casos declarados de tosferina asociados a brotes (2011-2017)

Entre los casos confirmados, en un total de 181 (11,2%), hubo constancia de nexo epidemiológico con un caso dentro de su mismo centro escolar o laboral. En la tabla 12 se muestra la distribución según el grupo de edad. Se puede observar cómo el grupo de edad entre 5-13 años fue el que concentró el mayor número de casos con nexo escolar. En cuanto a la transmisión de la enfermedad en centros de enseñanza superior y oficinas u otros centros de trabajo, los casos detectados sumaron el 4,4% de los casos con nexo epidemiológico.

Los casos con nexo epidemiológico representaron un 11,2% de los casos confirmados pero un 25,8% de los casos declarados. La diferencia es lógica si tenemos en cuenta que una parte importante de los casos declarados de tosferina que no son confirmados microbiológicamente, corresponden a casos probables (sospechosos con vínculo epidemiológico con un caso confirmado).

	Casos con nexo epidemiológico	Nº total de casos	Porcentaje	Porcentaje*
<1 año	1	200	0,6	0,5
1-4 años	53	523	29,3	10,1
5-13 años	119	660	65,7	18,0
14-34 años	4	47	2,2	8,5
≥35 años	4	178	2,2	2,2
<b>Total</b>	<b>181</b>	<b>1608</b>	<b>100</b>	<b>11,2</b>

\*Porcentaje de ocurrencia en brotes en relación al total de casos confirmados de ese grupo de edad.

Nota: Casos confirmados microbiológicamente

**Tabla 12.** Brotes de tosferina en centros escolares y laborales por grupo de edad

### 6.2.1.7.3 Casos secundarios a transmisión nosocomial

Se confirmaron (detección de *B. pertussis*) tres casos de infección nosocomial a lo largo del periodo estudiado (1998-2016).

El primero en 2008, en un lactante de 23 días ingresado en el Hospital de Zumárraga. El contagio se produjo por el compañero de habitación durante su ingreso, sin aislamiento respiratorio ya que se encontraba a la espera de la confirmación microbiológica. El neonato

fue trasladado al HUD por crisis de cianosis, presentando buena evolución clínica y recuperación en nueve días.

Los dos casos restantes ocurrieron en 2012 en el HUD. Uno de ellos fue un lactante de ocho meses correctamente vacunado, hospitalizado por otro motivo en el que se comprobó el contagio nosocomial a través de un compañero de habitación. Permaneció ingresado durante 19 días con buena evolución. El otro fue un lactante de un mes de vida, cuyo contacto también se produjo por un compañero de habitación. Precisó ingreso durante tres días más y fue dado de alta con recuperación completa. Desde el año 2012 no se han vuelto a registrar nuevos contagios nosocomiales en el HUD ni en ninguno de los hospitales comarcales de Gipuzkoa.

## **6.2.2 CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DE LOS CASOS DE TOSFERINA CONFIRMADOS**

### **6.2.2.1 Antecedentes gestacionales y patología previa**

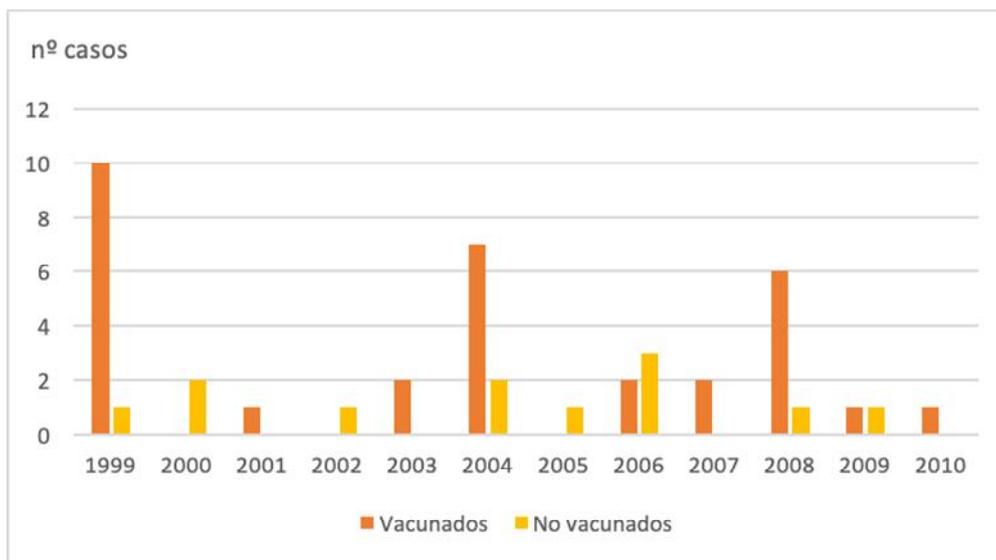
Entre los niños menores de un año la variable prematuridad se recogió en 178 casos (89,0%). De éstos, 14 habían sido prematuros (7,0% del total de la muestra).

Se dispuso información acerca de la existencia de patología respiratoria o cardíaca previa en el 86% de los niños con tosferina (n=1383). Un 15,4% presentó como antecedente patología respiratoria, siendo el 97,6% asma o episodios recurrentes de sibilancias (n=242), y un 2,4% displasia broncopulmonar (n=6). Por último, se identificaron 22 casos con cardiopatía (1,4% del total), siendo un grupo heterogéneo con pacientes afectados de cardiopatías congénitas (tetralogía de Fallot, canal atrioventricular completo, ductus arterioso persistente, comunicación interventricular y foramen oval permeable), miocardiopatías dilatadas (en un caso secundaria a sepsis meningocócica), estenosis valvulares y un paciente con síndrome de Wolff-Parkinson-White.

### **6.2.2.2 Antecedente de vacunación**

#### **6.2.2.2.1 Pacientes vacunados y no vacunados por año**

La distribución de la vacunación entre los casos con tosferina confirmada mostró un patrón heterogéneo, sobre todo durante la primera década del estudio, ya que el escaso número de casos en algunos años puede no representar correctamente la muestra. Por ello, la distribución de la variable vacunación se presenta en dos períodos distintos (1999-2010 y 2011-2016). Se han excluido del análisis los menores de 5 meses, ya que es probable que algunos no hayan recibido aún las dos dosis iniciales de vacuna, o que aun habiéndolas recibido no hayan desarrollado suficiente inmunidad contra la infección.

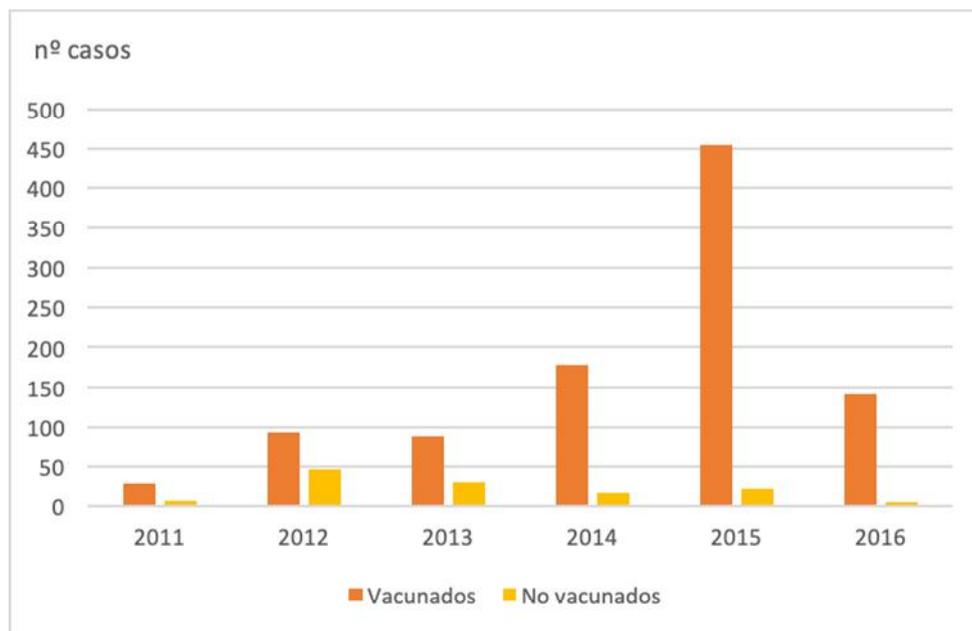


Nota: no se muestran los datos correspondientes a 1998 ya que en ese año solo se dieron 2 casos.

**Figura 51.** Pacientes vacunados y no vacunados por año (1999-2010).

En el primer periodo (1999-2010), el 72,7% de los casos confirmados había sido correctamente vacunado (figura 51). Asimismo, en el estudio que efectuó la Unidad de Epidemiología de los casos ocurridos en el brote epidémico de 1999, el 70,5% (93% para los de 5-9 años de edad) de los casos había completado el calendario vacunal para su edad.

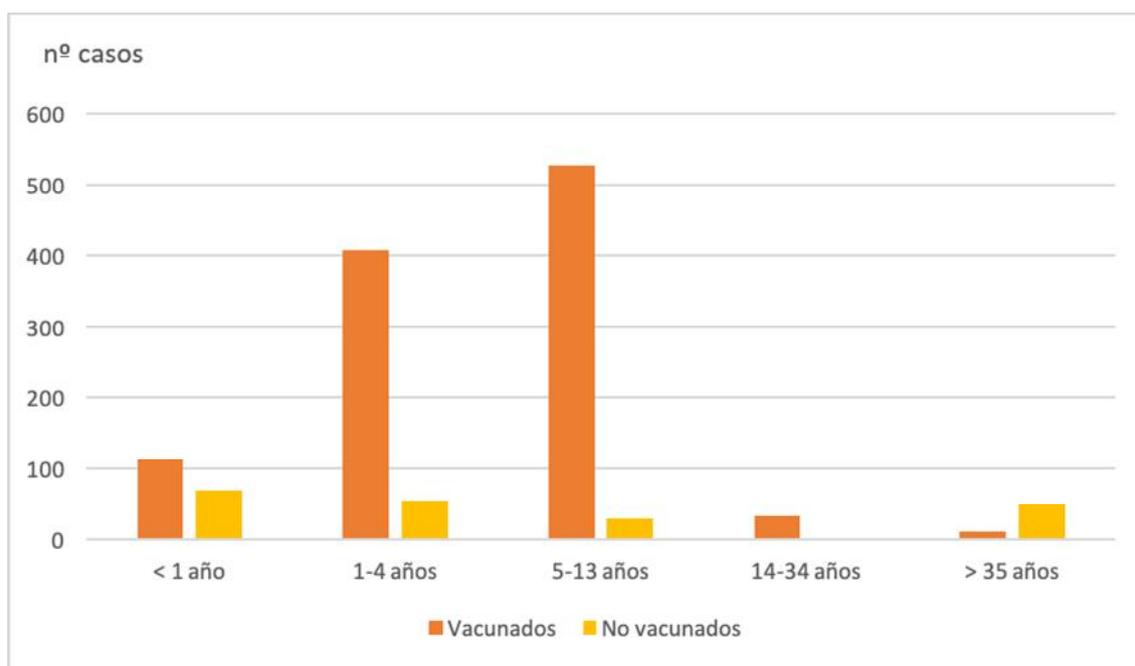
En el período 2011-2016 (onda epidémica), el porcentaje de casos pediátricos de tosferina que había sido correctamente vacunado fue mayor (88,6%) [ $\chi^2(1gl)= 10,08$ ;  $p=0,004$ ]. Además, se observó que el porcentaje de casos pediátricos vacunados aumentó en los últimos años de la epidemia (73,9% en 2011-2013 frente a 94,8% en 2014-2016), alcanzando el 97% en 2016 (figura 52).



**Figura 52.** Pacientes vacunados y no vacunados por año (2011-2016).

#### 6.2.2.2.2 Pacientes vacunados y no vacunados por grupo de edad

El análisis del porcentaje de sujetos vacunados por grupo de edad a lo largo de todo el periodo (figura 53), mostró, como era esperable, el menor valor en los mayores de 35 años (18,0%). El 88,3% de los niños de 1-4 años de edad había sido vacunado, mientras que este porcentaje fue 94,6% en el grupo de 5-13 años. Cabe destacar que el 100% de los casos entre 14-34 años manifestaron haber sido vacunados. La relación entre ambas variables (vacunación y grupo de edad) fue estadísticamente significativa [ $\chi^2(4gl)=328,605$ ;  $p<0,001$ ], observándose, como se ha dicho, una mayor proporción de pacientes vacunados en los grupos de edad comprendidos entre los 1 y 34 años de edad ( $p<0,05$ ).



**Figura 53.** Pacientes vacunados y no vacunados por grupo de edad (1998-2016).

El detalle de los datos obtenidos en los niños menores de 1 año puede verse en la tabla 13. Si bien el porcentaje global de vacunados fue solo de 61,5%, excluyendo los menores de 4 meses esta cifra ascendió a 84,6%.

	No vacunado	Si vacunado	Total
	Nº (%)	Nº (%)	Nº
<3 meses	65 (55,1%)	53 (44,9%)	118
4-6 meses	1 (2,6%)	37 (97,4%)	38
7-9 meses	3 (14,3%)	18 (85,7%)	21
10-12 meses	1 (20,0%)	4 (80,0%)	5
<b>Total</b>	<b>70 (38,5%)</b>	<b>112 (61,5%)</b>	<b>182</b>

**Tabla 13.** Distribución por edad de los pacientes con tosferina vacunados y no vacunados menores de 12 meses.

Estos datos son similares a los ofrecidos por las Memorias anuales del Servicio de Epidemiología de la Dirección Territorial de Gipuzkoa (Anexo 6).

### 6.2.2.2.3 Estado vacunal y afectación de otros miembros de la familia

Al analizar el estado vacunal de cada caso y la posibilidad de afectar a uno o varios miembros de su familia, se observó una relación estadísticamente significativa entre ambas variables [ $\chi^2(1)=8,386$ ;  $p=0,004$ ]. Hubo una mayor proporción en los no vacunados (59,7%, 71/119) que en los vacunados (45,1%, 257/570) de afectación de uno o más miembros de la familia ( $p<0,05$ ).

### 6.2.2.3 Principales manifestaciones clínicas

#### 6.2.2.3.1 Síntomas y signos clínicos principales y relación con la edad

El motivo principal de consulta más frecuente fue tos en accesos (72,3%), seguido a distancia de dificultad respiratoria (4,3%).

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido
Válido	Tos en accesos	1.164	72,3	84,9
	Apnea	29	1,8	2,1
	Cianosis	16	1,0	1,2
	Fiebre	4	0,2	0,3
	Cuadro catarral	4	0,2	0,3
	Vómitos	3	0,2	0,2
	Dificultad respiratoria	69	4,3	5,0
	<b>Total</b>	1.371	85,2	100,0
	Perdidos	237	14,8	
	<b>Total</b>	1.608	100,0	

**Tabla 14.** Síntomas clínicos principales en los casos de tosferina confirmados.

Los menores de un año presentaron en orden de frecuencia tos en accesos (67,4%), seguido de apneas (14,3%), cianosis (8%) y dificultad respiratoria (4%). En los restantes grupos de edad, la tos en accesos fue el síntoma predominante seguido de dificultad respiratoria, variando poco los porcentajes. La tos en accesos fue el síntoma principal en el 90,5%, 89,5%, 76,2%, y 74,2% de los pacientes de 1-4 años, 5-13 años, 14-34 años y >35 años de edad, seguida de dificultad

respiratoria registrada como síntoma principal en el 4,1%, 6,5%, 7,1% y 7,2% en los mismos grupos de edad.

Las consultas realizadas en personas cercanas (familiares, compañeros...) como parte de los estudios epidemiológicos de los casos confirmados, con el fin de detectar contagios en pacientes con exposiciones de riesgo, llevaron a la detección de 82 casos, principalmente en mayores de 35 años (42,7% de estos estudios) con tos persistente, seguido de los escolares entre 5-13 años (23,2% de estos estudios). Los niños de 1-4 años de edad aglutinaron un 17,1%, mientras que los menores de un año y el grupo de adolescentes y adultos jóvenes compartieron respectivamente un 8,5% de los estudios realizados con fines epidemiológicos.

### 6.2.2.3.2 Síntomas y signos clínicos en función del estado vacunal

Al analizar los casos en los que consta el estado vacunal, se obtuvieron los resultados que se muestran en la tabla 15.

	No vacunado	Si vacunado	Chi cuadrado
	nº (%)	Nº (%)	p
<b>Tos</b>	141 (80,1%)	922 (91,7%)	<0,05
<b>Apnea</b>	17 (9,7%)	12 (1,2%)	<0,05
<b>Cianosis</b>	9 (5,1%)	7 (0,7%)	<0,05
<b>Dificultad respiratoria</b>	7 (4,0%)	56 (5,6%)	0,25*
<b>Fiebre</b>	0	4 (0,4%)	0,53*
<b>Vómitos</b>	1 (0,6%)	2 (0,2%)	0,55*
<b>Cuadro catarral</b>	1 (0,6%)	3 (0,3%)	0,57*
<b>Total</b>	176 (14,9%)	1006 (85,1%)	

\*Prueba exacta de Fisher

**Tabla 15.** Síntoma clínico principal en función del estado vacunal.

Tanto entre los pacientes no vacunados como en los vacunados, el principal síntoma fue tos en accesos, siendo el síntoma predominante en ambos grupos (80,1% y 91,7%, respectivamente,  $p < 0,05$ ). Por el contrario, apnea y cianosis fueron más frecuentes en los no vacunados

( $p < 0,05$ ). Estos resultados probablemente están en relación con la menor edad de estos últimos (de los 37 niños con cianosis y/o apnea 33 eran menores de 4 meses de edad).

#### 6.2.2.4 Exploraciones complementarias de los casos confirmados

##### 6.2.2.4.1 Auscultación pulmonar

1.378 pacientes (97,2% del total de la muestra de la que se tienen datos) no presentaron anomalías en la auscultación respiratoria. Del resto, 40 pacientes (2,8%) presentaron alguna anomalía auscultatoria, como sibilancias o hipoventilación. No se obtuvieron datos de 191 pacientes (11,9%).

##### 6.2.2.4.2 Estudio de imagen

Se realizaron pruebas radiológicas en 226 pacientes con tosferina confirmada (16,2% de los 1394 casos en los que se registró esta variable), principalmente radiografías simples de tórax. 25 pacientes (11,1%) presentaron alguna alteración (condensación alveolar y atelectasias fundamentalmente). De las radiografías de tórax con resultado patológico, los menores de un año acumularon el 56,0%, seguido de los pacientes entre 1 y 4 años (24,0%).

Se realizaron pruebas radiológicas en el 52,9% de los menores de 1 año de edad, descendiendo este porcentaje drásticamente en los grupos de 1-4, 5-13 y 14-34 años de edad (8,8-11,4%) y volviendo a aumentar en los de 35 años o más (22,0%) (tabla 16) [ $\chi^2(4gl)=213,320$ ;  $p < 0,001$ ].

	No realizada	Si realizada	Imagen patológica	Total
< 1 año	82 (47,1%)	92 (52,9%)	14 (15,2%)	174
1-4 años	412 (91,2%)	40 (8,8%)	6 (15,0%)	452
5-13 años	511 (90,4%)	54 (9,6%)	3 (5,6%)	565
14-34 años	39 (88,6%)	5 (11,4%)	0	44
≥35 años	124 (78,0%)	35 (22,0%)	2 (5,7%)	159
<b>Total</b>	<b>1.168 (83,8%)</b>	<b>226 (16,2%)</b>	<b>25 (11,1%)</b>	<b>1.394</b>

**Tabla 16.** Principales datos radiológicos de los casos confirmados de tosferina en función de la edad.

La realización de pruebas radiológicas según la sintomatología principal que presentaron los pacientes, muestra los resultados que se exponen en la tabla 17, siendo apnea y cianosis los

motivos de consulta en los que se realizó radiografía simple de tórax en mayor proporción (93,1% y 100%, respectivamente), seguidos a distancia de disnea (26,1%). Otra sintomatología se asoció con menor frecuencia a exploraciones radiográficas (ej. tos en accesos 12,8%).

	No realizada	Si realizada	Imagen patológica	Total
<b>Tos</b>	1.004 (87,2%)	147 (12,8%)	13 (8,8%)	1.151
<b>Apnea</b>	2 (6,9%)	27 (93,1%)	5 (18,5%)	29
<b>Cianosis</b>	0	16 (100%)	3 (18,8%)	16
<b>Dificultad respiratoria</b>	51 (73,9%)	18 (26,1%)	3 (16,7%)	69
<b>Otros</b>	6 (54,5%)	5 (45,5%)	1 (20%)	11
<b>Total</b>	1.136 (83,8%)	219 (16,2%)	25 (11,4%)	1.355

**Tabla 17.** Principales datos radiológicos de los casos confirmados de tosferina en función de la sintomatología presentada por los pacientes.

### 6.2.3 TRATAMIENTO DE LOS CASOS CONFIRMADOS

#### 6.2.3.1 Tratamiento farmacológico previo a la confirmación diagnóstica

Uno de los objetivos de este estudio fue conocer la proporción de pacientes en los que se utiliza tratamiento farmacológico diferente al de elección (antitusivos, descongestivos, tratamiento corticoideo, antibióticos no macrólidos, broncodilatadores, etc.) antes de alcanzar el diagnóstico microbiológico. En concreto, de los 1331 casos en que se recogió este dato, en 406 (30,5%) se había instaurado algún tratamiento de este tipo antes de la confirmación microbiológica.

Como se observa en la tabla 18, el tratamiento broncodilatador con salbutamol inhalado en monoterapia fue el más utilizado los días previos al diagnóstico de tosferina (n=130) (32,1% del total de tratamientos prescritos), seguido de antitusivos en monoterapia (n=128) (31,6%) y de los fármacos agrupados en la categoría “otro tratamiento en monoterapia” (13,1%), que incluye mayoritariamente corticoides (prednisona o prednisolona, vía oral). Recibieron antibiótico previo no macrólido un 12,6% de los casos tratados (n=51), normalmente por sospecha de otras infecciones respiratorias de origen bacteriano.

	Frecuencia	Porcentaje válido
Antibiótico no macrólido en monoterapia	32	7,9
Antibiótico no macrólido + broncodilatador	11	2,7
Antibiótico no macrólido + antitusivo	3	0,7
Antibiótico no macrólido + otro tratamiento	5	1,2
Broncodilatador en monoterapia	130	32,1
Broncodilatador + antitusivo	14	3,5
Broncodilatador + otro tratamiento	24	5,9
Antitusivo en monoterapia	128	31,6
Antitusivo + otro tratamiento	5	1,2
Otro tratamiento en monoterapia	54	13,1
<b>Total</b>	<b>406</b>	<b>100,0</b>

**Tabla 18.** Tratamientos no macrólidos utilizados previamente al diagnóstico de tosferina (406 casos).

Dificultad respiratoria fue el motivo de consulta que en mayor proporción se asoció a tratamiento previo al diagnóstico microbiológico (81,2% de las ocasiones), fundamentalmente broncodilatadores y corticoides. La tos en accesos, expresión clínica más frecuente de la tosferina en esta serie, fue motivo de tratamiento con otras terapias, previo al diagnóstico, en un 28,7% de los casos (tabla 19).

	No tratamiento	Si tratamiento	Desconocido	Total
<b>Tos</b>	788 (67,7%)	334 (28,7%)	42 (3,6%)	1.164
<b>Apnea</b>	20 (69,0%)	9 (31,0%)	0	29
<b>Cianosis</b>	14 (87,5%)	2 (12,5%)	0	16
<b>Dificultad respiratoria</b>	13 (18,8%)	56 (81,2%)	0	69
<b>Otros</b>	8 (61,5%)	5 (45,5%)	0	13

<b>Total</b>	843 (65,3%)	406 (31,5%)	42 (3,2%)	1.291
--------------	-------------	-------------	-----------	-------

**Tabla 19.** Tratamientos previos al diagnóstico de confirmación de tosferina, según la sintomatología principal.

En caso de iniciar tratamiento por tos en accesos, la terapia más utilizada fueron antitusivos (43,2% de las prescripciones), seguido de broncodilatadores (35,4%) (tabla 20). En la dificultad respiratoria, el tratamiento consistió fundamentalmente en terapia broncodilatadora con salbutamol inhalado, ya sea en monoterapia (58,9% de las prescripciones) o combinado con otro tratamiento, generalmente corticoides orales (32,1%).

				Tos en accesos	Dificultad respiratoria	Apnea
Antibiótico monoterapia	no	macrólido	en	27 (8,1%)	0	2 (22,2%)
Antibiótico broncodilatador	no	macrólido	+	8 (2,4%)	2 (3,6%)	1 (5,9%)
Antibiótico no macrólido + antitusivo				3 (0,9%)	0	0
Antibiótico no macrólido + otro tratamiento				4 (1,2%)	1 (1,8%)	0
Broncodilatador en monoterapia				93 (27,9%)	33 (58,9%)	1 (11,1%)
Broncodilatador + antitusivo				12 (3,60%)	1 (1,8%)	1 (11,1%)
Broncodilatador + otro tratamiento				5 (1,5%)	18 (32,1%)	1 (11,1%)
Antitusivo en monoterapia				124 (37,2%)	0	3 (33,3%)
Antitusivo + otro tratamiento				5 (1,5%)	0	0
Otro tratamiento en monoterapia				53 (15,6%)	1 (1,8%)	0
<b>Total</b>				<b>334</b>	<b>56</b>	<b>9</b>

**Tabla 20.** Tratamientos utilizados previamente a confirmar el diagnóstico de tosferina en el caso de presentar tos en accesos, dificultad respiratoria o apnea.

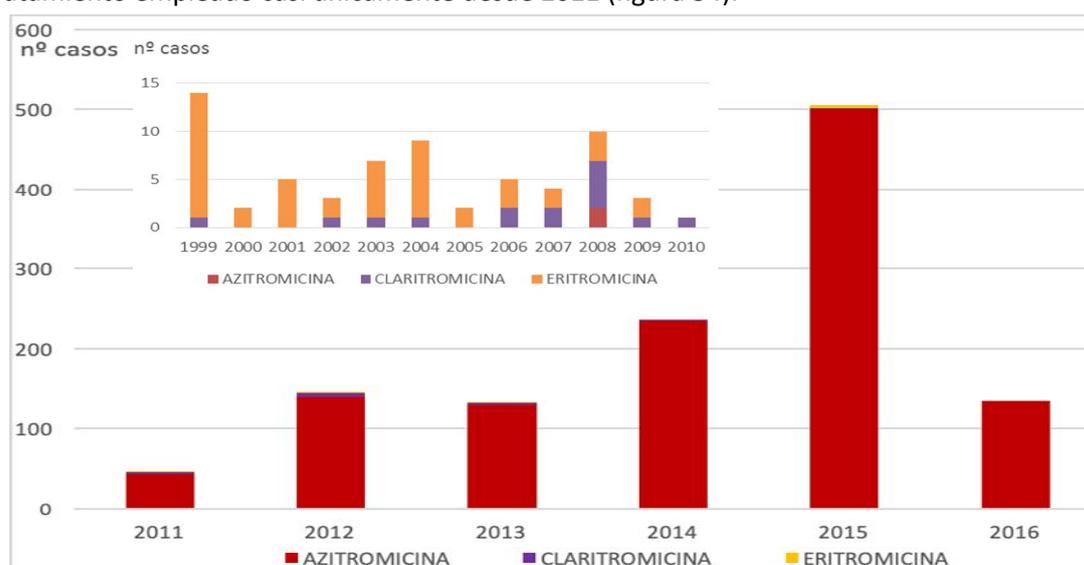
### 6.2.3.2 Tratamiento antibiótico: datos globales

Al analizar la muestra, en el 79,0% de los casos (1271/1608) existió constancia de cumplimiento terapéutico con antibiótico macrólido, representando la práctica totalidad de los casos en los que se conoció el dato (n=1277, 99,5%). Sólo se registraron cuatro casos en los que los pacientes se negaron al tratamiento o éste no estaba indicado por haber sobrepasado los 21 días desde el inicio de la clínica. No se detectó que se hubieran usado otros antibióticos en ninguno de los 1277 casos revisados. Azitromicina fue el macrólido más empleado, siendo pautado en un 93,4% de las ocasiones. El segundo tratamiento en frecuencia fue eritromicina (4,3%) (tabla 21).

	Frecuencia	Porcentaje
<b>Azitromicina</b>	1.187	93,4
<b>Eritromicina</b>	55	4,3
<b>Claritromicina</b>	27	2,1
<b>Desconocido</b>	2	0,2
<b>Total</b>	1.271	100,0

**Tabla 21.** Tipos de macrólidos utilizados a lo largo del estudio.

En la primera década del estudio, el tratamiento fundamentalmente consistió en eritromicina, seguido de claritromicina (especialmente entre 2006 y 2010), mientras que azitromicina fue el tratamiento empleado casi únicamente desde 2011 (figura 54).



**Figura 54.** Evolución del tratamiento antibiótico utilizado. Tosferina 1998-2016.

### 6.2.3.2.1 Tipo de macrólido utilizado según el grupo de edad.

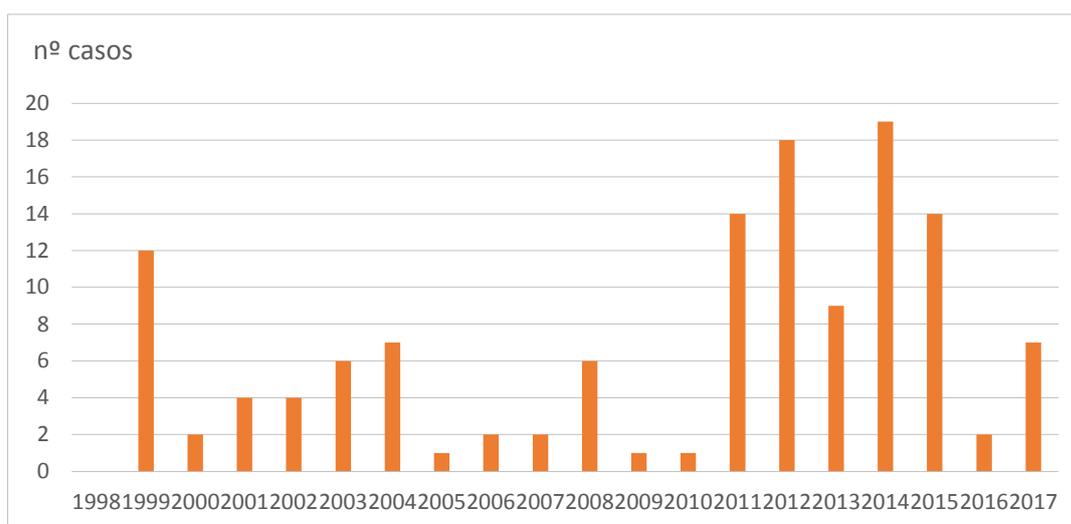
Azitromicina constituyó la terapia principal (>90%) en todos los grupos de edad a excepción de en los menores de un año, en los que descendió hasta el 71,9%. En este grupo de edad se utilizó eritromicina en el 22,8% de los casos; la mayoría de ellos precisaban ingreso hospitalario y tuvieron lugar durante los primeros años del estudio (Anexo 7).

## 6.3 HOSPITALIZACIÓN A CAUSA DE TOSFERINA (1998-2017)

### 6.3.1 DATOS GENERALES Y DE IMPACTO

#### 6.3.1.1 Pacientes hospitalizados por año e incidencia de hospitalización

A lo largo del período de estudio (1998-2017), fueron hospitalizados 131 pacientes, representando un 4,4% del total de casos declarados (n=3004) y un 8,2% en relación a los casos confirmados. El porcentaje de ingresados en relación a los casos declarados varió considerablemente: durante el brote de 1999 se situó en 14,8% (12/81), fue 34,3% en el período “interepidémico” 2000-2010 (36/105) y disminuyó posteriormente, siendo 4,1% durante el período de circulación epidémica 2011-2015 (74/1786) y 1,0% en los dos últimos años del estudio 2016-2017 (9/1031) ( $p < 0,001$ ). Todos los años desde 1999 se produjo alguna hospitalización a causa de tosferina, oscilando entre un mínimo de un paciente y un máximo de 19. El año 2014 registró el mayor número de ingresos (19 pacientes), con un claro descenso en 2016-2017 (figura 55).



**Figura 55.** Número de pacientes hospitalizados por tosferina a lo largo del estudio (1998-2017).

La incidencia media anual de hospitalización para toda la población fue de 0,99 casos por 100.000 hab. durante el período de estudio, pero varió considerablemente a lo largo del tiempo, siendo de 0,44 en 2000-2010 (excluyendo 1999 año de brote) y 1,67 en el período de resurgencia 2011-2017.

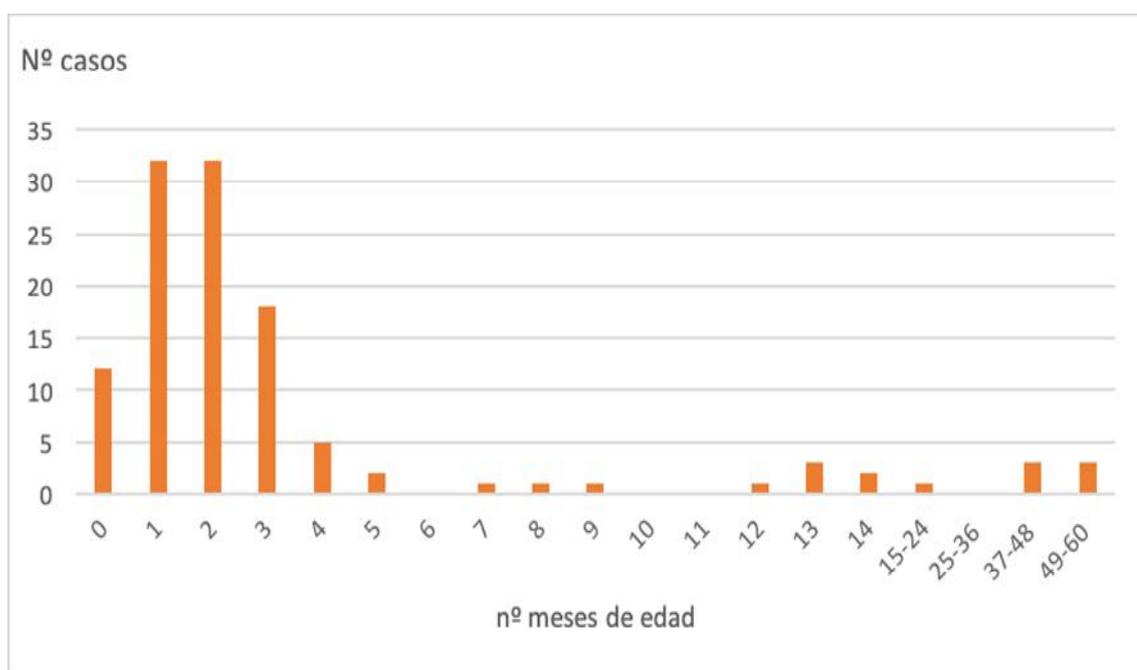
### 6.3.1.2 Pacientes hospitalizados por edad y sexo

El 79,4% de los pacientes hospitalizados correspondieron a menores de un año de edad. Este grupo estuvo compuesto por 104 niños (37,8% de los menores de un año de la muestra). El resto de grupos de edad presentó un número muy escaso de ingresos, oscilando entre 1,5% en el de 1-4 años de edad y mayores de 35 años y 0,5% en el de 14-34 años (tabla 22). Llama la atención que hospitalizaron a causa de tosferina nueve personas mayores de 35 años (nacidas antes de 1981).

	Casos	Hospitalizados	Porcentaje
<1 año	275	104 (37,8%)	79,4%
1-4 años	882	13 (1,5%)	9,9%
5-13 años	1052	5 (0,5%)	3,8%
14-34 años	208	1 (0,5%)	0,8%
≥35 años	587	8 (1,4%)	6,1%
<b>Total</b>	<b>3004</b>	<b>131 (4,4%)</b>	<b>100%</b>

**Tabla 22.** Número de pacientes de tosferina hospitalizados según el grupo de edad en relación a los casos declarados (Gipuzkoa 1998-2017).

Considerando los casos de tosferina ocurridos en menores de 5 años de edad, la mayor parte (n=94, 80,3%) correspondieron a menores de 4 meses siendo 6,8% (n=8) y 1,7% (n=2) niños de 4-<8 y 8-<12 meses de edad (figura 56). Un 11,1% de los casos (n=13) correspondieron a niños de 1-<5 años de edad.



**Figura 56.** Número de pacientes hospitalizados por tosferina menores de 5 años en función de los meses de edad.

La distribución del número de ingresos en función del sexo no mostró diferencias relevantes. Un 8,8% (64/725) de los varones precisaron ingreso hospitalario frente a un 7,6% (67/883) de las mujeres (Prueba exacta de Fisher  $p=0,413$ ).

Tal y como se ha comentado previamente, la vacunación de la embarazada en la CAPV comenzó en febrero de 2015. Desde enero de 2016 ingresaron tres pacientes menores de un año (de un total de 9 ingresos por tosferina), dos de cuyas madres no habían sido vacunadas durante el embarazo. A pesar de la aún reciente implantación de la vacunación durante la gestación, se pudo observar una tendencia al descenso en el número de ingresos de niños menores de un año de edad en los años posteriores a la implantación de la medida (del total de 104 pacientes menores de un año ingresados a lo largo del estudio 1998-2017, sólo tres correspondieron al periodo 2016-2017). Cuando se comparó el porcentaje de hospitalizados menores de 4 meses de edad respecto al total de hospitalizados en los períodos 2011-2015 (71,6%) versus 2016-2017 (11,1%), la diferencia fue estadísticamente significativa (prueba exacta de Fisher, dos colas,  $p<0,001$ ) (tabla 23).

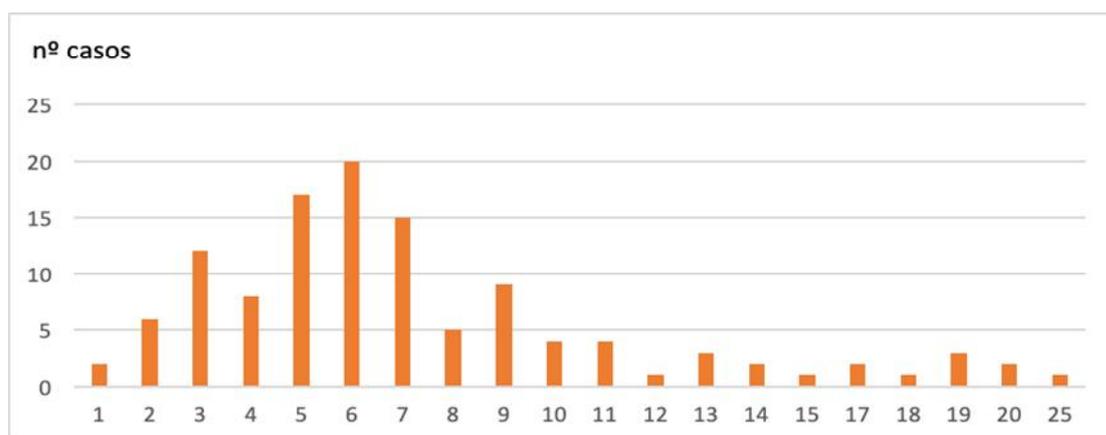
Número	2011-2015		2016-2017	
	Nº	(%)	Nº	(%)
< 4 meses	53	(71,6%)	1	(11,1%)
4-<12 meses	8	(10,8%)	2	(22,2%)
≥ 12 meses	13	(17,6%)	6	(66,7%)
<b>Total</b>	74		9	

**Tabla 23.** Casos hospitalizados por tosferina 2011-2017. Distribución por grupo de edad.

La incidencia media anual de hospitalización fue para menores de 1 año de edad de 36.52 y 141,3 casos/100.000 habitantes en 1998-2010 y 2011-2017, respectivamente. Así mismo, la incidencia de hospitalización en menores de 4 meses de edad en la época pre-epidémica (1998-2010) fue de 115,6 casos/100.000 hab., en la época de resurgencia (2011-2015) fue de 499,5 casos/100.000 hab. y de 23,6 casos/100.000 hab. en el último bienio del estudio (2016-2017).

### 6.3.1.3 Estancia media

La estancia media global (131 hospitalizaciones), sumando la efectuada en la Unidad de Hospitalización y en la UCIP fue de 9,8 días (rango: 1-74 días). Al analizar la estancia media en la Unidad de Hospitalización (Unidad que efectúa la hospitalización de los lactantes y niños cuya gravedad no requiere monitorización continua de constantes vitales ni vigilancia estrecha), se obtuvo una media de 7,3 días (desviación estándar 4,5) (rango: 1-25 días) (figura 57).



**Figura 57.** Duración en días de la estancia a causa de tosferina en la Unidad de Hospitalización.

#### 6.3.1.4 Ingreso en la Unidad de Cuidados Intensivos Pediátricos

De los 131 pacientes ingresados, 27 (20,6%) precisaron ingreso en la UCIP. En concreto, necesitaron el apoyo de la UCIP el 30,2% de los niños menores de 90 días de vida hospitalizados (23/76), siendo este porcentaje de 13% (3/23) para los de 90-120 días de vida. Tan solo un lactante mayor de 4 meses precisó ingreso en UCIP (se trató de una niña de 11 meses de edad que fue ingresada en UCIP por estridor laríngeo, presentando posteriormente buena evolución clínica). Los niños estuvieron en la UCIP una media de 10,8 días (desviación estándar 10,6) (rango: 1-47 días).

#### 6.3.1.5 Mortalidad

Se produjo solo un fallecimiento, lo que representa un 0,08% del total de casos de tosferina confirmados, un 0,5% de los casos ocurridos en menores de 1 año y un 0,8% de los ocurridos en menores de 3 meses de edad. Se trató de una lactante de 49 días de edad que ingresó en abril del año 2008 por sospecha de tosferina maligna. La niña había nacido prematura (34+5 semanas de gestación y peso al nacimiento de 2525 g) y dada su corta edad, aún no había iniciado la vacunación. Presentó en los tres días previos al ingreso tos en accesos, apneas, vómitos y rechazo del alimento. A su ingreso y debido a la gravedad de su estado, fue derivada a la UCIP, donde se instauró tratamiento con eritromicina iv, así como soporte respiratorio mediante ventilación mecánica sin mejoría. Se detectaron *B. pertussis* y rinovirus en la muestra faríngea investigada. En la analítica sanguínea realizada al ingreso destacó un elevado número de leucocitos y linfocitos (35.720 leucocitos/ $\mu$ L y 19.280 linfocitos/ $\mu$ L). Falleció al séptimo día de ingreso en UCIP debido a fracaso multiorgánico. Durante el período de reemergencia de

tosferina (2011-2017) no se han registrado fallecimientos por esta causa entre los 2811 casos declarados al Servicio de Epidemiología de la Subdirección de Salud de Gipuzkoa.

### 6.3.2 CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DE LOS PACIENTES HOSPITALIZADOS

#### 6.3.2.1 Antecedentes gestacionales y patología previa

Un 7,7% de los menores de un año hospitalizados por tosferina (8/104) presentaban antecedente de prematuridad, siendo este porcentaje idéntico (7,7%) entre los que no hospitalizaron (6/78). Por otra parte, tampoco se encontró una relación estadísticamente significativa entre los mayores de un año de edad hospitalizados y no hospitalizados cuando se analizó el antecedente de patología respiratoria (asma, displasia broncopulmonar...) (10% [5/35] versus 19,8% [230/1162], respectivamente, prueba exacta de Fisher  $p=0,572$ ) o cardiopatía (1,7% [2/119] versus 1,6% [20/1241] respectivamente). En el caso de los antecedentes gestacionales y en el de cardiopatía, el escaso número de pacientes que cumplen las respectivas condiciones limita el análisis estadístico.

#### 6.3.2.2 Síntomas clínicos

Las manifestaciones clínicas que presentaron los pacientes hospitalizados pueden verse en la tabla 24. Cuadros de tosferina típica con sintomatología florida fueron habituales. Tos paroxística fue el síntoma más frecuente y predominante en todos los grupos de edad (92-100%). Apnea y cianosis fueron también frecuentes, alcanzando el 48,5% en los menores de 6 meses ( $n=49$ ), mientras que vómitos post-tusígenos y gallo inspiratorio se refirieron en cerca de un tercio de los pacientes de todos los grupos de edad. La fiebre fue una manifestación infrecuente, siendo detectada en un 13,5% de los menores de un año (14/104) y en un 12% de los mayores de esa edad (3/24).

Síntomas	Neonatal	29d-<3m	3m-<6m	6-<12m	≥12m
	(< 28d)				
	N (%)				
<b>Tos paroxística</b>	11 (91,6%)	61 (95,3%)	23 (92%)	3 (100,0%)	24 (96,0%)
<b>Dificultad respiratoria</b>	1 (8,3%)	12 (18,8%)	3 (12,0%)	0	1 (4,0%)
<b>Apnea</b>	6 (50,0%)	32 (50,0%)	11 (44,0%)	1 (33,3%)	10 (40,0%)

<b>Cianosis</b>	11 (91,6%)	27 (42,2%)	11 (44,0%)	1 (33,3%)	9 (36,0%)
<b>Vómitos post-tusígenos</b>	5 (41,6%)	15 (23,4%)	10 (40,0%)	0	12 (48,0%)
<b>Fiebre</b>	1 (8,3%)	10 (15,6%)	1 (4,0%)	2 (66,6%)	3 (12,0%)
<b>Gallo inspiratorio</b>	4 (33,3%)	26 (40,6%)	7 (28,0%)	1 (33,3%)	5 (20,0%)
<b>Rechazo de las tomas</b>	6 (50,0%)	28 (43,8%)	12 (48,0%)	0	3 (12,0%)
<b>Total</b>	12	64	25	3	25

**Tabla 24.** Síntomas clínicos de los pacientes ingresados por tosferina 1998-2017

### 6.3.2.3 Diagnósticos al alta

Además del diagnóstico principal de tosferina, los pacientes ingresados recibieron diagnósticos al alta en función de la sintomatología presentada (tabla 25). El diagnóstico de infección de vía respiratoria superior fue el más frecuente (n=59, 45,7%), siendo apnea y bronquiolitis los siguientes diagnósticos en frecuencia (n=52, 40,3% y n=11, 8,5%, respectivamente). Solo cuatro pacientes, todos menores de un año, recibieron un diagnóstico al alta de neumonía. Al estudiar la frecuencia de estos diagnósticos en menores y mayores de un año de edad, no se observaron diferencias estadísticamente significativas [ $\chi^2(1) = 0.3885$ ; p=0,53].

Diagnósticos	<1 año	1-4 años	5-13 años	14-34 años	≥35 años
<b>Infección vía respiratoria superior</b>	46 (44,2%)	7 (53,8%)	3 (60,0%)	0	4 (44,4%)
<b>Bronquiolitis</b>	9 (8,7%)	0	0	0	2 (22,2%)
<b>Apnea</b>	43 (41,3%)	5 (38,5%)	2 (40,0%)	0	2 (22,2%)
<b>Neumonía</b>	4 (3,9%)	0	0	0	0
<b>Laringitis</b>	0	1 (7,7%)	0	0	1 (1,1%)
<b>Tosferina maligna</b>	2 (1,9%)	0	0	0	0
<b>Total</b>	104	13	5	0	9

**Tabla 25.** Diagnósticos al alta de los pacientes hospitalizados por tosferina 1999-2017

### 6.3.2.4 Complicaciones

Principalmente se han observado complicaciones que comprometen el sistema respiratorio. Del total de pacientes ingresados, se diagnosticó neumonía y/o atelectasias en 9 pacientes (el

89.0% en menores de un año) e hipoxia aguda en 9 pacientes (el 89.0% en menores de un año). Tan solo un paciente presentó convulsiones durante el ingreso, tratándose de un lactante de un mes de vida que comenzó a convulsionar al segundo día de ingreso y fue trasladado a la UCIP donde permaneció ingresado durante 32 días con complicaciones respiratorias (precisó ventilación mecánica por neumonía e hipoxemia) y posteriormente otros 25 días en planta de hospitalización hasta recuperación completa.

Así mismo dos lactantes menores de un año presentaron tosferina maligna, una de ellas falleció (apartado 6.3.1.5 mortalidad), siendo el otro caso un niño de 2 meses, con antecedente de prematuridad (nacimiento en la semana 28 de gestación con peso de 1600g) que tuvo que ser trasladado al HUD en ambulancia medicalizada por presentar parada cardiorrespiratoria. El niño presentaba cuadro catarral desde unos días antes al ingreso, e ingresó por dificultad respiratoria progresiva, precisando ventilación mecánica invasiva durante el primer día de ingreso en UCIP. Posteriormente presentó mejoría tras tratamiento antibiótico y broncodilatador permitiendo retirada progresiva de soporte con alta a planta a las 72 horas de ingreso y presentando recuperación completa a los 10 días de ingreso en planta.

#### **6.3.2.5 Hospitalizaciones en el grupo de 5 a 13 años**

A lo largo del estudio 5 pacientes entre 5 y 13 años fueron hospitalizados debido a tosferina. A continuación, se describen brevemente sus características clínicas.

- Caso 1 (agosto 2003): paciente de 6 años correctamente vacunada y sin antecedentes de interés. Presentaba accesos de tos con dos episodios de pérdida de conciencia y palidez asociados a los accesos de tos por lo que su pediatra del Centro de Salud recogió muestra microbiológica para descartar tosferina y la derivó a HUD para valoración. Tras 3 días de ingreso presentó mejoría clínica remitiendo el número de accesos de tos por lo que fue dada de alta con una exploración normal.
- Caso 2 (octubre 2010): paciente de 5 años de edad, parcialmente inmunizado (una única dosis de DTP a los 2 meses de vida en Brasil) que posteriormente no había realizado seguimiento pediátrico ni acudido a los controles de salud programados. Presentaba accesos de tos en las últimas 3 semanas asociando cianosis facial en los últimos días por lo que fue llevado al Servicio de Urgencias de Pediatría donde se procedió a ingreso para control evolutivo. Tras resultado microbiológico positivo se

realizó estudio en contactos siendo positivo en la abuela materna. Dada la buena evolución fue dado de alta a los 10 días de ingreso hospitalario.

- Caso 3 (mayo 2014): paciente de 6 años correctamente vacunado, afecto de leucemia linfoblástica B común en remisión (fin de tratamiento enero 2014). Presentaba tos, fiebre alta de 24 horas de evolución y mialgias. Refería casos de tosferina confirmada microbiológicamente en su misma clase. Se objetivó *B. pertussis* en el frotis faríngeo, así como crecimiento de un bacilo Gram negativo (*Pantoea (Enterobacter) agglomerans*) en hemocultivo. Se inició tratamiento con azitromicina y la evolución fue favorable, con descenso progresivo de los parámetros analíticos de infección, por lo que fue dado de alta a los 6 días de ingreso.
- Caso 4 (abril 2015): paciente de 10 años correctamente vacunada, con antecedente de asma moderada en tratamiento corticoideo inhalado de base. Había sido diagnosticada de tosferina dos semanas antes cumpliendo tratamiento con azitromicina oral. Desde el diagnóstico presentaba accesos de tos con estridor importante, algunos de ellos acompañados de vómitos, pero sin cianosis ni desaturación. La paciente fue ingresada debido a los accesos de tos frecuentes acompañados de vómitos y estridor. Durante su ingreso presentó buena evolución con remisión de la sintomatología a los 3 días, siendo dada de alta con una exploración normal.
- Caso 5 (noviembre 2016): paciente de 6 años correctamente vacunada, con antecedente de asma moderada en tratamiento corticoideo inhalado de base y seguimiento en Neumología Infantil. Había sido diagnosticada de tosferina dos semanas antes recibiendo tratamiento con azitromicina oral, presentando en los últimos días empeoramiento de la sintomatología con accesos de tos cada vez más intensos, vómitos y cianosis perioral, por lo que se decidió ingreso. La evolución fue favorable, siendo dada de alta a los 6 días del ingreso.

#### **6.3.2.6 Hospitalizaciones en adultos**

Nueve pacientes mayores de 35 años a lo largo del estudio fueron hospitalizados con tosferina. Como puede verse en la breve descripción individual de estos casos efectuada en las líneas siguientes, se trata de pacientes mayoritariamente con enfermedades de base.

- Caso 1 (diciembre 2012): Varón de 47 años, con antecedente de colitis ulcerosa en tratamiento con mesalazina (antiinflamatorio). El cuadro clínico se inició dos semanas antes del ingreso, con tos seca en aumento. El paciente presentaba desde hacía meses

disnea de predominio nocturno que se había agravado en las últimas semanas. Durante el ingreso se diagnosticó microbiológicamente de tosferina, iniciándose tratamiento con azitromicina, y se inició estudio para despistaje de síndrome de apnea obstructiva del sueño. La evolución fue favorable y recibió el alta a las 72 horas. En este caso no se consiguió detectar nexo epidemiológico.

- Caso 2 (junio 2014): Varón de 41 años sin antecedentes de interés. Presentaba tos en accesos de 2 semanas de evolución, con síncope tusígeno y sensación distérmica, por lo que ingresó para estudio. Durante el ingreso se realizó estudio oximétrico nocturno con registro compatible con síndrome de apnea obstructiva del sueño. Se observó leucocitosis intensa (16250 leucocitos/ $\mu$ L) y se detectó *B. pertussis* en exudado faríngeo, por lo que recibió tratamiento con azitromicina. El cuadro clínico se resolvió tras 10 días de ingreso hospitalario. En este caso se encontró nexo familiar ya que un primo del paciente presentó tosferina confirmada microbiológicamente.
- Caso 3 (julio 2014): Varón de 23 años correctamente vacunado en la infancia con 5 dosis y sin antecedentes clínico-epidemiológicos de interés. Inició tos seca persistente 25 días antes del ingreso mientras se encontraba de viaje por Europa, asociando en los últimos días dificultad respiratoria. Acudió en 3 ocasiones al Servicio de Urgencias en el intervalo de 10 días siendo diagnosticado de infección respiratoria de vías altas. Ante la persistencia de la sintomatología fue ingresado para estudio diagnosticándose finalmente de tosferina. El paciente fue dado de alta a los 3 días de ingreso. Su hermano también presentó síntomas similares, aunque de menor gravedad y fue tratado con azitromicina sin que se recogiera muestra microbiológica.
- Caso 4 (abril 2015): Varón de 50 años con antecedente de diabetes tipo 2 y carcinoma basocelular (diagnosticado en enero 2015). En marzo de 2015 inició disnea con tos, siendo tratado inicialmente con broncodilatadores y corticoterapia, sin que experimentara mejoría. Acudió al Servicio de Urgencias donde se sospechó y confirmó tosferina (*B. pertussis* en exudado faríngeo), iniciándose tratamiento con azitromicina. Durante los meses siguientes presentó astenia y disnea de mínimos esfuerzos por lo que ingresó en dos ocasiones (mayo y junio 2015) recibiendo tratamiento con azitromicina y trimetoprim-sulfametoxazol, respectivamente. El cuadro clínico se resolvió definitivamente a finales de junio 2015. En este caso tampoco se consiguió detectar nexo epidemiológico.
- Caso 5 (julio 2015): Mujer de 68 años sin antecedentes de interés. Fue inicialmente valorada por su Médico de Familia por tos seca persistente de un mes de evolución, se

- recogió muestra microbiológica en su Centro de Salud resultando positiva para tosferina. A la semana de finalizar tratamiento con azitromicina presenta disnea de inicio agudo con estridor laríngeo que se resuelve progresivamente siendo dada de alta a los 5 días de ingreso. En este caso no se consiguió detectar nexo epidemiológico.
- Caso 6 (mayo 2016): Mujer de 58 años diagnosticada de asma bronquial moderado. Ingresó por accesos de tos intensos, dificultad respiratoria y episodio de síncope en una ocasión. Durante el ingreso se realizó estudio microbiológico siendo positivo a *B. pertussis* por lo que se inició tratamiento con azitromicina, además de tratamiento broncodilatador. La evolución fue favorable permitiendo el alta hospitalaria a los 6 días del ingreso. En este caso la paciente tuvo contacto con un caso de tosferina microbiológicamente confirmado.
  - Caso 7 (mayo 2017): Varón de 79 años, diagnosticado a los 50 de asma moderado-severo con obstrucción crónica al flujo aéreo, con varios ingresos previos por reagudizaciones. Ingresó por tos seca persistente y síncope tusígeno por lo que se recogió exudado faríngeo que resultó positivo a *B. pertussis*. Se instauró tratamiento con azitromicina, recibiendo el alta por mejoría clínica tras 15 días de ingreso. En relación a este caso se detectaron otros casos de tosferina en la misma familia.
  - Caso 8 (junio 2017): Varón de 59 años, diagnosticado de amiloidosis en mayo de 2014, con progresión a pesar de tratamiento quimioterápico, por lo que en octubre de 2015 se le realizó autotrasplante de médula ósea. El paciente presentaba afectación cardíaca e insuficiencia renal crónica en diálisis peritoneal secundarias a la misma patología. Ingresó por tos seca persistente acompañada de vómitos y síncope tusígeno. Se recogió muestra faringoamigdalares para *B. pertussis* que resultó positiva, por lo que se inició tratamiento con azitromicina. A pesar del tratamiento durante varios días persistió tos invalidante que fue tratada con codeína a dosis altas. Fue dado de alta tras 9 días de ingreso. En este caso tampoco se consiguió detectar nexo epidemiológico.
  - Caso 9 (diciembre 2017): Mujer de 44 años con insuficiencia renal crónica secundaria a glomerulonefritis membranoproliferativa asociada a hepatitis B crónica, en tratamiento con hemodiálisis y portadora de marcapasos por pausas en el ritmo desde el año 2007. Ingresó por presentar tos seca persistente, disnea y dolor torácico de una semana de evolución. Inicialmente había sido diagnosticada de infección respiratoria e hiperreactividad bronquial, pero, ante la escasa mejoría demostrada a pesar del tratamiento broncodilatador, a las 48 horas de ingreso se recogió muestra

microbiológica para *B. pertussis* siendo el resultado positivo. Se instauró tratamiento con azitromicina presentando mejoría clínica. La paciente recibió el alta tras 6 días de ingreso. En este caso tampoco se consiguió detectar nexo epidemiológico.

### 6.3.3 DATOS RELATIVOS AL DIAGNÓSTICO DE LOS PACIENTES INGRESADOS

#### 6.3.3.1 Anomalías en la auscultación pulmonar

De los 40 pacientes que presentaron alguna anomalía en la auscultación (ya sea en forma de sibilancias, hipoventilación de algún campo pulmonar o alguna otra alteración), 26 (un 65,0%) fueron hospitalizados.

#### 6.3.3.2 Principales alteraciones analíticas

Se pudo acceder a los resultados analíticos (hemograma y analítica sanguínea) de 119 pacientes (92,2% de los pacientes ingresados). Entre las alteraciones más relevantes se encontraron leucocitosis (cifra de leucocitos superior a 10.000/ $\mu$ L) en 102 pacientes (85,7% del total de ingresos) y linfocitosis (cifra de linfocitos superior a 4.500/ $\mu$ L) en 92 (77,3% del total de ingresos). En ocho pacientes (6,7%) se detectó una cifra superior a 30.000 leucocitos/ $\mu$ L y en nueve (7,6%) una cifra de más de 20.000 linfocitos/ $\mu$ L.

En cuanto a los parámetros de infección/inflamación (PCR/PCT), se detectaron niveles por encima de los valores normales de PCR (>5 mg/L) en el 21,9% de los casos (n=26) y por encima de los valores normales de PCT (>0,5 ng/ml) en el 3,4% (n=4).

En la muestra estudiada, se han obtenido los siguientes resultados analíticos (tabla 26).

Cifra absoluta	Media	Desviación estándar	Mediana	Mínimo	Máximo
<b>Leucocitos</b>	15.953	8.063	13.895	4.430	54.000
<b>Linfocitos</b>	9.652	6.599	8.673	510	32.300

**Tabla 26.** Cifra de leucocitos y linfocitos de las muestras analizadas (leucocitos o linfocitos/ $\mu$ L)

El valor medio de la cifra de leucocitos absolutos fue significativamente mayor en los menores de un año y disminuyó conforme aumentaba la edad (tabla 27) (análisis de varianza [F(1,3)=9,390; p<0,001]. De la misma manera, se observó que el valor medio de la cifra de linfocitos absolutos fue significativamente mayor en los menores de un año, y fue

descendiendo conforme aumentaba la edad de los sujetos estudiados (tabla 27) [F (1,3)=17,097; p<0,001].

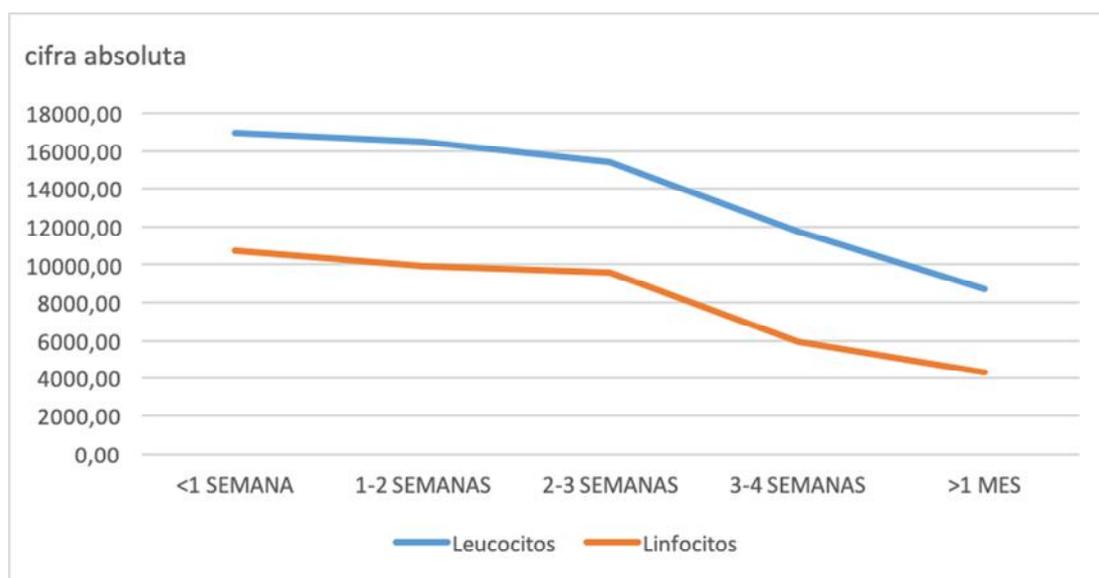
Edad	Nº casos	Leucocitos	Linfocitos
		Media ± desviación estándar (Intervalo de confianza 95%)	Media ± desviación estándar (Intervalo de confianza 95%)
< 1 año	98	17.986 ± 8.020 (16.504-19.468)	11.826 ± 6.502 (12.992-16.660)
1-4 años	10	13.685 ± 7.876 (9.897-17.473)	8.034 ± 6.975 (5.147-10.922)
5-34 años*	5	12.318 ± 5.705 (6.773-17.864)	4.585 ± 4.258 (358-8.811)
≥35 años	6	8.967 ± 3.097 (5.686-12.248)	2.635 ± 1.258 (134-5.135)
<b>Total</b>	<b>119</b>	<b>15.953 ± 8.063</b>	<b>9.652 ± 6.599</b>

\*Se han fusionado los grupos de 5-13 años y los de 14-34 años por el escaso número de pacientes.

**Tabla 27.** Valor medio del recuento absoluto de leucocitos y linfocitos en función de la edad (leucocitos o linfocitos/ $\mu$ L).

### 6.3.3.3 Alteraciones analíticas en función de la duración de la sintomatología

Se analizaron los valores analíticos en función de la duración de la sintomatología en el momento de obtener la correspondiente muestra de suero/plasma para analítica, con el fin de detectar cambios según varía la evolución de la clínica. Para ello se categorizó la variable “duración de la tos en accesos” en semanas y se analizó la media de las cifras de leucocitos según la evolución. Se observó que el valor medio de la cifra de leucocitos fue significativamente mayor cuando los síntomas fueron recientes y disminuyó conforme avanzaba la evolución de la enfermedad (figura 58) (análisis de la varianza [F (1,4)= 2,737; p=0,032], ocurriendo lo mismo en el caso de las cifras de linfocitos) [F (1,4)=2,533; p=0,044] (Anexo 8).



**Figura 58.** Valor medio del recuento absoluto de leucocitos y linfocitos en función de la duración de tos en accesos en semanas.

### 6.3.4 TRATAMIENTO DE LOS CASOS HOSPITALIZADOS

#### 6.3.4.1 Tratamiento antibiótico durante el ingreso

La utilización de los distintos tipos de macrólido disponibles para el tratamiento de tosferina se muestra en la tabla 28. Entre los pacientes ingresados, azitromicina fue utilizada en un 62,6% de las ocasiones, seguido de eritromicina con un 30,5%. En la última parte del estudio (2011-2017) azitromicina se usó en el 95,2% de los hospitalizados (79/83).

	Azitromicina	Claritromicina	Eritromicina	Total
<b>No ingreso</b>	1.112 (97,1%)	19 (1,7%)	14 (1,2%)	1.145
<b>Si ingreso</b>	82 (62,6%)	9 (6,9%)	40 (30,5%)	131
<b>Total</b>	1.194 (93,6%)	28(2,2%)	54 (4,2%)	1.276

**Tabla 28.** Ingreso hospitalario por tosferina y la utilización de macrólidos.

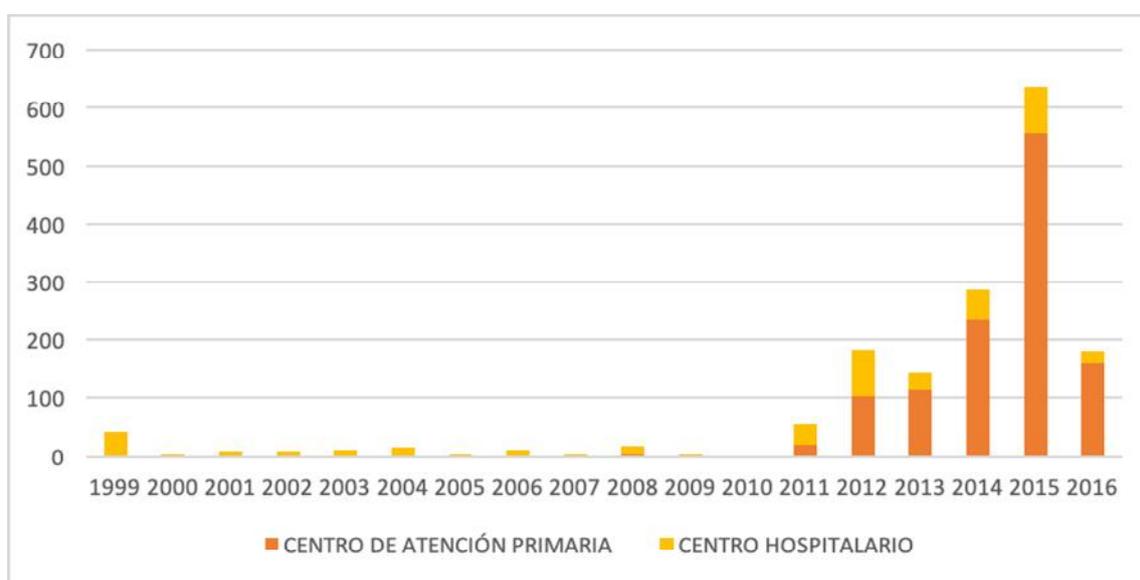
#### 6.3.4.2 Otros tratamientos e intervenciones

Del total de pacientes hospitalizados (n=131), 45 (34,4%) requirieron oxigenoterapia, siendo 43 (95,6%) menores de un año de edad (todos menos un caso, fueron menores de cuatro meses). Debido a la gravedad del cuadro, cuatro niños (3,3%) precisaron ventilación mecánica invasiva y otros cuatro (3,3%) algún tipo de soporte respiratorio mecánico no invasivo (CPAP o BiPAP).

## 6.4 OTROS FACTORES DE IMPACTO DE LA ENFERMEDAD Y USO DEL SISTEMA SANITARIO

### 6.4.1 Contacto con el Sistema Sanitario: Unidad de Urgencias versus Centros de Salud

Como se puede observar en la figura 59, la proporción de diagnósticos realizados en los Centros de Salud ha ido aumentando progresivamente conforme se incrementaban los casos de tosferina.



**Figura 59.** Número de diagnósticos de tosferina realizados en la Unidad de Urgencias y en los Centros de Salud.

Al analizar los últimos años (2011-2016), aquellos con mayor número de casos, la proporción de diagnósticos en los Centros de Salud aumentó progresivamente desde un 34,6% del total en 2011 a un 88,4% en el año 2016.

	2011	2012	2013	2014	2015	2016
<b>Centros de Salud</b>	19 (34,6%)	102 (55,7%)	113 (79,0%)	234 (82,1%)	556 (87,3%)	160 (88,4%)
<b>Hospitales</b>	36 (65,4%)	81 (44,3%)	30 (21,0%)	51 (17,9%)	81 (12,7%)	21 (11,6%)
<b>Total</b>	55	183	143	285	637	181

**Tabla 29.** Número de diagnósticos de tosferina realizados en los Hospitales y en los Centros de Salud 2011-2016.

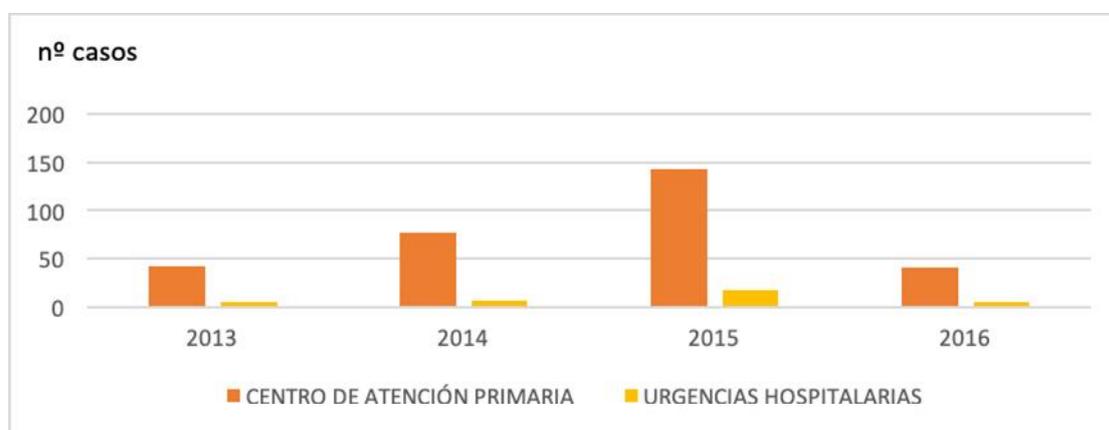
## 6.4.2 Consultas reiteradas

### 6.4.2.1 Proporción de pacientes que solicitaron consultas reiteradas

Desde el año 2013, se dispuso de datos sobre el número de consultas realizadas una vez se ha establecido el diagnóstico microbiológico. Se constató que 336 pacientes (31,0% del total de pacientes analizados desde 2013), solicitaron nueva atención médica en los dos meses posteriores al diagnóstico de tosferina, por un motivo relacionado con dicho proceso (ya fuera en Centros de Salud o en Urgencias Hospitalarias). 241 de los pacientes analizados (71,7%) realizaron una consulta adicional, 74 (22,0%) dos consultas y 21 (6,3%) tres o más consultas a causa del episodio de tosferina.

### 6.4.2.2 Lugar en el que se realizaron las consultas reiteradas

Al analizar el lugar donde se produjeron las consultas tras conocer el diagnóstico, se observó que las consultas de Atención Primaria fueron el entorno en el que se produjo la mayor sobrecarga asistencial. En los cuatro años estudiados, los médicos de los Centros de Salud fueron los que en más ocasiones atendieron a los pacientes por distintos motivos relacionados con el proceso infeccioso de tosferina. Los porcentajes de las consultas reiteradas que fueron realizadas en estos centros oscilaron entre el 89% en 2016 y el 93% en 2014 (figura 60).



**Figura 60.** Lugar en el que se realizan las consultas reiteradas una vez establecido el diagnóstico.

### 6.4.2.3 Motivos de las consultas reiteradas

Se dispuso de datos acerca de los motivos de las consultas adicionales realizadas de 330 pacientes. En la gran mayoría de los casos éstas se produjeron por persistencia de la tos, a pesar de haber iniciado el tratamiento con macrólidos (94,5%). Nueve pacientes (2,8%)

precisaron acudir de nuevo por persistencia de clínica sugestiva de dificultad respiratoria (tabla 30).

	2013	2014	2015	2016	Total
<b>Tos</b>	43	75	150	42	310
<b>Apnea</b>	0	0	1	0	1
<b>Fiebre</b>	0	0	1	0	1
<b>Vómitos</b>	1	6	0	0	7
<b>Dificultad respiratoria</b>	2	2	3	2	9
<b>Total</b>	46	83	155	44	328

**Tabla 30.** Motivos de consulta postdiagnóstico (consultas reiteradas).

Los menores de un año realizaron una o varias consultas reiteradas tras el diagnóstico de tosferina en un 34,1% de los casos, porcentaje similar al de niños entre 1 y 4 años (35,3%) y adultos mayores de 35 años (34,5%), siendo algo menor entre los niños entre 5-13 años (27,6%) y adolescentes (17,7%). A pesar de que el grupo de 5-13 años es el que presentó mayor número de consultas reiteradas, en el cómputo global se observó una menor proporción de lo esperable por azar y una proporción mayor en el grupo de 1-4 años inclusive ( $p < 0,05$ ). En el resto de grupos las variaciones no fueron estadísticamente significativas (tabla 31).

	No nuevas consultas	Si nuevas consultas	Total
<b>&lt;1 año</b>	54 (65,9%)	28 (34,1%)	82
<b>1-4 años</b>	225 (64,7%)	123 (35,3%)	348
<b>5-13 años</b>	367 (72,4%)	140 (27,6%)	507
<b>14-34 años</b>	28 (82,4%)	6 (17,6%)	34
<b>≥35 años</b>	74 (65,5%)	39 (34,5%)	113
<b>Total</b>	748 (69,0%)	336 (31,0%)	1084

**Tabla 31.** Análisis del número de pacientes con una o varias consultas médicas una vez establecido el diagnóstico de tosferina según la edad (2013 a 2016).

#### 6.4.2.4 Consultas reiteradas según el estado vacunal

Al analizar la relación entre el estado vacunal de los pacientes y las consultas reiteradas, no se encontró una asociación estadísticamente significativa, siendo el porcentaje de nuevas consultas 34,1% entre los vacunados y 30,6% entre los no vacunados (tabla 32).

	No nuevas consultas	Si nuevas consultas	Total
<b>No vacunado</b>	60 (65,9%)	31 (34,1%)	91
<b>Si vacunado</b>	607 (69,4%)	268 (30,6%)	875
<b>Total</b>	667 (69,0%)	299 (31,0%)	966

**Tabla 32.** Análisis del número de pacientes con una o varias consultas médicas una vez establecido el diagnóstico de tosferina según el estado vacunal (2013-2016).



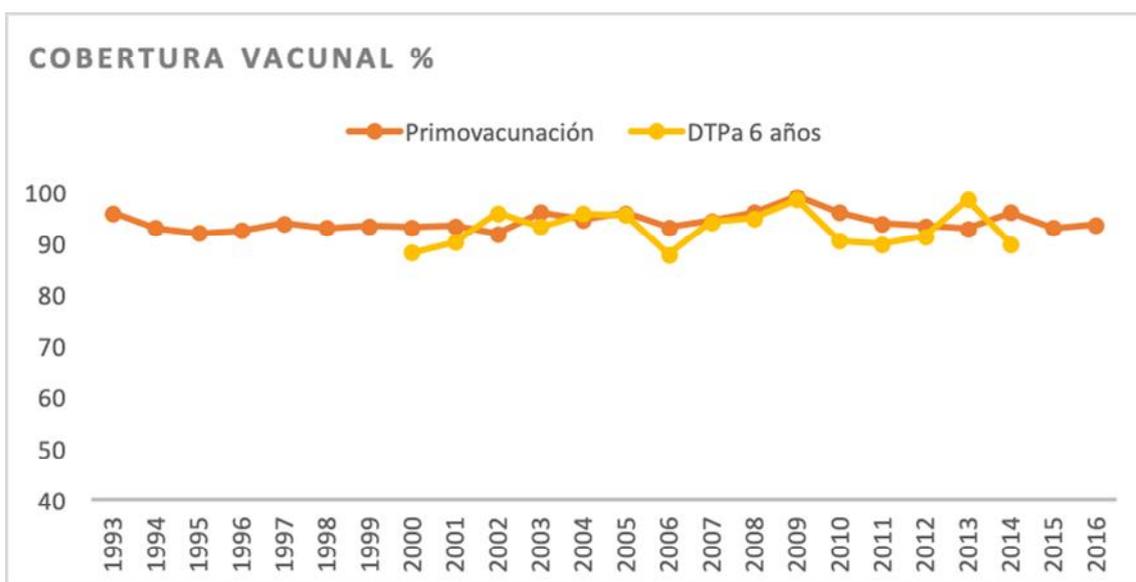
El principal objetivo de la presente Tesis Doctoral ha sido analizar las características epidemiológicas y clínicas de la infección por *B. pertussis* en el territorio de Gipuzkoa en la era postvacunal, y conocer los patrones de distribución de la enfermedad. El análisis detallado de cientos de casos confirmados de infección por *B. pertussis*, permite conocer de manera fiable cómo se ha comportado la enfermedad en Gipuzkoa (y por extensión en la CAPV) en la época postvacunal. El largo período de tiempo que cubre el estudio (1998-2017), así como el elevado número de casos incluidos (1.608 episodios confirmados de tosferina y 2265 episodios declarados) favorece la obtención de resultados sólidos.

### **7.1 Tosferina en Gipuzkoa: constatación de una resurgencia y discusión de sus posibles causas en relación a los datos epidemiológicos observados.**

Cuando se analizaron las curvas de incidencia de tosferina desde que el Sistema de Vigilancia Epidemiológica recoge datos sistemáticos en Gipuzkoa, se observaron tres períodos claramente diferenciados (figura 34): el primero hasta el año 1993 en el que se observaban aún las clásicas epidemias periódicas con picos cada 3-5 años, si bien con intensidad decreciente hasta desaparecer ya en dicho año; el segundo, a partir de 1994, en el que la incidencia anual de la enfermedad se situó por debajo de 3 casos/100.000 hab., llegando a registrarse cifras tan bajas como 0,3 casos/100.000 hab. en 2010; y el tercer período, de resurgencia de tosferina, que se inició en el año 2011 y continúa en el momento de finalizar esta Tesis (invierno de 2019-2020), en el que la incidencia registrada ha alcanzado cifras similares o incluso superiores a las documentadas en los años 80 (>100 casos/100.000 hab.).

A mediados de los años 90 del siglo pasado, dieciocho años tras la introducción de la vacunación frente a tosferina en el calendario vacunal infantil (1975, tres dosis en el primer año de vida) y veintiocho tras la introducción de la vacuna en forma de campañas anuales en niños (1965, dos dosis) las epidemias periódicas de tosferina desaparecieron, iniciándose una fase de incidencia muy baja (1994-2010), consecuencia de las elevadas coberturas conseguidas en la primovacunación (3 dosis) en Gipuzkoa, ( $\geq 90\%$  desde mediados de los años 90), lo que pone de manifiesto la eficacia de la vacunación para el control de esta enfermedad. La prolongada duración de esta fase de baja circulación (1994-2010, 17 años) fue probablemente favorecida por la introducción de la cuarta y quinta dosis de vacuna a los 18 meses (1986) y 6 años de edad (2000) respectivamente. Este largo período solo fue interrumpido en Gipuzkoa en 1999, año en que ocurrió un brote asociado a población infantil mayoritariamente vacunada, con casos dispersos por el Territorio. La incidencia de tosferina durante ese año se

multiplicó varias veces en relación a las cifras registradas durante el resto de este período de baja incidencia (1994-2010), pero fueron claramente inferiores a las registradas en el período epidémico 2011-2017, en el que han llegado a ser diez veces mayores a las constatadas en 1999. La resurgencia de tosferina en 2011 fue inesperada, debido a la evolución previamente favorable de la incidencia y a la elevada cobertura tanto de la primovacunación como de las dosis subsecuentes (figura 61), y su intensidad llamó la atención en Gipuzkoa, a pesar de ser conocido que fenómenos similares estaban ocurriendo desde fechas recientes en otros países con larga historia de vacunación frente a *B. pertussis* (2,12,36,298).



**Figura 61.** Cobertura vacunal frente a tosferina en Gipuzkoa 1993-2016. Primovacunación: Dosis a los 2,4 y 6 meses. Fuente: Memorias de la Unidad de Epidemiología de Gipuzkoa.

El resurgimiento de la tosferina puede ser un fenómeno multifactorial, y se barajan diferentes factores, que repasaremos brevemente: a) la evolución genética y antigénica de *B. pertussis*; b) la mejora de los métodos diagnósticos y una mayor sospecha médica; c) una mejor vigilancia epidemiológica; d) el desvanecimiento de la inmunidad generada por las vacunas y el cambio del tipo de vacunas, de celular a acelular.

Como todos los microorganismos, *B. pertussis* está sujeto a evolución genética y antigénica, y algunos de estos cambios podrían ser potenciados por la vacunación (299). La elevada cobertura vacunal genera una presión inmune que favorecería que los antígenos del patógeno se alejen poco a poco, conforme pasan los años, de los presentes en las vacunas, lo que iría haciendo que la inmunidad vacunal disminuya progresivamente en eficacia, facilitando la reemergencia del patógeno. Sería un fenómeno parecido al que ocurre en el contexto de las

infecciones gripales, pero más lento. De hecho, se ha constatado que tras la introducción de las vacunas celulares, se seleccionaron ciertos linajes de *B. pertussis* (300), que los antígenos contenidos en las vacunas acelulares evolucionan más rápidamente que otras proteínas de superficie y que esta evolución diferenciada se ha acelerado tras el cambio de vacuna celular a acelular (301). En concreto, se ha observado que cepas con una mutación en el promotor del gen productor de la toxina pertussis (cepas ptx3P), -mutación que potencia la producción de toxina-, se han hecho predominantes en varios países en los que se han introducido las vacunas acelulares (302,303,307,308,320). Además, se ha observado la aparición de cepas deficientes en el antígeno pertactina (cepas prn2), más tolerantes a la inmunidad vacunal. Las cepas pertactin-deficientes parecen haber emergido en Japón en torno a 1990 (299) y en los últimos años se han hecho comunes en varios países que usan vacunas acelulares como Japón, EEUU, Australia, Francia, UK, países nórdicos europeos (113,114,299,300,304,305,307). Las cepas deficientes en pertactina no son más virulentas (306), pero en inmunizados con vacunas acelulares muestran una mayor *fitness* y persistencia (307,308), lo que les conferiría ventaja (mayor transmisibilidad). Asimismo se han detectado cepas no productoras de hemaglutinina filamentosa, que parecen haber circulado recientemente en Australia (305). En España se desconoce la circulación de este tipo de cepas. No obstante, un importante estudio efectuado en Cataluña que analizó 339 cepas coleccionadas en Barcelona entre 1986 y 2015 indica que las cepas deficientes en pertactina e hiperproductoras de toxina pertúsicas (ptx3P) se han hecho mayoritarias en los años 2000 (309).

Sin embargo, y de modo inesperado, en los últimos años se ha observado un descenso en Japón en la prevalencia de cepas deficientes en pertactina (310). Además, estas cepas se han hecho prevalentes en Australia (311) o EEUU (112), pero sorprendentemente no en países vecinos como Canadá (312). Por otra parte se ha observado circulación de estas cepas en países que han seguido empleando las vacunas celulares (299). Asimismo, se ha observado que los genes que codifican los antígenos implicados en la inmunidad protectora incluidos en las vacunas acelulares ya experimentaron cambios tras la introducción de las vacunas de células completas, antes del cambio a las acelulares (12). Ante esta situación heterogénea, la OMS ha concluido en 2015, en el documento de actualización de la vacuna pertúsica, que los cambios genéticos y antigénicos observados en las últimas décadas en las cepas circulantes de *B. pertussis* (5) son moderados, y que no hay pruebas de su repercusión en las resurgencias. No se han documentado cambios significativos a lo largo del tiempo en la efectividad de las vacunas acelulares, ni contra diferentes variantes alélicas de *B. pertussis*. Aunque se va acumulando evidencia que sugiere que el uso de vacunas acelulares puede favorecer la

difusión de cepas concretas (ptx3P, prn2...), el posible papel de este factor en la resurgencia de la tosferina en la era postvacunal es controvertido, y parece, de momento poco relevante. No obstante, los datos existentes avalan que la evolución genética de *B. pertussis* debe ser estrechamente monitorizada, con el fin de efectuar, si llegan a ser necesarios, cambios en la composición de las vacunas.

Un segundo factor que puede haber favorecido la “resurgencia” de *B. pertussis* es la mejora en los métodos diagnósticos. En los años 80 y 90, el diagnóstico de laboratorio se basaba en el cultivo de la bacteria y en la serología, ambos métodos lentos (normalmente requieren varios días) que adolecen de falta de sensibilidad (cultivo) y especificidad (IgM). Sin embargo, a partir de los años 90 se desarrollaron métodos de diagnóstico molecular, esencialmente de PCR, que facilitaron un diagnóstico sensible y específico. Sus sucesivos refinamientos han llevado a los métodos actuales, y especialmente a la PCR en tiempo real, que permite un diagnóstico fiable y rápido (en 1-3h). Esta evolución ha promovido que cada vez se soliciten más pruebas diagnósticas desde los diferentes ámbitos clínicos, que los médicos aprendan a sospechar tosferina también en casos leves y atípicos, en niños mayores, adolescentes, adultos..., y en consecuencia se confirme un número de casos mayor. Por tanto los avances diagnósticos han contribuido a conocer mejor el espectro clínico actual de la tosferina y a visibilizar la enfermedad (313,314). Todas estas mejoras han sido patentes en Gipuzkoa donde se implantó la PCR con ocasión del brote de 1999, y métodos rápidos de PCR en tiempo real desde 2012. Además, el papel del Departamento de Sanidad a lo largo de estos años ha sido muy activo en concienciar sobre la tosferina y su diagnóstico a pediatras y médicos de familia.

Lógicamente, estas mejoras han redundado en Sistemas de Vigilancia y Declaración Epidemiológica más activos, que sumados a las mejoras intrínsecas al Sistema (informatización, declaración telemática, protocolos de actuación...) detectan y cuantifican mejor la circulación de la bacteria (tercer factor). Sin embargo, los factores anteriores no explican el incremento de casos graves hospitalizados de tosferina que se ha observado simultáneamente a la reemergencia. Por tanto, las mejoras diagnósticas y en la declaración epidemiológica han permitido monitorizar de modo más preciso la incidencia de tosferina en las poblaciones, especialmente en la era postvacunal en la que el espectro clínico ha sufrido modificaciones, pero no hasta el punto de dar lugar a una falsa resurgencia en regiones que emplean la vacuna acelular (ej. Gipuzkoa 2011-2017). En otras palabras, los datos observados en Gipuzkoa indican que la resurgencia es real.

Probablemente, el factor más importante en la resurgencia está en relación con la inmunidad generada por la tosferina (cuarto factor), y especialmente con su desvanecimiento parcial, fenómeno tratado en la Introducción de esta Tesis pero que se desarrollará en este apartado con especial énfasis en las vacunas.

Para ilustrar el desvanecimiento de la inmunidad generada por las vacunas, es obligado referirse al elegante y capital experimento efectuado por Warfel *et al.* en el modelo animal de tosferina desarrollado en papiones (178,315). En los papiones, la clínica de la enfermedad es similar a la que ocurre en humanos y en este modelo se obtuvieron unos resultados sorprendentes al analizar la protección conferida por la infección natural y las vacunas. La figura 62 ilustra cómo excretaron *B. pertussis* cuatro grupos de papiones al ser inoculados con la bacteria: animales que poco antes habían padecido tosferina (grupo convaleciente en marrón), animales inmunizados con vacuna de células completas o acelular (líneas verde y roja, respectivamente), y un cuarto grupo de animales vírgenes (azul).

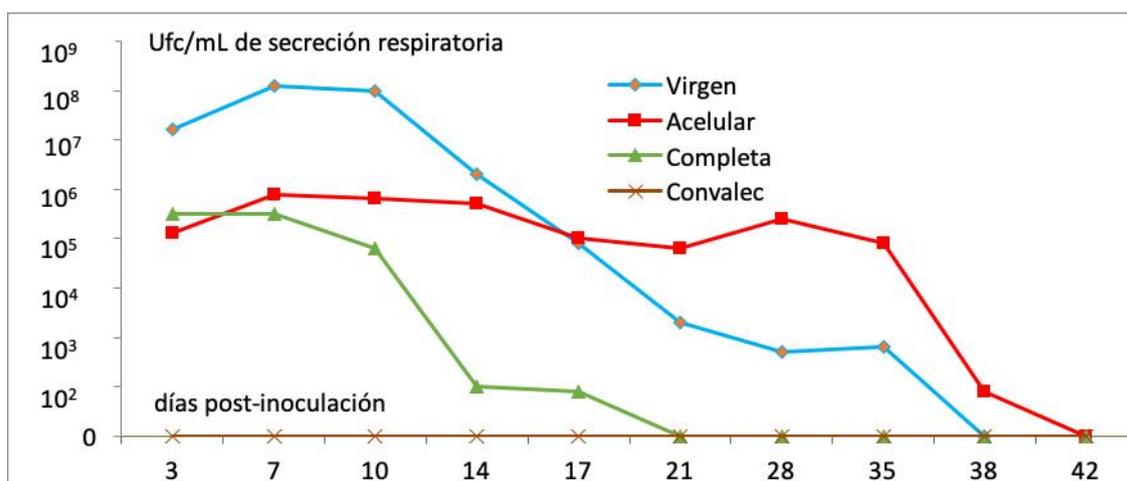


Figura 62. Resultados del experimento de Warfel *et al.* (adaptación).

El grupo convaleciente (marrón) había padecido la infección salvaje previamente y no excretó la bacteria en ningún momento (es decir, la inmunidad era aún fuerte y los papiones no se infectaron). Como era de esperar, el grupo de monos vírgenes (azul) se infectó, padeciendo tosferina clásica y excretando la bacteria durante seis semanas. Sorprendentemente, los animales del grupo vacunado con vacuna acelular (rojo), aunque no padecieron enfermedad o ésta fue leve, se infectaron como los animales vírgenes, y excretaron la bacteria durante el mismo tiempo y en cantidad similar. Además, transmitieron la infección a animales vírgenes. Finalmente, el grupo vacunado con vacuna de células completas estuvo en una situación intermedia, menos protegido que el grupo convaleciente de infección natural pero más que el

vacunado con acelular. Por tanto, en el corto plazo, que es lo que valora este modelo, los vacunados con vacuna acelular estuvieron protegidos de la enfermedad, pero no de la colonización, produciéndose infecciones subclínicas o asintomáticas al poco tiempo de haber sido vacunados. Las infecciones asintomáticas fueron productivas e infecciosas para contactos vírgenes.

Por otra parte, y en línea con los resultados de Warfel *et al.*, recientemente se ha publicado un metaanálisis que estudió la duración de la inmunidad conferida por las vacunas acelulares (228). Los autores del estudio encontraron que la duración media de la protección conferida por la vacuna es de tres años y a los 8,5 años el 90% de los niños vacunados no mostraban ya protección. En USA se ha observado que la duración de la protección conferida por el *booster* dTpa a los 11-12 años es incluso menor. En otro estudio efectuado recientemente en Washington (EEUU), la eficacia vacunal fue 55% a los dos años y 34% a los 3-4 años (316). Finalmente, Witt *et al.* observaron que los adolescentes primados con  $\geq 1$  dosis de vacuna de células completas estuvieron más protegidos en contexto epidémico que los primados con vacunas acelulares (RR=8,57) (253).

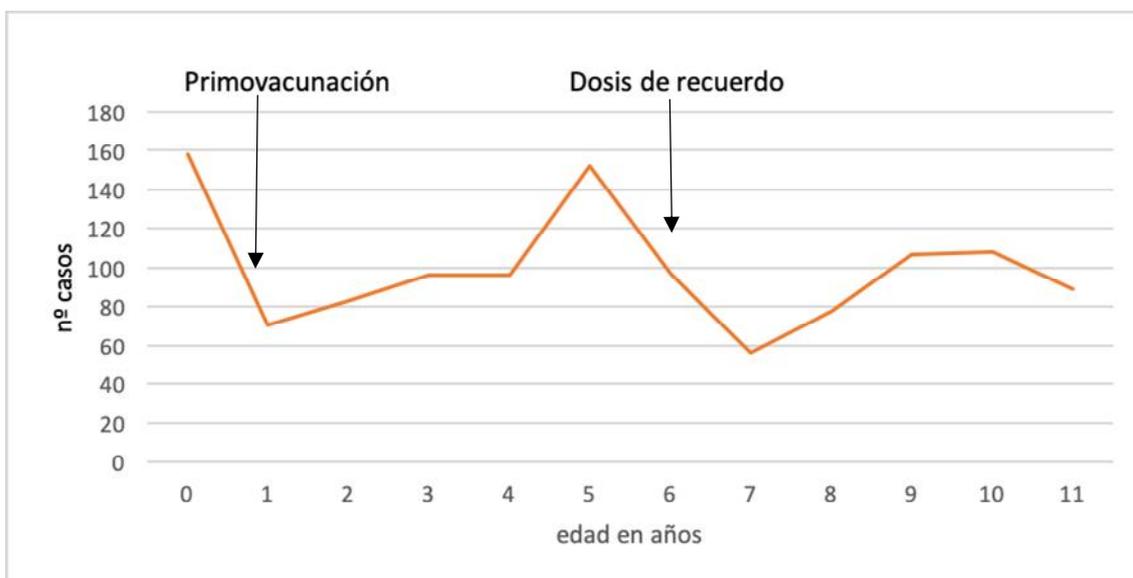
Kapil *et al.* (317) han sugerido que la activación del linfocito Th2, que es la respuesta mayoritaria generada tras la vacunación acelular y que lleva a la producción de anticuerpos, es suficiente para proteger frente a la enfermedad, pero que la activación del linfocito Th1 y Th17 (que sólo se ha observado tras la infección natural o la vacunación celular) es necesaria para conseguir erradicar la bacteria del tracto respiratorio (acortar/evitar colonización) y así conseguir un adecuado control de la enfermedad y protección a largo plazo. La infección salvaje y la vacuna celular llevan a una mayor activación de células T y mayor proliferación de células de memoria (177).

Los resultados indican, por tanto, que las actuales vacunas acelulares no crean inmunidad de rebaño duradera (318). El cambio de vacunas celulares a acelulares, ocurrido en España en torno a 2005 ha contribuido a generar una situación nueva e inesperada. Con las actuales vacunas no podemos evitar que, con la excepción de en los sujetos recientemente vacunados, *B. pertussis* circule ampliamente en todas las cohortes, creando un reservorio inverso en relación a la edad al existente en la era prevacunal (es decir, en la era postvacunal en personas de más edad –niños mayores, adolescentes, adultos-, mientras que en la prevacunal el reservorio estaba en la población infantil). Ésta es probablemente la principal causa de la resurgencia de tosferina observada en nuestro medio, así como en los países en los que se ha

efectuado el cambio de vacunas celulares a acelulares. Las mejoras diagnósticas simplemente ayudan a visibilizar el problema.

En este sentido, los resultados obtenidos en Gipuzkoa son coherentes con la interpretación anterior. En primer lugar, durante la resurgencia y año tras año, la mayor parte de los pacientes con tosferina menores de 35 años de edad habían sido vacunados (figura 53), con porcentajes >90% en todos los grupos de edad del tramo de 1-13 años, siendo el porcentaje de vacunados creciente conforme pasaban los años.

En segundo lugar, el análisis pormenorizado de la edad de los casos confirmados de tosferina durante la resurgencia en Gipuzkoa (2011-2016) es muy sugestivo de desvanecimiento inmune. En la figura 63 se puede observar cómo el segundo año de vida presentó el mínimo número de casos de tosferina en la infancia, número que aumentó progresivamente conforme queda atrás el *booster* de los 18 meses hasta alcanzar un máximo a los cinco años de edad y cómo se repitió este fenómeno de descenso en el número de casos tras el *booster* de los 6 años, aumentando de nuevo en los de 8-10 años de edad. Los niños de mayor edad, son llevados menos por sus padres al pediatra, especialmente si la sintomatología es leve, por lo que a igualdad de sintomatología serían diagnosticados más raramente. Estos resultados sugieren que la inmunidad adquirida con la vacuna acelular, en algunos pacientes se desvanece con rapidez.



**Figura 63.** Casos de tosferina ocurridos en menores de 12 años de edad según la edad 2011-2016.

En tercer lugar, el año 2011, año que marca el inicio de la resurgencia de tosferina en Gipuzkoa, es el primero en que los niños de 6 o menos años de edad habían recibido solo vacuna acelular (4 primeras dosis) (cohortes de nacidos entre 2005 y 2010), lo que probablemente permitió una primera acumulación de niños con desvanecimiento parcial de la inmunidad, tal como se ha referido en líneas anteriores. Conforme pasaron los años las cohortes de inmunizados solo con vacuna acelular se fueron acumulando, de manera que en 2017 correspondieron ya a los menores de 12 años de edad (cohortes de nacidos entre 2005 y 2016) y el número de niños con inmunidad parcial consecuentemente aumentó, facilitando la situación de “endemia con fases epidémicas de tosferina” que parece consolidarse actualmente (2019). De hecho, el cociente entre el número de niños de 1-5 años y 6-13 años diagnosticados en 2011-2012 fue de 1,86 (106 y 57 casos respectivamente), disminuyendo a 0,70 en 2016-2017 (305 y 434 casos, respectivamente), lo que sugiere circulación en niños de más edad conforme pasan los años. Las cohortes de nacidos entre 2000 y 2004, de 7-11 y 13-17 años de edad respectivamente en 2011 y 2017 recibieron vacunación mixta (celular las cuatro primeras dosis y acelular la de recuerdo de los 6 años), y los vacunados entre 1965 y 1999, con edades de 11-46 y 17-52 años de edad en 2011 y 2017 habían recibido exclusivamente vacuna celular.

Edad (años)	<1 año	1-5 años	6-9 años	10-13 años	14-34 años	> 35 años
<b>Casos/100.000 habs.</b>	662	289	344	201	13	19
<b>Vacunación completa</b>	65%	91%	92%	96%	68%	8%
	Acelular	Acelular	Acelular	Ambas	Celular	Celular o no vacunación

\*Datos elaborados a partir de la Memoria anual del Servicio de Epidemiología de la Dirección Territorial de Sanidad de Gipuzkoa. En los recuadros inferiores se muestra el tipo de vacuna recibida para los diferentes grupos de edad.

**Tabla 33.** Tosferina por grupos de edad y porcentaje de vacunados entre los casos de tosferina ocurridos en dichos grupos en 2014, año central en la resurgencia 2011-2017.

Por tanto, la incidencia de tosferina fue mayor en los grupos de edad que habían recibido solo vacuna acelular (ver figura 36 y 37), que en los que habían recibido las primeras dosis con

vacuna celular y que en las cohortes con inmunidad natural. Podríamos especular en base a la literatura médica reciente y los datos observados en Gipuzkoa, que una parte importante de los vacunados con las actuales vacunas acelulares, sufrirán una infección con la bacteria salvaje, probablemente con poca sintomatología (inmunidad parcial que permite la infección, pero protege parcialmente de la enfermedad), que les conferirá inmunidad por períodos prolongados de tiempo, probablemente varias décadas o incluso de modo permanente. De hecho algunos autores han sugerido una menor efectividad de la vacuna acelular (173,243,244), pudiendo haber contribuido al aumento de incidencia (319).

La discusión anterior no pretende sugerir que *B. pertussis* fuera erradicada de Gipuzkoa en los años 90 y primera década del presente siglo. El hecho de que todos los años se registraran casos de tosferina en lactantes, la mayoría de los cuales requería hospitalización, indica que la bacteria siguió circulando con baja incidencia en la población, probablemente de modo no reconocido. Incluso en este período se detectaron tres incrementos de incidencia en 1999, 2004 y 2008 (320), si bien de intensidad claramente inferior a los registrados en el posterior período de resurgencia. Por otra parte, en el estudio seroepidemiológico efectuado en la CAPV en 2009, se observó que un 2,4% de los sujetos presentaban títulos altos de IgG (>120 UFDA/ml), títulos que se asocian a vacunación reciente o infección salvaje (321). Más de la mitad (22/39) eran mayores de 7 años y por lo tanto sus elevados niveles de IgG probablemente eran debidos a infección salvaje, lo que sugiere también circulación de bajo nivel de *B. pertussis*. En otras regiones más populosas (ej. Madrid, Barcelona) en las que se analizaron también en detalle los datos obtenidos en los años 90 y primera década del 2000 se ha observado que la circulación de *B. pertussis* no fue interrumpida en este período, poniéndose de manifiesto conforme pasaban los años, mayores incrementos en incidencia en los grupos de edad de 10 a 14 y de 5 a 9 años, mayoritariamente vacunados en aquél entonces con vacunas celulares (322). Casi la mitad (43%) de los brotes de tosferina que ocurrieron en Cataluña entre 2003 y 2010 tuvieron como caso índice un paciente que había recibido la vacuna celular (323). Los datos indican por tanto que, aunque la vacunación con vacunas celulares logró un excelente control de la enfermedad, no consiguió alcanzar la interrupción de la circulación de *B. pertussis*.

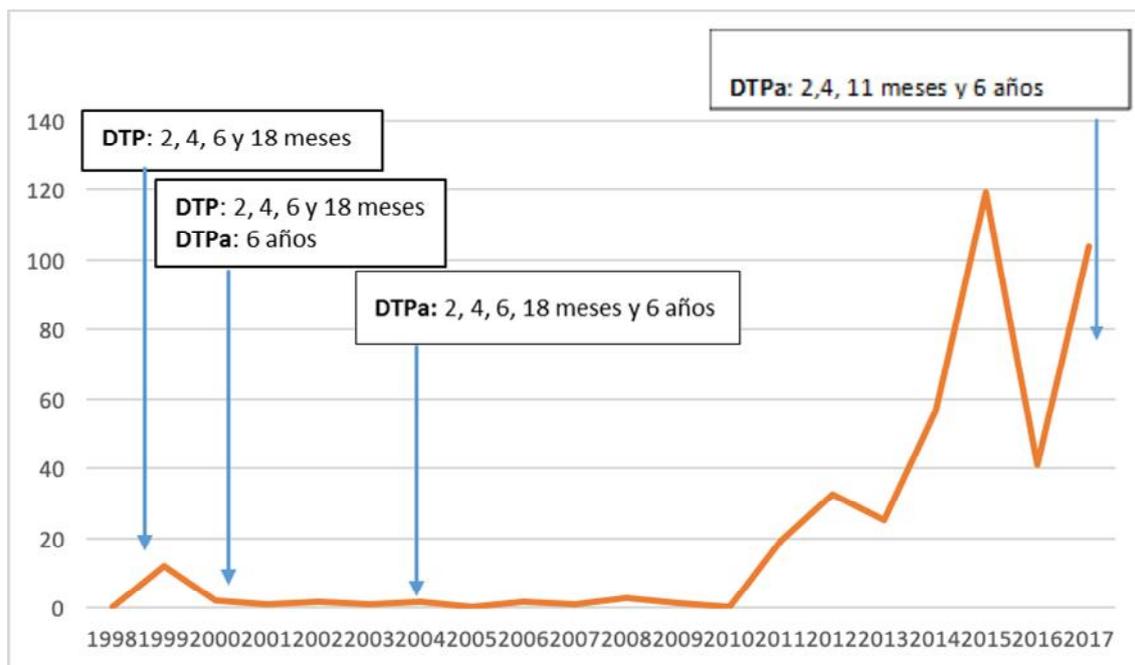


Figura 64. Tasa de tosferina por 100.000 hab./año en Gipuzkoa y uso de vacunas entre 1998 y 2017.

## 7.2 Comparación de la incidencia de tosferina observada en Gipuzkoa, Comunidad Autónoma del País Vasco y otras Comunidades Autónomas de España

Al comparar los datos relativos a incidencia de tosferina en el presente estudio con los datos registrados en otras Comunidades Autónomas, se aprecia que la resurgencia de la tosferina observada a partir del año 2010 no fue particular de Gipuzkoa, sino que se correlacionó estrechamente con la tendencia observada en otros territorios de España, y como revisaremos más adelante, en otros países europeos.

Durante el periodo 1998-2016 se notificaron 2.265 casos de tosferina en Gipuzkoa (3002 incluyendo el año 2017), de los cuales se confirmaron microbiológicamente 1.608, según los datos obtenidos en la presente Tesis Doctoral. Al contrastar estos resultados con los obtenidos en el resto de la CAPV, se observó que Gipuzkoa fue el Territorio en el que se notificaron más casos (confirmados y sospechosos), representando un 55% del total de casos de la CAPV, seguido de Vizcaya (41%) (324) y mostrando una incidencia claramente superior durante todo el período epidémico postvacunal (figura 34). Estas diferencias pueden ser debidas a múltiples causas, y entre ellas a una hipotética circulación más intensa de *B. pertussis* en la población de Gipuzkoa, pero en este caso, probablemente las mejoras diagnósticas y concienciación del problema han desempeñado un papel importante. La PCR para el diagnóstico de tosferina fue introducida antes en Gipuzkoa que en Vizcaya y especialmente Álava, a consecuencia del brote ocurrido en Gipuzkoa 1999, y la actuación del Departamento de Sanidad de Gipuzkoa fue

especialmente activa en los últimos años (a partir de 2011), potenciando su uso en Atención Primaria, todo lo cual redundó probablemente en una mejor visibilización de la tosferina en este Territorio. Sin embargo, a pesar de las diferencias observadas, es evidente que los tres Territorios de la CAPV han presentado una reemergencia de la enfermedad a partir del 2011.

La tosferina es una enfermedad de declaración obligatoria en España desde 1982. En el período que va desde dicho año hasta 1998 (previo al inicio de la recogida de datos de esta Tesis), la incidencia a nivel estatal mostró, igual que en Gipuzkoa, una tendencia muy clara al descenso, desde 185 casos/100.000 habitantes en 1985 a 0,8/100.000 en 1998, con picos epidémicos de intensidad cada vez menor en 1985-86, 1989 y 1992 (41) (figura 10). En los años siguientes, la incidencia de tosferina en España (1999-2017), en base a los datos publicados anualmente por el Centro Nacional de Epidemiología (Instituto de Salud Carlos III), mostró una evolución groseramente similar en las distintas Comunidades Autónomas, aunque con diferencias entre ellas (40). En este período (1999-2017) (tabla 34), Cataluña fue la Comunidad Autónoma en la que se notificó un mayor número de casos (12.611 casos), seguida de País Vasco (4717 casos) y Madrid (4009 casos), mientras que otras Comunidades Autónomas notificaron un número de casos desproporcionadamente menor, como es el caso de Asturias (127 casos), Cantabria (208 casos) o Baleares (259 casos).

Para el análisis de las tasas de incidencia (casos por 100.000 hab./año) alcanzadas en las distintas Comunidades Autónomas (tabla 34) se utilizó arbitrariamente en esta Tesis una cifra de corte de 3 casos/100.000 hab., que permite valorar incrementos en la declaración con suficiente especificidad; y se excluyó a las ciudades autónomas de Ceuta y Melilla que, por su menor número de habitantes, requerirían un punto de corte mayor. Entre 1999 y 2004 (con la excepción del año 2001) se declararon cifras >3 casos/100.000 hab. en 1-3 CCAA (País Vasco, Navarra, Madrid, Aragón y Valencia) (algún año del período). Los incrementos fueron de rango menor, no superando en ninguna CCAA los 6 casos/100.000 hab. Estos datos sugieren la ocurrencia entre 1999 y 2004 de brotes aislados en distintas CCAA, probablemente con intensidad media-baja, como ocurrió en Gipuzkoa en 1999. A nivel global, la incidencia en España en este período fue baja, y osciló entre 0,88 (2004) y 2,32 casos/100.000 hab. (2002). Entre 2005 y 2007 ninguna CCAA superó el nivel de corte establecido, siendo la incidencia global en el país de 0,77-1,25 casos/100.000 hab. Las cifras de incidencia siguieron bajas en el trienio 2008-2010, situándose en España entre 1,48 y 1,96 casos/100.000 hab., pero dos grandes CCAA rebasaron la cifra de corte antes escogida (3/100.000), concretamente las de Cataluña (todo el trienio), y Madrid (2010), con valores discretos (4-7/100.000), pero

rompiendo la tendencia precedente al descenso. A pesar de esta baja incidencia, es posible reconocer en España tres períodos “epidémicos” en 1998-2001, 2002-2005 y 2006-2009(41), que coinciden con lo observado en Gipuzkoa.

En los siete años siguientes (2011-2017) se observó un incremento notable en el número de CCAA que registraron valores de incidencia  $>3$  casos/100.000, en concreto siete en 2011 y más de la mitad ( $\geq 9$ ) en 2014-2017, siendo la práctica totalidad en 2015 (con la excepción solo de Asturias). Las cifras alcanzadas algunos años fueron elevadas: Canarias ( $>30/100.000$ ) en 2012 y 2013, así como País Vasco ( $90/100.000$ ), Cataluña ( $40/100.000$ ) y La Rioja ( $31/100.000$ ) en 2015. En este período, doce CCAA presentaron más de tres años cifras por encima de  $3/100.000$  y ocho de ellas cinco años o más, destacando Cataluña que presentó dichos valores desde el año 2008 (2008-2017). Como detalle que expone la elevada tasa de incidencia alcanzada en Gipuzkoa, solo Canarias presentó incidencia más elevada en 2012 y entre 2013 y 2017, las incidencias comunicadas en Gipuzkoa, han sido más elevadas que las referidas en las 17 Comunidades Autónomas españolas. En diciembre de 2019, la RENAVE ha publicado los datos de vigilancia de tosferina relativos a 2018 (325), que no cambian las observaciones antes referidas: 8 CCAA registraron valores de incidencia  $>3$  casos/100.000, entre ellas la CAPV ( $15,33/100.000$ ).

A pesar de su heterogeneidad, los datos referidos en otras CCAA muestran una tendencia en España similar a la observada en Gipuzkoa, con un período de baja incidencia hasta el final de la primera década del presente siglo, en el que se comunicaron pocos casos y se detectaron incrementos solo regionales y ocasionales de intensidad moderada-baja, y un segundo período de reemergencia de tosferina a partir de 2008-2017 con circulación de *B. pertussis* prácticamente por todo el territorio de España, constatándose en algunas Comunidades Autónomas como la del País Vasco, epidemias de intensidad elevada y duración prolongada, que comparan en incidencia con las registradas en la fase final del período epidémico (años 80). La reemergencia ha tenido lugar pocos años después del tránsito de las vacunas celulares a las acelulares.

	1999		2000		2001		2002		2003		2004		2005		2006		2007		2008	
	CASOS	TASA																		
ANDALUCÍA	30	0,42	147	2,03	79	1,09	32	0,44	34	0,46	25	0,34	24	0,32	43	0,58	40	0,51	51	0,64
ARAGÓN	5	0,43	70	5,98	18	1,54	60	5,15	17	1,46	18	1,55	25	2,16	14	1,21	35	2,78	13	1,03
ASTURIAS	10	0,95	5	0,48	3	0,29	3	0,29	6	0,58	2	0,19	8	0,78	1	0,1	1	0,1	2	0,19
BALEARES	3	0,41	2	0,27	9	1,2	3	0,4	0	0	16	2,11	10	1,31	6	0,79	0	0	9	0,87
CANARIAS	22	1,37	29	1,79	12	0,74	8	0,49	10	0,6	13	0,78	12	0,71	31	1,84	27	1,36	22	1,09
CANTABRIA	5	0,95	13	2,47	2	0,38	3	0,57	1	0,19	4	0,79	3	0,57	7	1,33	5	0,89	11	1,95
CASTILLA LA MANCHA	6	0,35	9	0,52	15	0,87	0	0	30	1,72	2	0,11	4	0,23	3	0,17	5	0,26	3	0,15
CASTILLA Y LEÓN	23	0,92	30	1,21	11	0,44	9	0,36	15	0,61	13	0,53	14	0,57	13	0,53	5	0,2	18	0,73
CATALUÑA	68	1,12	166	2,74	18	0,3	23	0,38	79	1,31	160	2,65	45	0,75	140	2,32	184	2,62	314	4,4
CEUTA	5	6,84	5	6,79	2	2,7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
COMUNIDAD VALENCIANA	22	0,56	202	5,12	101	2,55	11	0,28	22	0,55	37	0,93	44	1,1	17	0,43	40	0,84	35	0,73
EXTREMADURA	1	0,09	15	1,38	0	0	5	0,46	6	0,55	1	0,09	5	0,46	4	0,36	2	0,19	1	0,09
GALICIA	29	1,07	27	1	1	0,04	8	0,3	8	0,3	21	0,78	4	0,15	5	0,19	4	0,15	10	0,37
MADRID	59	1,17	117	2,32	63	1,25	163	3,23	302	5,98	184	3,64	90	1,78	69	1,36	167	2,75	112	1,82
MELILLA	2	3,1	2	3,06	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	4,45
MURCIA	17	1,54	13	1,17	24	2,15	1	0,09	2	0,18	12	1,06	1	0,09	2	0,18	3	0,22	2	0,14
NAVARRA	13	2,45	23	4,33	9	1,69	6	1,12	10	1,87	9	1,68	10	1,86	8	1,49	6	1	10	1,66
PAÍS VASCO	87	4,25	40	1,96	12	0,59	12	0,59	9	0,45	15	0,75	5	0,25	20	1	27	1,28	41	1,94

## Discusión

<b>RIOJA (LA)</b>	3	1,16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0,98	6	1,94
<b>TOTAL</b>	410	1,04	915	2,32	379	0,96	347	0,88	551	1,39	532	1,34	304	0,77	383	0,96	554	1,25	663	1,48	
<b>GUIPUZCOA</b>	81	<b>11,96</b>	15	2,21	8	1,18	11	1,62	6	0,89	11	1,63	1	0,15	13	1,93	7	1,04	21	<b>3,06</b>	

**Tabla 34.** Casos de tosferina notificados por Comunidades Autónomas y tasas por 100.000 habitantes/año en España 1999-2016. Fuente: Enfermedades de Declaración Obligatoria (declaración individualizada). Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica. Centro Nacional de Epidemiología (325).

	2009		2010		2011		2012		2013		2014		2015		2016		2017		TOTAL
	CASOS	TASA	CASOS	TASA	CASOS	TASA	CASOS	TASA	CASOS	TASA	CASOS	TASA	CASOS	TASA	CASOS	TASA	CASOS	TASA	
<b>ANDALUCÍA</b>	44	0,55	51	0,63	237	2,87	104	1,25	216	2,57	237	2,82	695	<b>8,27</b>	972	<b>11,56</b>	192	2,28	3253
<b>ARAGÓN</b>	11	0,86	7	0,55	33	2,51	3	0,23	12	0,9	55	<b>4,14</b>	103	<b>7,79</b>	128	<b>9,72</b>	162	<b>12,31</b>	789
<b>ASTURIAS</b>	9	0,86	2	0,19	0	0	9	0,86	9	0,85	5	0,47	29	2,78	14	1,35	9	0,87	127
<b>BALEARES</b>	3	0,28	1	0,09	7	0,64	11	1	16	1,43	25	2,23	72	<b>6,38</b>	26	2,27	40	<b>3,45</b>	259
<b>CANARIAS</b>	14	0,69	15	0,72	700	<b>33,22</b>	1375	<b>64,83</b>	336	<b>15,92</b>	229	10,8	332	<b>15,61</b>	206	<b>6,61</b>	169	<b>7,81</b>	3562
<b>CANTABRIA</b>	16	2,82	12	2,1	16	2,77	14	2,42	30	5,1	11	1,88	33	<b>5,65</b>	10	1,72	12	2,07	208
<b>CASTILLA LA MANCHA</b>	1	0,05	8	0,4	32	1,56	24	1,17	34	1,63	148	<b>7,16</b>	183	<b>8,91</b>	68	2,78	134	<b>6,59</b>	709
<b>CASTILLA Y LEÓN</b>	5	0,2	10	0,41	62	2,5	24	0,97	30	1,2	71	2,86	236	<b>9,57</b>	182	<b>8,9</b>	77	<b>3,18</b>	848
<b>CATALUÑA</b>	277	<b>3,84</b>	328	<b>4,49</b>	1231	<b>16,86</b>	1116	<b>15,31</b>	828	<b>11,11</b>	936	<b>12,65</b>	3017	<b>40,78</b>	1840	<b>24,82</b>	1841	<b>24,71</b>	12611
<b>CEUTA</b>	1	1,44	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1,18	2	2,37	384	7,78	0	0	400
<b>COMUNIDAD VALENCIANA</b>	26	0,53	18	0,36	249	<b>4,98</b>	133	2,65	196	3,95	552	<b>11,16</b>	510	<b>10,33</b>	32	2,96	490	<b>9,94</b>	2.737

EXTREMADURA	2	0,19	0	0	5	0,46	0	0	1	0,09	8	0,73	43	3,95	128	4,72	22	2,05	249
GALICIA	5	0,18	6	0,22	16	0,59	93	3,42	77	2,8	87	3,18	168	6,16	590	9,16	120	4,44	1279
MADRID	97	1,56	402	6,37	410	6,43	118	1,84	245	3,83	359	5,63	779	12,17	29	1,97	244	3,75	4009
MELILLA	0	0	0	0	0	0	3	3,85	6	7,21	3	3,57	9	10,61	57	8,93	0	0	85
MURCIA	4	0,28	5	0,35	13	0,88	10	0,68	7	0,48	30	2,05	119	8,12	606	27,97	36	2,44	907
NAVARRA	4	0,66	3	0,49	24	3,85	33	5,29	54	8,48	33	5,19	92	14,46	92	29,43	52	8,11	491
PAÍS VASCO	16	0,76	4	0,19	179	8,41	354	16,72	222	10,23	510	23,56	1953	90,24	4	4,72	1207	55,68	4717
RIOJA (LA)	3	0,96	12	3,8	25	7,99	15	4,81	23	7,27	33	10,51	97	31,03	2	2,37	99	31,69	321
<b>TOTAL</b>	<b>538</b>	<b>1,19</b>	<b>884</b>	<b>1,94</b>	<b>3239</b>	<b>7,02</b>	<b>3439</b>	<b>7,45</b>	<b>2342</b>	<b>5,03</b>	<b>3333</b>	<b>7,18</b>	<b>8472</b>	<b>18,25</b>	<b>5370</b>	<b>11,56</b>	<b>4913</b>	<b>10,56</b>	<b>37568</b>
GUIPUZCOA	10	1,50	2	0,30	134	19,51	229	32,58	177	25,10	399	56,58	846	119,15	292	41,09	739	103,70	3002

Fuente: Enfermedades de Declaración Obligatoria (declaración individualizada). Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica. Centro Nacional de Epidemiología (325).

**Tabla 34 cont.** Casos de tosferina notificados por Comunidades Autónomas y tasas por 100.000 habitantes/año en España 1999-2016.

La comparación de los valores obtenidos en las distintas Comunidades Autónomas es compleja, y sería necesario un estudio que analizara si en las diferencias observadas han influido factores como condiciones ambientales (distinta circulación de *B. pertussis* debido a situaciones climatológicas u orográficas particulares, entre otras), microbiológicos (diferencias en la circulación de distintas especies o cepas de *Bordetella...*) o socio-epidemiológicos (diferencias en la accesibilidad al sistema sanitario, diferencias en la respuesta ante la sospecha clínica de tosferina, diferencias en coberturas vacunales...). Hasta la fecha no existe ningún estudio a nivel del conjunto de España que analice en profundidad dichas diferencias de incidencia. Sin embargo, los datos anteriores permiten concluir que, a partir de 2008-2011 se ha producido una importante reemergencia de la tosferina en España, que continuaba en 2017, último año de recogida de datos de esta Tesis.

La revisión de los estudios efectuados en España y publicados en la literatura, pone de manifiesto, que como en Gipuzkoa, a pesar de las elevadas coberturas vacunales obtenidas a nivel estatal, y las excepcionalmente bajas tasas de incidencia registradas desde finales de los años 90, *B. pertussis* siguió circulando y causando casos y hospitalizaciones en la primera década de este siglo [Latasa (326), Vera (322), Sizaire (327), Crespo (323)], e incluso se pueden reconocer, muy atenuadas, fases epidémicas (6). Por otra parte diversos estudios han hecho énfasis en el importante índice de infradetección e infradeclaración de casos en España (328), que puede llegar hasta el 34,6% (329), afectando especialmente a adultos, pero también a los niños mayores de 1 año (330). Entre 1997 y 2010, a nivel nacional, la incidencia total de casos declarados de tosferina y la deducida de los casos hospitalizados registrados a partir del Conjunto Mínimo de Datos Básicos (CMDDB) fue similar (1,3 casos/100.000), lo que confirma una importante infradeclaración (331). Como antes se ha referido, este infradiagnóstico ha disminuido en los últimos años como consecuencia de las mejoras diagnósticas y mayor concienciación acerca de esta enfermedad.

### **7.3 Comparación de la incidencia de tosferina observada en Gipuzkoa, países de Europa y de fuera de ella**

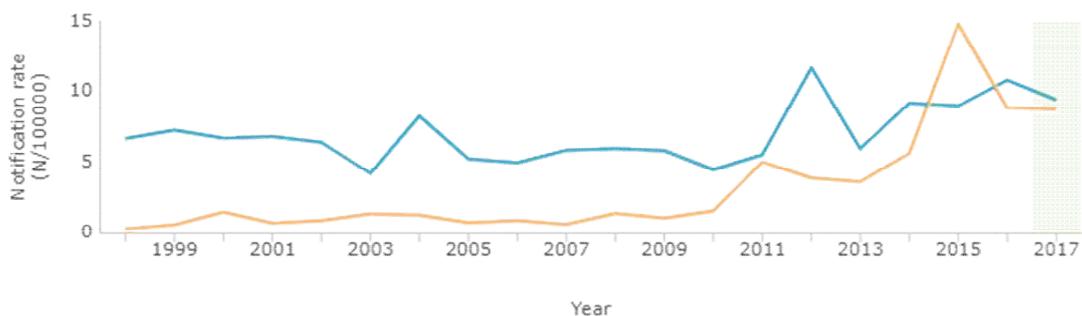
La evolución observada en Gipuzkoa tiene similitudes con la referida en países que han efectuado el cambio de vacuna celular a acelular, como EEUU, Canadá, Australia o UK. En EEUU la incidencia casi ha doblado entre 2000-2008 y 2009-2016 con incrementos en los grupos de edad entre 1 y 18 años. Los CDC de ese país han sugerido para el cambio a las vacunas acelulares un papel capital en la resurgencia de tosferina en EEUU (332). En Canadá, a

partir de 2012 (15 años tras la introducción de la vacuna acelular) se han observado importantes incrementos en la incidencia de la enfermedad (333). Un fenómeno similar se observó en Australia: la incidencia fue 2,8 veces mayor en 2006-2012 que en 1995-2006 y a partir de 2008 se observó la entrada en una fase de epidemia sostenida, atribuida en parte al cambio a vacuna acelular efectuado en 1997-1999 (334). En UK, la incidencia de tosferina experimentó un importante incremento a partir de 2012 (18,9 casos/100.000 ese año, con un mínimo de 6,3 en 2014 y volviendo a elevarse en 2016 hasta 11,3) (31), ocho años tras el cambio a la vacuna acelular efectuado en 2004, cuando en el cuatrienio 2008 y 2011 se situó en valores muy inferiores (0,59-2,01 casos/100.000 hab.) (335). Los tiempos observados en UK son muy parecidos a los observados en Gipuzkoa, donde la reemergencia de tosferina se observó siete años tras el cambio a vacuna acelular (2005).

Cada vez más países que han efectuado este cambio de vacuna están entrando en una fase en la que *B. pertussis* parece circular con más facilidad e incluso causar epidemias sostenidas. En el importante trabajo de Jackson *et al.*, en el que se revisaron las tendencias epidemiológicas de la tosferina a nivel global a partir de la experiencia de 57 países entre 1990 y 2010, se concluyó que la resurgencia no es un fenómeno universal (336). Sin embargo, varios de los países clasificados en ese trabajo como “*decreasing trend*” y que habían efectuado recientemente el cambio de vacuna, con posterioridad al año 2010 han entrado en una fase de resurgencia como es el caso de UK, Canadá (333), España, o Dinamarca (31). En Italia, aunque los datos nacionales no reflejan un incremento importante en la incidencia, estudios de seroprevalencia también la apoyan (337). En ese país, el 14% de los sujetos investigados en 2012-2013 presentaron evidencia de infección reciente (antitoxina pertussis >50 UI/mL) cuando este valor había sido de 9% en 1997-1998 (337). Más recientemente se ha comunicado la resurgencia en China (338) y en Toscana (Italia) (339). En China, la vacuna acelular sustituyó a la celular en mayo de 2007. En un estudio efectuado en la provincia de Shandong (una de las más populosas del país con casi 100 millones de habitantes, donde la cobertura vacunal ha sido elevada (>95% en 2011), se observó un incremento importante de la tasa de incidencia a partir de 2014, multiplicándose por 16,8 en 2017 (338). Como antes se ha comentado, la concienciación de los médicos acerca de la necesidad de pensar en esta enfermedad en el período postvacunal y la intensidad de la vigilancia pueden ser factores importantes a la hora de visibilizar la tosferina. Parece probable, por otra parte, como sugiere Tan *et al.*, que el cambio a las vacunas acelulares haya acelerado e intensificado un fenómeno que también se ha producido en algunos países con las vacunas celulares (340), aunque más raramente. En algunos de estos países, la cobertura de la vacuna no ha sido buena, y por otra parte no se

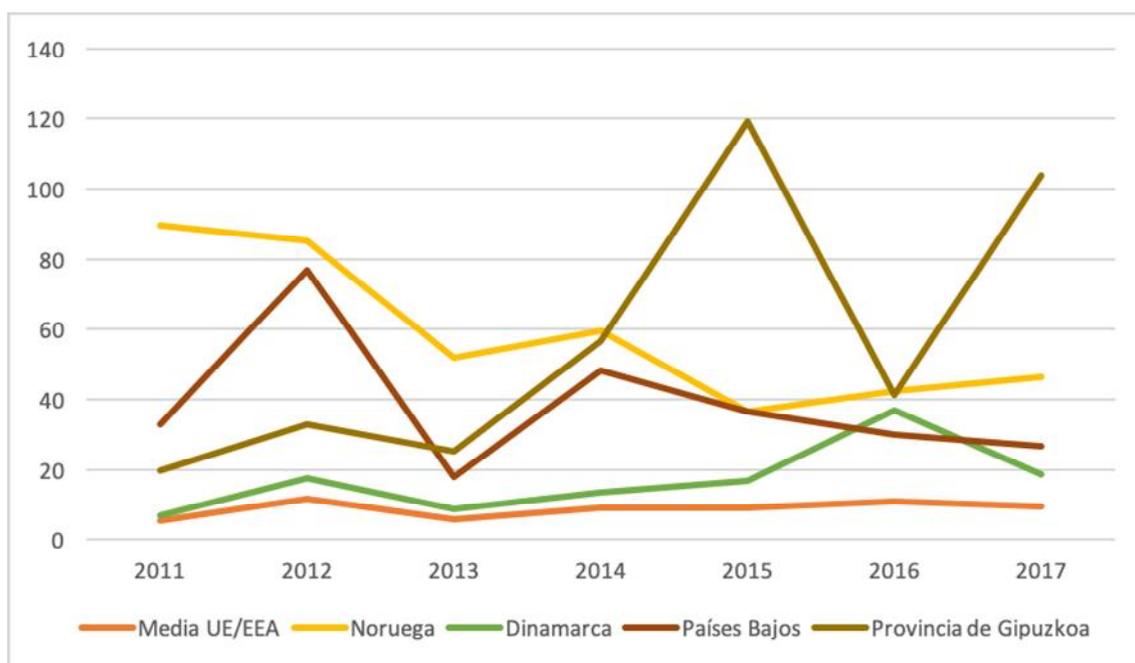
puede asumir que la eficacia de todas las vacunas celulares que se han empleado es similar (340).

Tras comparar la incidencia de la enfermedad observada en la presente Tesis Doctoral con la observada en países del entorno europeo, se pueden efectuar algunos comentarios. El primero es la baja incidencia registrada en España hasta 2010, claramente menor que la media europea. Un segundo comentario es el aumento generalizado de la incidencia en Europa, incluida España, a partir del año 2011, como muestra la figura 65. En cada uno de los años del cuatrienio 2014-2017, 16-19 de los 29 países que declaran los casos de tosferina al ECDC, presentaron una incidencia >3 casos/100.000 hab., estando a nivel continental en torno a 10/100.000. Al comparar la tasa de tosferina por 100.000 hab. en España con respecto a la de la Unión Europea en su conjunto se observó en ambos casos un incremento de la enfermedad también a partir de 2011, que en el año 2015 se situó en España por encima de la media registrada en el resto de los países (figura 65).



**Figura 65.** Tasa de tosferina por 100.000 hab./año en España (línea naranja) con respecto a la media del conjunto de la UE/EEA (línea azul) desde 1998 a 2017 (31).

La comparación de la tasa de incidencia de tosferina registrada en Gipuzkoa, en base a los datos de vigilancia epidemiológica, muestra que Gipuzkoa presentó una tasa superior a la media de la UE/EEA durante todos los años epidémicos, llegando a presentar en el año 2015 una tasa tres veces superior a la de Noruega (país con la mayor tasa registrada en los últimos años de toda la Unión Europea). Por tanto, se puede afirmar que Gipuzkoa ha presentado unas tasas elevadas, posiblemente mayores a las de países de su entorno. Estos datos sugieren también un buen nivel de detección y vigilancia de la tosferina en Gipuzkoa durante este período.



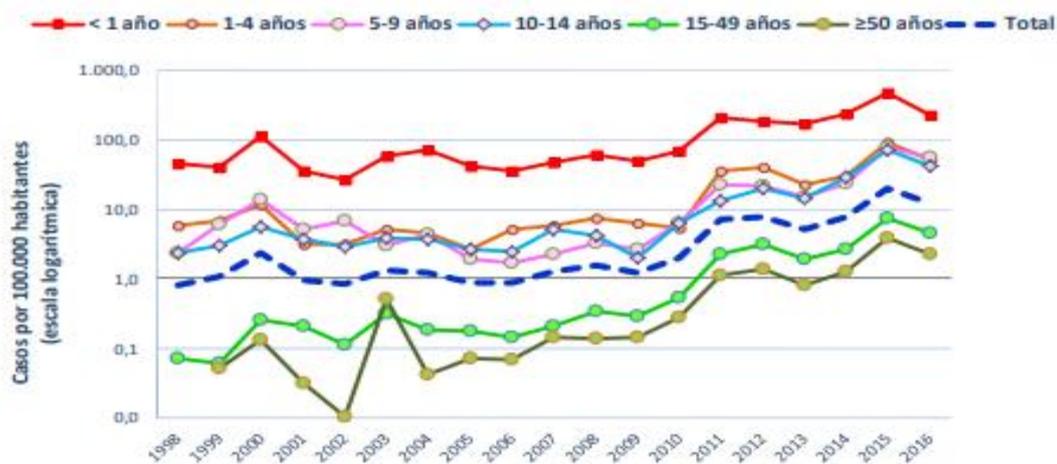
**Figura 66.** Tasa por 100.000 hab./año en Gipuzkoa con respecto a la media del conjunto de la UE/EEA y los tres países con mayor tasa durante la onda epidémica desde 2011 hasta 2017 (31).

#### 7.4 Características sociodemográficas: edad, sexo y comarcas

- **Incidencia en base a la edad:** en la muestra analizada (figura 36 y 37), se observó una tendencia decreciente en la incidencia en relación con la edad. El grupo de edad con mayor incidencia fue el de menores de un año (729 casos/100.000 hab. para el período 2011-2016), seguido de los niños de entre 1 y 4 años. De hecho, la tasa de incidencia de los menores de un año triplicó a la del siguiente grupo de edad. La misma tendencia descendente se observó dentro del grupo de menores de un año de edad, constatándose las cifras más elevadas en los menores de 3 meses. También en el resto de los estudios efectuados en España los lactantes fueron el grupo con incidencia de tosferina más elevada. Según los datos del Centro Nacional de Epidemiología del Instituto de Salud Carlos III, los menores de un año presentaron la mayor incidencia desde 1999 hasta 2016 (41), alcanzando el valor máximo en el año 2015 (457 casos/100.000 hab.). En el estudio llevado a cabo a nivel estatal por Sizaire *et al.* (327) hasta el año 2012, ya se resaltaba un aumento de incidencia en todos los grupos de edad, pero en especial en los menores de un año, con un valor de 214 casos/100.000 hab. en el año 2011. Esta tendencia también se aprecia en los estudios epidemiológicos publicados en otras regiones, como Cataluña, donde los menores de un año también fueron el grupo más afectado (6,341).

En segundo lugar, se encontraron los niños de entre 1-4 años y posteriormente aquellos en edad escolar entre 5-14 años, con tendencia, a partir de 2012-2014, a que se atenúen las diferencias entre ambos grupos conforme pasan los años, debido al mayor crecimiento (antes comentado) del número de casos en los niños de 5-14 años. Otros estudios estatales (41,327) confirman los mismos resultados. Los adolescentes y adultos presentaron tasas menores, tanto en nuestro estudio como en la mayoría de los publicados hasta la fecha. Sin embargo, a nivel europeo se ha referido con datos de 2017 que los adultos representan una proporción importante del total de casos declarados (>40% mayores de 30 años de edad), a pesar de ser el segmento de población con menor incidencia, debido a su mayor denominador poblacional (31). A la diferencia observada en relación al presente estudio (22% en el mismo año) probablemente contribuye una mayor infradetección en nuestro medio de los casos ocurridos en estos grupos, en los que generalmente los cuadros clínicos revisten menos gravedad que los que presentan los lactantes y niños más pequeños (196,342,343) y/o generan menos alarma. Por otra parte, la serología es un método diagnóstico ampliamente utilizado en el diagnóstico de la tosferina en adultos (títulos altos de IgG) en Europa, que apenas es empleado en nuestro medio.

La sospecha de infradetección importante de tosferina en adultos también ha sido confirmada en otros estudios internacionales (344,345). Sin embargo, y aunque la presente Tesis Doctoral no refleja de modo fiel la incidencia de tosferina en adultos (sería necesario un estudio de vigilancia prospectivo), permite constatar que el número de casos detectados en este grupo ha ido en aumento. En el período 2011-2012, los casos en mayores de 35 años representaron un 10% del total de casos declarados (37/359) siendo este porcentaje en 2016-2017 de 21,6% (222/1030) [ $\chi^2(1)= 22,19$ ;  $p<0,001$ ] (Anexo 2). El creciente número de casos observado en adultos es un factor preocupante ya que constituyen una fuente potencial de transmisión a los lactantes, quienes desarrollan las formas más graves de la enfermedad.



**Figura 67.** Tasas de tosferina por 100.000 habitantes/año en España 1998-2016 según grupos de edad. (Fuente: Enfermedades de Declaración Obligatoria (declaración individualizada). Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica. Centro Nacional de Epidemiología (41).

Los resultados de este trabajo son acordes a los observados en otros países (36,346,347,348) en los que los lactantes menores de un año también son el grupo más afectado durante las ondas epidémicas, con tasas más elevadas que el resto de grupos etarios. En segundo lugar, se encuentran los niños entre 1-13 años, observándose en tercer lugar un descenso del número de casos reportados a partir de los 14-19 años, si bien la proporción de casos de este tramo de edad muestra una tendencia creciente conforme pasan los años. Por tanto, en líneas generales, se observa una similitud de los resultados de Gipuzkoa con respecto a los observados a nivel de España y a nivel internacional.

En relación a la era prevacunal, se observaron también cambios importantes. En este período la mayor parte de los casos de tosferina ocurrían en menores de cinco años (138) y la enfermedad en adultos era declarada excepcionalmente (349). En 1916, sobre más de 10.000 casos declarados en la ciudad de Nueva York, solo el 2% correspondieron a mayores de 15 años (137) y este porcentaje fue similar en las series recogidas en Maryland (2% 1908-1917) (350) y Massachusetts (1,5% en 1918-1939) (351,352). En Nueva York (1916) más del 80% de los casos ocurrieron en menores de 5 años de edad (137). Sin embargo, durante la resurgencia observada en Gipuzkoa (2011-2017), los casos en mayores de cinco años representaron el 63,8% de los declarados (1794/2811) y los mayores de 35 años el 20,7% (583/2811) (Anexo 2), indicando circulación de la bacteria en toda la población y también en adolescentes, y adultos.

- **Incidencia en base al sexo:** los resultados obtenidos respecto a la distribución de la enfermedad según sexos, mostraron predominio del sexo femenino a lo largo de todo el

estudio y en todos los grupos de edad. También en los datos publicados anualmente por el Centro Nacional de Epidemiología (Instituto de Salud Carlos III) se ha observado predominio femenino en todos los grupos de edad (como excepción, algún año concreto como 2012 (353) y 2015 (354), predominaron ligeramente los varones entre los menores de un año). En otro estudio elaborado en Cataluña (Crespo *et al.*) (323) se detectó una proporción algo mayor de mujeres en todos los grupos de edad excepto en menores de un año, aunque sólo se alcanzó significación estadística entre los 15 y 45 años de edad. Se ha sugerido que la razón podría estar en el mayor contacto del sexo femenino en este grupo de edad con los lactantes y niños pequeños, aunque también en la búsqueda de casos en el entorno de lactantes y niños con tosferina. En nuestro estudio, esta diferencia (mayor incidencia en mujeres) se observó en todos los grupos de edad, siendo especialmente acusada entre los mayores de 35 años, en los que la incidencia en mujeres fue tres veces superior a la registrada en los hombres. Estos datos coinciden también con los publicados anualmente por el Centro Europeo de Control y Prevención de Enfermedades (31), que señalan que las mujeres presentan en mayor proporción la enfermedad en todos los grupos de edad (excepto el de lactantes algunos años), con un ratio varón/mujer de 0.8:1. Esta intrigante cuestión (predominio del sexo femenino) ha permanecido sin modificaciones desde la era prevacunal, en la que era bien conocida (8). En Inglaterra y Gales, las mujeres representaron el 51% (<1 año), 52% (1-4 años), 53% (5-9 años), 55% (10-14 años) y 74% ( $\geq 15$  años) de los casos de tosferina ocurridos entre 1945 y 1949 (352).

Se desconoce la razón por la que las mujeres presentan con más frecuencia la enfermedad. Cabría esperar predominio femenino en mujeres adultas ya que es común pasen más tiempo dedicadas al cuidado de los niños, puesto que a mayor contacto con un caso índice hay mayor probabilidad de contagio, como se ha visto en algunos estudios entre convivientes de un mismo núcleo familiar (136,137,184), pero este hecho no justificaría el predominio femenino en los grupos de pacientes de menor edad.

Por el contrario, en la mayoría de las infecciones víricas, y en menor frecuencia bacterianas o fúngicas la incidencia de la enfermedad suele ser algo mayor en varones (355,356). Una de las posibles razones podría ser la mayor intensidad de la respuesta inmune que tiene lugar en las mujeres con respecto a los hombres frente a determinados tipos de patógenos, influida por factores genéticos y hormonales. Los estrógenos por ejemplo, parecen tener un efecto inmunoestimulador (357). Paradójicamente, en el caso de *B. pertussis*, y a pesar de que la incidencia es mayor en mujeres, los estudios que analizan la respuesta vacunal demuestran

niveles más elevados de anticuerpos producidos tras la vacunación frente a tosferina en mujeres con respecto a hombres (356). Por tanto, esta cuestión sigue abierta en la actualidad.

- **Incidencia en base a la distribución geográfica:** en Gipuzkoa, la dificultad para establecer una distribución estanca entre los entornos urbano y rural es importante. El territorio es poco extenso y a menudo se solapan ambos ámbitos o están muy próximos. A pesar de ello, los datos del presente estudio demuestran que la enfermedad se distribuyó ampliamente por todo el territorio durante los años epidémicos, afectando tanto a municipios de pequeño tamaño como a los de más de 50.000 habitantes. La comarca con mayor incidencia de casos a lo largo del estudio fue Donostialdea (ciudad de Donostia/San Sebastián y su área metropolitana), seguida de Bidasoa (ciudad de Irún, segunda ciudad más poblada de Gipuzkoa). La incidencia en el área metropolitana de Donostia y en la ciudad de San Sebastián ha llegado a duplicar la de otras áreas, como Tolosaldea. No parece que estas diferencias se deban a un menor acceso de la población a los recursos sanitarios ya que el Servicio Vasco de Salud/Osakidetza cuenta con una distribución homogénea de dichos recursos en todo el territorio y por tanto la mayor incidencia en poblaciones grandes podría corresponder a una transmisión más rápida de la bacteria en entornos urbanos.

Los resultados obtenidos son similares a los observados en un estudio realizado en Cataluña (358), donde también se detectó incidencia de la enfermedad más alta en municipios con población mayor de 30.000 habitantes. Otros estudios publicados hasta la fecha muestran resultados dispares. Algunos confirman la tendencia a incidencia más elevada de la enfermedad en ámbitos urbanos (359). Sin embargo, en otros países se han detectado tasas más elevadas en la población rural, atribuyéndose a una menor cobertura vacunal de la población en dicho entorno (360).

## 7.5 Estacionalidad

A partir del año 2011, en el presente estudio se constató circulación ininterrumpida de *B. pertussis*, hasta el final del mismo (2017), en todos los meses del estudio. Se observó asimismo tendencia a una mayor incidencia en los meses cálidos del año, siendo el período con menor número de detecciones el de diciembre-enero.

En general, se considera que *B. pertussis* no muestra un patrón estacional tan claramente definido como otros patógenos (1,41), aunque la mayor parte de los estudios han constatado circulación más intensa en meses cálidos o al menos persistencia en meses cálidos, a diferencia

de otras infecciones como sarampión, rubeola, parotiditis o escarlatina (361). En Canadá, Skowronski *et al.* (362), analizando un gran brote ocurrido en la Columbia británica en el año 2000, comunicaron que la mayor proporción de casos se detectó en agosto y septiembre. Zeng *et al.* (363) en China Continental también constataron una mayor notificación de casos durante los meses estivales desde 2005 hasta 2016. En un estudio estadounidense que analizó los episodios de tosferina durante 8 años (2007-2014), Bhatti *et al.* (364) también comunicaron más casos en los meses estivales. En España, en un estudio efectuado en la CCAA de Madrid entre 1998 y 2005, Vera *et al.* (322) comunicaron el mantenimiento de la estacionalidad típica de finales de primavera y verano. Una mayor incidencia durante los meses de verano se ha observado también en un estudio efectuado en Queensland (Australia) entre 2008 y 2011 (Kaczmarek *et al.*) (365). Fine y Clarkson (366) analizaron el patrón estacional de la enfermedad en el Reino Unido durante décadas (desde 1957) y observaron importantes variaciones según el período analizado. Sin embargo, refirieron un alto nivel de transmisión durante los meses de verano y un incremento en septiembre, coincidiendo con la vuelta al colegio. En un análisis holandés (De Greeff *et al.*) (367) de los casos de tosferina desde 1996 hasta 2006, agosto fue el mes en el que se concentraron más casos en todos los grupos de edad salvo en los adolescentes, donde la máxima incidencia ocurrió en noviembre. Los autores sugirieron que una posible causa podía ser que el entorno escolar favoreciera la transmisión de la bacteria entre el grupo de escolares y adolescentes. Otro estudio multicéntrico que estudió los casos notificados en 16 países europeos (368), no determinó un patrón al analizar los datos en su conjunto, aunque al analizar los datos en función de la edad notificó una mayor prevalencia de la enfermedad en los meses estivales (junio a septiembre) en los niños de 1-4 años, a diferencia de los niños más mayores (de 5-14 años) que presentaron un incremento en los meses de primavera (abril a junio). Esta diferencia en la estacionalidad por grupo de edad es difícil de explicar, pero ha sido también constatada durante la resurgencia de la enfermedad en Gipuzkoa (figuras 45 y 46).

La razón del predominio estival en regiones tan distantes del mundo no está aclarado, aunque se han propuesto como hipótesis una mayor supervivencia de *B. pertussis* en las condiciones ambientales del verano o los cambios en el comportamiento humano asociados a los meses cálidos (367). Infrecuentemente, algunos estudios han mostrado una estacionalidad diferente, como es el caso de un estudio retrospectivo en Toronto (Canadá) (298) que analizó en un periodo de 13 años (1993-2007) más de 2500 casos confirmados, en el que los investigadores registraron predominio en otoño e invierno.

## 7.6 Entorno familiar, centros educativos y origen nosocomial

Respecto al análisis de la casuística de Gipuzkoa sobre los posibles contagios dentro del núcleo familiar, en una cuarta parte de los individuos con tosferina se demostró que existía un nexo familiar (casos secundarios confirmados microbiológicamente). De ellos, en la mitad de las ocasiones, se trataba de un hermano o hermana también afecto de tosferina, seguido de un adulto (padre o más frecuentemente, madre del caso índice). En el caso de los menores de un año, los hermanos fueron la principal fuente de contagio (29%), seguidos muy de cerca por el padre o la madre (23%). En la CAPV, según el protocolo de vigilancia de la tosferina, se recoge exudado faríngeo para confirmación en el laboratorio, al primer caso sospechoso que aparece en el núcleo familiar o escolar. Para los casos que sean contacto estrecho de un caso confirmado se considera suficiente el diagnóstico clínico, y por tanto en muchas ocasiones no se recogieron muestras de familiares con síntomas, siendo una limitación a la hora de establecer conclusiones en este aspecto.

La transmisión intrafamiliar ha sido considerada la fuente de infección más frecuente en el caso de los niños hospitalizados (378,381), normalmente de corta edad (< 1 año), siendo también importante en los casos ocurridos en la comunidad (182,418). Estudios efectuados en España han confirmado el importante papel de la transmisión intrafamiliar (369,370). En el 52% de los casos de tosferina confirmada en lactantes ingresados entre mayo de 2002 y diciembre de 2004 en cuatro hospitales pediátricos españoles, al menos uno de los familiares investigados tenía tosferina (369). Los resultados de un estudio internacional prospectivo, en el que participaron varios hospitales españoles, fueron similares, enfatizando que las madres son una importante fuente de contagio dentro del núcleo familiar (370). En un reciente estudio efectuado en Cataluña y Navarra (2012-2013) (371), que analizó los casos de tosferina declarados (casos en la comunidad), la tasa de transmisión intrafamiliar fue del 16%. La transmisión fue mayor con hermanos (25,7%) que madre (8,8%), padre (8,3%) o abuelos (4,5%).

Numerosos estudios han tratado de establecer los patrones epidemiológicos de la enfermedad. En un estudio epidemiológico realizado en EEUU en 2004 (182), focalizado en descubrir la fuente de contagio de menores de un año con tosferina, se observó un nexo con casos positivos en un 43% de los niños; de ellos en el 75% de las ocasiones se consideró a un familiar responsable del contagio (madres en un 35%, hermanos en un 20%, padres en un 15%). Otro estudio multicéntrico internacional (372), que analizó los contactos familiares de

menores de seis meses con tosferina confirmada, concluyó que en un 80% de los casos existía contagio familiar (padres/madres en un 55%, hermanos 16%, tíos/tías 10%). Las madres parecen ser la principal fuente de contagio en la mayoría de los estudios publicados (370,372,373), seguido de los hermanos.

Sin embargo, otro estudio más reciente que analiza los casos de tosferina en menores de un año en EEUU desde 2006 hasta 2013 (185), refirió que la principal fuente de contagio dentro del entorno familiar ha cambiado en la última epidemia (a partir de 2008), siendo actualmente los hermanos (35,5%, con una media de edad de 8 años), seguido de madres (20,6%) y padres (10%). Los datos obtenidos en la presente Tesis Doctoral indican que, en la fase de resurgencia, la transmisión intrafamiliar ha jugado un papel importante en la difusión de la enfermedad, y que los hermanos seguido por las madres y después padres, constituyeron el principal nexo dentro de cada núcleo familiar, pero esta conclusión debe valorarse con precaución, debido a las limitaciones en la búsqueda de contactos familiares. Sólo se realizaron pruebas microbiológicas a familiares en un 51% de los casos (en el caso de pacientes hospitalizados la búsqueda se realizó en el 100%). A pesar de ello, se estableció un nexo epidemiológico dentro del núcleo familiar en un 25% de esos casos, lo que sugiere que podría haber muchos más casos de los detectados.

En Gipuzkoa, en los últimos años se produjeron numerosos brotes de tosferina en centros educativos, dispersos por el Territorio, sin relación espacio-temporal clara, representando el 26% del total de casos declarados (figura 50), siendo el más afectado el grupo de 5 a 13 años de edad. Los centros escolares fueron el principal entorno en el que ocurrieron brotes de tosferina, excluyendo los brotes familiares, lo que ha sido referido también en Cataluña (323). Múltiples revisiones internacionales y trabajos destacan el entorno educativo como importante área de transmisión de *B. Pertussis* (374,375,376), sobre todo en los cursos escolares donde se encuentran niños y adolescentes que no han recibido recientemente un refuerzo vacunal. En la presente muestra, en el caso de la cohorte de niños entre 5-13 años, la enfermedad se declaró en mayor número a partir de los 9-10 años de edad, probablemente por el desvanecimiento de la inmunidad tras la introducción de la vacuna acelular (185). Un estudio realizado en Inglaterra analizó a los escolares que presentaron más de dos semanas continuas de tos paroxística y observó que un 37% tenía evidencia de infección reciente de *B. pertussis* (377). Otro estudio realizado en Canadá observó que los profesores tenían un riesgo cuatro veces mayor de padecer tosferina que la población general (378). La transmisión en un internado de adolescentes a partir de un caso ocasionó rápidamente un brote con una tasa de

ataque de 28% (379). Como se ha referido en líneas anteriores (apartado “Estacionalidad”), diversos estudios han constatado un incremento en la incidencia de tosferina (UK, Holanda...) tras la vuelta al colegio en Septiembre (361,362). Son por tanto muchos los ejemplos en la literatura médica de brotes de tosferina en relación a la escuela.

La transmisión nosocomial de *B. pertussis* ha sido descrita en múltiples estudios en las últimas décadas (261,380,381). Uno de los intereses de los autores de estos casos ha sido concienciar a los lectores sobre las medidas para controlar la transmisión entre pacientes, así como entre personal sanitario y pacientes, y proteger a los grupos más vulnerables, como prematuros, neonatos y lactantes de corta edad, generalmente en las Unidades de Neonatología (382,383). En el presente trabajo, se han recogido únicamente tres casos de contagio nosocomial, causados probablemente por no mantener un aislamiento apropiado de pacientes sospechosos de tosferina durante la espera de los resultados microbiológicos. Por ello, a pesar de no haber tenido consecuencias mayores, se debe incidir en: mantener un alto nivel de sospecha de esta enfermedad, y en el estricto aislamiento respiratorio de cada paciente en habitaciones individuales en caso de sospecha de la misma, hasta la obtención de los resultados microbiológicos. Durante los últimos años se han intensificado las medidas de aislamiento en el HUD, manteniendo a los pacientes sospechosos de padecer la enfermedad en habitaciones individuales a la espera de confirmación microbiológica, lo que se ha facilitado por la rapidez con que se obtiene actualmente esta última (normalmente <24 horas). Esta medida ha podido contribuir a no tener casos de transmisión nosocomial desde el año 2012.

Aunque no se ha constatado ningún caso en este estudio no hay que olvidar que los sanitarios pueden ser fuente de casos nosocomiales, habiéndose infectado dentro o fuera del hospital, por lo que es necesario mantengan su vacunación actualizada y si es necesario se les administre una dosis de recuerdo. En un metaanálisis publicado en el año 2013 (382) se analizaron los brotes acontecidos en los últimos años entre el personal sanitario objetivándose mayor número de contagio nosocomial en las unidades de hospitalización de lactantes y neonatos que en el resto de áreas hospitalarias. Dicho estudio pone de manifiesto la importancia de la vacunación del personal sanitario, incidiendo en el dedicado a los recién nacidos y lactantes pequeños, ya que son el grupo más vulnerable.

## **7.7 Características clínicas de los casos confirmados**

### **7.7.1 Antecedentes gestacionales y patología previa**

Se constató prematuridad en el 7% de los casos de tosferina. Esta cifra está próxima a la tasa de prematuridad en nuestro medio (en torno al 10%) (384). Algunos estudios han establecido que la prematuridad (embarazo inferior a 37 semanas de gestación) podría ser un factor de riesgo para la enfermedad (348,385,386). En un estudio llevado a cabo por Riise *et al.* (385) entre 1998 y 2010 en Noruega, se observó una mayor proporción de tosferina entre los prematuros que en aquellos nacidos a término, así como un mayor riesgo de hospitalización cuanto menor era la edad gestacional. Entre otros motivos, se atribuyó el mayor riesgo de tosferina al escaso tiempo que existe para la transferencia de inmunoglobulinas maternas por vía trasplacentaria. Un estudio israelí que analizó la infección por *B. pertussis* en los menores de un año entre 1998 y 2011 (Zamir *et al.*) (386) estableció la prematuridad como factor de riesgo independiente para padecer la enfermedad. Un estudio observacional realizado en EEUU en menores de un año entre 2005 y 2010 (Masseria *et al.*) (348) observó también una mayor proporción de prematuros entre los niños afectados de tosferina con respecto a sus controles. En un estudio realizado en Canadá entre 1999 y 2015 (Abu-Raya *et al.*) (387) se observó que la prematuridad era un factor de riesgo independiente para ingreso en la Unidad de Cuidados Intensivos, así como de mortalidad, a causa de tosferina. En el metaanálisis publicado en 2018 por Aronsson *et al.* (388) se concluyó que, debido a la mayor susceptibilidad de los prematuros a sufrir tosferina, y a que la respuesta inmune a la vacuna es similar a la de los nacidos a término, no se debe retrasar la vacunación frente a la misma, siendo la vacuna igualmente segura y mostrando la misma proporción de efectos adversos. En el presente estudio no se pudo establecer que la prematuridad sea un factor de riesgo para tosferina debido a su diseño y al escaso número de prematuros detectado.

En cuanto a la neumopatía como condición de base, se constató en el 15,4% de los casos, siendo principalmente asma. Este porcentaje concuerda con lo observado en otras series (389,390). Existen pocos estudios que relacionen el asma con predisposición a padecer tosferina (391,392,393), pero uno de ellos (Capili *et al.*) (392) realizado sobre población estadounidense en 2012 sugiere un riesgo mayor de tosferina para pacientes de asma (aunque esta asociación se ha comunicado en una población predominantemente pediátrica). Los autores de este estudio concluyeron que la predisposición a sufrir tosferina por parte de los asmáticos sigue el mismo patrón que frente a otras bacterias, como neumococo (390,394,395). Varias causas podrían explicar el mayor riesgo de sufrir infección por *B. pertussis* de la población asmática: arquitectura alterada de la vía respiratoria, respuesta alterada del sistema inmune innato (392)... También Mbayei *et al.* (396), analizando una amplia serie de casos de tosferina recogidos en USA en 2011-2015, refirieron que el 43,5% de los adolescentes de 12-20

años y el 26,5% de los mayores de 21 años hospitalizados tenían historia de asma, siendo estos porcentajes aproximadamente 10% y 8%, respectivamente, en la población americana. En el estudio realizado en Estados Unidos por Buck *et al.* (397) se observó también una mayor incidencia de tosferina en niños mayores de 11 años diagnosticados de enfermedad pulmonar obstructiva crónica y/o asma así como un mayor gasto sanitario en comparación con el grupo control.

Respecto a las cardiopatías, no pudimos establecer conclusiones, debido a la heterogeneidad de la muestra y al escaso número de pacientes que presentaron alguna patología cardíaca. Es conocido que los niños con cardiopatía congénita tienen un riesgo aumentado de enfermedades respiratorias en general y de expresión más grave de las mismas, riesgo que, en el caso de la tosferina está atenuado por la vacunación (398).

### **7.7.2 Situación vacunal**

En España, la cobertura de primovacunación en la población general se sitúa en torno al 95%, siendo la cobertura del refuerzo de los 6 años levemente menor. Estos datos son acordes a lo que ocurre en Gipuzkoa (324), con coberturas vacunales de primovacunación y vacunación de refuerzo en los mismos valores o valores ligeramente superiores. La mayor parte de los casos pediátricos (<15 años) de este estudio confirmados microbiológicamente estaba correctamente vacunado para su edad, tanto en el período 1998-2010 (77%) como durante la fase de resurgencia (88%) llegando este porcentaje al 97% en 2016, lo que refuerza la idea antes discutida de que la inmunidad generada por la vacunación, especialmente la acelular, se desvanece con los años.

Sólo un pequeño porcentaje de los casos se asoció a niños no vacunados, normalmente hijos de padres pertenecientes a grupos que rechazan la vacunación. De hecho, entre los niños de 6- <12 meses de edad (excluimos los lactantes menores de 6 meses para asegurar que debían haber recibido al menos dos dosis de vacuna), el porcentaje de casos no vacunados se situó en un 16%. En este sentido, se constató la ocurrencia en San Sebastián, de un brote de tosferina con alta incidencia en la población infantil, en una comunidad que rechaza la vacunación por razones antroposóficas. Sin embargo, el porcentaje de niños correctamente vacunados aumentó entre los de 1-4 (88%) y 5-13 (95%) años, lo que deja poco margen al rechazo a la vacunación como motivo de la resurgencia observada en Gipuzkoa a partir de 2011.

En otros estudios efectuados en España también se ha observado que una parte importante de los afectados había sido vacunada con anterioridad. En la Comunidad Autónoma de Madrid, más de la mitad de los casos ocurridos entre 1982 y 2005 había recibido al menos tres dosis de vacuna (322). En Cataluña (1997-2010), el 40% de los casos estaba correctamente vacunado (323), aumentando este porcentaje al 81% (excluyendo niños con estatus vacunal desconocido o con vacunación incompleta debido a su corta edad) en un estudio efectuado en Cataluña y Navarra en 2012-2013 (371) (resurgencia temprana). En un brote ocurrido en La Cerdaña (Pirineo Catalán) en 2010 (399), el 86% de los niños y preadolescentes afectados estaba correctamente vacunado. También en los brotes ocurridos en Valencia (2015) (400) y en Écija (Sevilla 2016) (401), la mayor parte de los menores de 18 años de edad afectados estaba adecuadamente vacunado. En otros países se han descrito brotes similares, con transmisión sostenida entre niños correctamente vacunados (402,403). Los datos del ECDC indican que más del 56% de los 26744 casos ocurridos en Europa en 2016 con estatus vacunal conocido había recibido al menos tres dosis de vacuna (335). Aunque cuando se analizan series amplias, el porcentaje de casos vacunados varía considerablemente de unos a otros países, en líneas generales es significativo (regularmente  $\geq 40\%$ ), lo que resalta la capacidad de *B. pertussis* para circular entre poblaciones vacunadas (333,404).

En el presente estudio se observó una relación estadísticamente significativa entre no estar vacunado y la posibilidad de transmisión de la enfermedad a algún conviviente. Esta diferencia podría ser explicada por una menor cobertura vacunal entre los restantes miembros de la familia del caso índice, así como por una mayor carga bacteriana en la nasofaringe de los infectados no previamente vacunados. La transmisibilidad en ambiente familiar (mayor en grupos de población no vacunada) se ha observado en numerosos estudios (369,372,373,380,405,406) y es uno de los motivos por los que se ha tratado de buscar nuevas estrategias de vacunación, como la vacunación en la embarazada o la estrategia del nido, entre otros.

El estudio mostró una sintomatología más leve de la enfermedad en niños vacunados. Sin embargo, hay que considerar que los síntomas clínicos pueden estar influenciados por la edad del paciente. Por ejemplo, es esperable que los niños más pequeños presenten con mayor frecuencia apnea y cianosis siendo estos niños aquellos en los que la prevalencia de vacunación es menos elevada. Aun así, al realizar el análisis excluyendo a los menores de tres meses (por la mayor proporción de pacientes no vacunados que presenta ese grupo), se sigue observando una débilmente mayor incidencia de apnea entre los pacientes no vacunados,

siendo este valor estadísticamente significativo incluso al eliminar del análisis a todos los menores de un año. Existen pocos estudios en la literatura que analicen las distintas manifestaciones clínicas de tosferina en función del estado vacunal. Tozzi *et al.* (407) en Italia (2002) observaron mayor proporción de complicaciones y gravedad del cuadro clínico en los niños no vacunados respecto a los vacunados. Un estudio israelí realizado en menores de 30 años (408) que analizó las diferencias entre ambos grupos, observó también que los pacientes vacunados presentaban un cuadro clínico más leve que los no vacunados.

### 7.7.3 Manifestaciones clínicas

Los síntomas clínicos predominantes en la muestra analizada fueron tos en accesos y dificultad respiratoria. La tos paroxística, como se ha comentado en la Introducción, es la característica principal de la forma clásica de tosferina en todos los grupos de edad. Esta forma es más llamativa, si cabe, entre el año de vida y la adolescencia, mientras que a partir de esa edad y en la edad adulta, los pacientes suelen presentar la sintomatología, de menor intensidad. Los menores de un año pueden presentar una forma atípica de la enfermedad, con apneas y cianosis como principales manifestaciones clínicas (409).

La forma clásica de la enfermedad (tos paroxística como manifestación más relevante), es la más típica de niños en edad escolar. Según los resultados del presente estudio, en el que gran parte de la muestra de población estudiada se encontraba vacunada frente a tosferina, la tos paroxística constituyó la manifestación clínica predominante tanto en los pacientes ingresados como en los que no precisaron ingreso, y en todos los grupos de edad (con mayor proporción en niños entre 1 y 13 años). Analizando en la literatura los síntomas predominantes en pacientes inmunizados frente a tosferina Narkeviciute *et al.* (410) concluyeron que la forma clásica de la enfermedad (tos persistente de varias semanas de duración) era la presentación característica de los pacientes vacunados, siendo infrecuente el gallo inspiratorio, el vómito postusígeno y mucho más infrecuente la apnea. Yaari *et al.* (408) también objetivaron que la tos en accesos de varias semanas de duración era la sintomatología predominante de tosferina en los pacientes correctamente inmunizados. Así mismo, en otro estudio que comparaba la duración de los síntomas en pacientes inmunizados frente a aquellos no inmunizados (407) (se trataba de un estudio en el que se vacunó a una cohorte frente a tosferina y a otra no) se constató una menor duración de la sintomatología, (fundamentalmente tos en accesos), en aquellos pacientes vacunados frente a los que no lo estaban. En el realizado por Vodzak *et al.*

(306) en EEUU (2007-2014), 57/60 pacientes incluidos en el estudio presentaron tos en accesos, estando 52 (80%) correctamente vacunados para su edad.

En estudios que han analizado la tosferina en adolescentes y adultos, la tos en accesos o paroxística también ha sido el síntoma más frecuente. En el estudio realizado en mayores de 18 años con tosferina de una zona con elevada cobertura vacunal en Francia (411) (60% de los pacientes se encontraban vacunados), la tos paroxística estuvo presente en un 93% de los casos confirmados de tosferina. En otro estudio de contactos, realizado en Alemania sobre 257 adultos con tosferina (412), el 91% de los casos presentaba tos en accesos, siendo el resto de síntomas menos frecuente. En otro estudio realizado en Canadá en adolescentes y adultos con tosferina, más del 97% presentaron tos paroxística (378). Una revisión sistemática realizada en 2017 por Moore *et al.* (421), determinó que, en el adulto, la presencia de vómitos postusígenos y/o gallo inspiratorio elevaría la probabilidad de padecer tosferina mientras que la ausencia de tos en accesos y la presencia de fiebre disminuirían esa probabilidad. En otra revisión sistemática realizada en 2010 por Cornia *et al.* (413) que analizó la ocurrencia de vómitos postusígenos, gallo inspiratorio y tos en accesos también puso de relieve resultados similares.

Los menores de un año presentan con frecuencia formas “atípicas” de la enfermedad (apneas y cianosis) aunque frecuentes en su edad, y un mayor índice de hospitalización (414). En la presente serie, la mayor proporción de eventos “atípicos”, como apnea o cianosis, ocurrió en este grupo de edad, siendo mayor en los menores de tres meses (43% de los casos presentan algún episodio de apnea), que en los de cuatro-once meses de edad, en los que el porcentaje se redujo al 5%. En otros estudios también se ha descrito una mayor proporción de formas “atípicas” y complicaciones con relación inversa a la edad, como en el caso de Vitek *et al.* (415) que analizaron las distintas características entre los casos de tosferina mortales de la década de los 80 y los 90. En ambos períodos los lactantes menores de 4 meses fueron los que presentaron mayor mortalidad con un 64% y un 82% respectivamente.

En la muestra analizada solo presentaron fiebre cuatro pacientes no hospitalizados (0.2%). La baja frecuencia de fiebre de los pacientes con tosferina es un hallazgo común a todas las series de casos y es importante, pudiendo dificultar el reconocimiento de la enfermedad, ya que inicialmente el cuadro se puede confundir con una simple infección respiratoria de vías altas. En una revisión realizada por Cherry *et al.* (416) que analizó en California los síntomas de 100 lactantes menores de 4 meses ingresados en la Unidad de Cuidados Intensivos, solo se detectó

fiebre en dos (0,5%). Entre los pacientes hospitalizados en esta serie el porcentaje de casos en los que se detectó fiebre en algún momento fue mayor (13%), posiblemente debido a una más estrecha vigilancia al tratarse de pacientes hospitalizados.

A lo largo del periodo de estudio se produjo un fallecimiento por tosferina (año 2008), que tuvo lugar en una niña de dos meses que, por tanto, no había recibido ninguna dosis de vacuna. Ese mismo año en España se contabilizaron cuatro fallecimientos más. Aunque en Gipuzkoa no se detectaron nuevos fallecimientos por tosferina en los años siguientes, de resurgencia epidémica, la mortalidad ascendió ligeramente en España, con un total de 30 muertes registradas por tosferina desde 2009 a 2016 (41). La mortalidad por tosferina, como ya se ha comentado previamente, se concentró en los menores de tres meses, que es el grupo más vulnerable (255,417).

#### **7.7.4 Diagnóstico: Centro Sanitario, muestras clínicas empleadas, pruebas complementarias (laboratorio, imagen)**

Casi tres cuartas partes de los casos de esta serie se diagnosticaron en Centros de Salud. Los pacientes menores de un año de edad son los que más acudieron a las Urgencias Hospitalarias. No existen estudios que comparen el lugar donde se producen los diagnósticos de tosferina, además de que existen importantes diferencias en los Sistemas Sanitarios de los diferentes países y regiones, con distintos protocolos de actuación en caso de sospecha de la enfermedad.

Así mismo, se ha analizado la relación entre la historia vacunal y el lugar en el que se solicita la asistencia sanitaria para el diagnóstico de los casos sospechosos, observándose que los pacientes no vacunados acuden en mayor proporción a las unidades de Urgencias Hospitalarias en vez de acudir a su pediatra en todos los grupos de edad.

Es de destacar el escaso número de pruebas serológicas realizadas para el diagnóstico de tosferina durante todo el estudio, debido a que la serología no es el método diagnóstico de elección y a la temprana introducción en este Territorio de los métodos moleculares, su amplia accesibilidad a los pediatras y médicos de familia y el hecho de que proporcionan resultado fiables y rápidos.

En los centros de Atención Primaria, la muestra más utilizada para el diagnóstico de tosferina ha sido el frotis faríngeo con medio de transporte viral. Aun siendo un método con menor sensibilidad que el frotis nasofaríngeo o aspirado nasofaríngeo (222) (muestra esta última

empleada en Urgencias de pediatría), la aplicación de técnicas de biología molecular lo hace también muy sensible. El frotis faríngeo es un método de fácil introducción en los Centros de Salud, más fácil de realizar y menos agresivo que los antes citados de referencia. Analizando la distinta utilización de los métodos diagnósticos, en otros países se obtienen resultados dispares. A nivel europeo, en un estudio multicéntrico que engloba 27 países (EU-VAC.NET; Red para la vigilancia epidemiológica y el control de las infecciones prevenibles por vacunas en la Unión Europea) se ha observado que existe una heterogeneidad en el uso de los distintos métodos diagnósticos, por lo que resulta difícil establecer comparaciones (418). Al analizar en dicho estudio los métodos diagnósticos utilizados para tosferina, (cada país utilizaba uno, dos o tres métodos diagnósticos), se objetivó que el cultivo lo realizaban 17 de los países, mientras que la PCR 18 y la serología 20. En un estudio publicado en EEUU que analiza la tendencia de los últimos 20 años en el diagnóstico de tosferina se ha detectado un mayor protagonismo de la PCR en los últimos años a expensas de una menor utilización de otros métodos diagnósticos (419,420). La tendencia observada en EEUU es general, debido a la cada vez mayor implantación de la PCR en los laboratorios.

Respecto a las principales alteraciones analíticas observadas, lo primero a destacar es el escaso número de extracciones sanguíneas realizadas, ya que sólo se dispone de las muestras sanguíneas de un 8% del total de casos microbiológicamente confirmados. El hecho de este escaso número de analíticas es debido a que la mayoría de los diagnósticos no revisten gravedad y son realizados en los Centros de Salud. De hecho, más de la mitad de las analíticas fueron realizadas en menores de un año, normalmente en las unidades de Urgencias Hospitalarias o plantas de hospitalización, siendo la cifra media de leucocitos y linfocitos más elevados en los lactantes y niños más pequeños que en el resto de grupos de edad.

Los datos aportados por un metaanálisis reciente (Moore *et al.*) (421) que trata de determinar las características clínicas y analíticas de la enfermedad en los distintos grupos de edad, aporta información sobre la leucocitosis y su posible relación con la tosferina. Dicho metaanálisis sugiere que leucocitosis y linfocitosis podrían ser marcadores relativamente sensibles de la infección en niños. Otros estudios (188,422) detectan una mayor proporción de leucocitosis y linfocitosis en los lactantes y niños de menor edad respecto a adolescentes y adultos. Es posible que adolescentes y adultos presenten antitoxina pertussis en mayor concentración que los menores de un año (que pueden no presentar anticuerpos o justamente estar iniciando la respuesta a la primera o segunda dosis vacunal). Presentar anticuerpos frente a la toxina pertussis aportaría protección frente a la enfermedad, favoreciendo cuadros más leves y sin

alteraciones analíticas relevantes. Por otra parte, algunos estudios relacionan las cifras de leucocitos y linfocitos con una mayor gravedad del cuadro clínico (193,423). En nuestro caso, la única fallecida presentó cifras de leucocitos y linfocitos elevadas, pero hubo varios pacientes que presentaron valores aún mayores, superando finalmente la enfermedad. El hecho de que además fuera prematura pudo aumentar el riesgo de tosferina maligna, como ya se ha visto en otros estudios que asocian prematuridad con complicaciones en el transcurso de la tosferina [Masseria *et al.* (348), Riise *et al.* (385), Zamir *et al.* (386), Abu-Raya *et al.* (387), Winter *et al.* (423)].

Como es esperable, se realizaron pruebas de imagen al grupo más vulnerable y casi siempre en contexto de hospitalización. Se encontraron pocas alteraciones radiológicas, en su mayor parte condensaciones alveolares y atelectasias en los lactantes menores de un año. De hecho, la mayor proporción de pruebas de imagen realizadas tuvo lugar en los pacientes que presentaron apnea o cianosis como síntomas principales. Respecto a los adolescentes y adultos de nuestra serie a los que se les realizó alguna prueba radiológica (40 casos), sólo dos presentaron alteraciones. Beynon *et al.* (424) analizaron la presencia de *Bordetella pertussis* en las muestras de 304 adultos ingresados por neumonía, encontrando dicha bacteria en el aspirado nasofaríngeo del 3% de los pacientes. Lieberman *et al.* (425) indican que la proporción de neumonías debidas a *B. pertussis* podría ser mayor, llegando incluso a constituir un 7% del total de neumonías que requirieron ingreso hospitalario en los pacientes adultos. Aunque el presente estudio no se enfocó en la neumonía comunitaria, los datos recogidos no apoyan un papel relevante para *B. pertussis* en la neumonía del adulto.

#### 7.7.5 Tratamiento

Una cuarta parte de los pacientes recibieron algún tipo de tratamiento sintomático, previo al diagnóstico microbiológico, siendo los más empleados broncodilatadores, antitusivos y corticoides, todos ellos en monoterapia. En el caso de los pacientes que presentaron dificultad respiratoria como primera manifestación de tosferina, la mayoría recibió tratamiento con broncodilatadores y corticoides durante varios días, tras los cuales, al confirmarse el diagnóstico y normalmente sin observarse mejoría clínica, se asoció un macrólido. A pesar de los numerosos estudios que han tratado de encontrar un tratamiento sintomático que mitigara las manifestaciones clínicas, Wang *et al.* (240) señalan en un metaanálisis que a día de hoy ninguno ha resultado efectivo. Otros estudios analizan por separado varias terapias

demostrando que tanto salbutamol, como los antitusivos o corticoides no parecen resultar efectivas (426,427,428).

A lo largo del periodo estudiado se ha producido un cambio en la terapia con macrólidos, con sustitución de eritromicina y claritromicina por azitromicina. El cumplimiento terapéutico con macrólidos fue de casi un 100% de los casos en los que se tiene información sobre la terapia utilizada. Estos datos concuerdan con los publicados en otros estudios, donde además, el tratamiento con azitromicina se asocia a mejor adherencia terapéutica por presentar menores efectos secundarios que el resto de antibióticos macrólidos (235,429) y por su más fácil pauta de tratamiento (menor número de dosis). A pesar de que azitromicina se caracterice por una mayor adherencia al tratamiento, cualquiera de ellos ha demostrado que es igualmente efectivo frente a *B. pertussis* (239) para reducir el contagio de la enfermedad. Sin embargo, es recomendable evitar eritromicina durante los primeros meses de edad por el riesgo de estenosis hipertrófica de píloro (430,431,432). En el presente estudio, los menores de un año recibieron eritromicina únicamente durante los primeros años del estudio, sustituyéndose por azitromicina desde el inicio de la fase de resurgencia de la enfermedad. En nuestra muestra no se observó ningún caso de estenosis hipertrófica de píloro debida a dicho tratamiento.

## 7.8 Hospitalización

Todos los años del estudio (1998-2017) hospitalizaron pacientes a causa de tosferina. La media fue de cuatro (1-7) pacientes por año antes del 2011 aumentando a 11,9 (2-19) pacientes por año en el período de resurgencia epidémica. A pesar de este aumento, el porcentaje de hospitalización durante la resurgencia fue bajo (2,9%), menor que en el período precedente (25,3%), observándose además una tendencia temporal al descenso. No obstante, debido a la intensa circulación de *B. pertussis* y el elevado número de casos durante la resurgencia, finalmente el número de hospitalizaciones a causa de tosferina en este período, fue significativo.

El mayor número de hospitalizaciones ocurrió en los menores de un año (83,5% del total), y especialmente de 4 meses, que supusieron un 76% de los hospitalizados por tosferina. Estos resultados concuerdan con los datos relativos a hospitalización en el curso de la enfermedad, publicados en numerosos estudios epidemiológicos. En el ámbito estatal, Fernández-Cano *et al.* (433) estudiaron las hospitalizaciones por tosferina en España desde 1997 a 2011, registrando 8.331 casos con una incidencia media anual de hospitalización de 1,3 casos/100.000 hab (0,99 en Gipuzkoa, presente estudio [1998-2017]). Estos autores

señalaron que el 92% de los ingresos (7.658 niños) habían correspondido a menores de un año, constatándose entre los menores de 3 meses 37 defunciones (78,7% del total). Santos *et al.* (434) analizando las hospitalizaciones por tosferina a nivel estatal desde 1999 a 2005 y Moraga *et al.* (329) en Cataluña desde 1997 al 2001, obtuvieron datos en la misma línea.

En el ámbito internacional, y en relación a la edad, las series publicadas de distintos países son también concordantes. En el estudio multicéntrico llevado a cabo por EUVAC.NET en 27 países europeos entre 1998 y 2002 se observó que la tasa más elevada de hospitalización correspondió a los menores de un año, de los que un 70% precisó ingreso hospitalario, ocurriendo el 87% de las defunciones en los menores de 6 meses (368). Más recientemente (2017), también a nivel europeo, el 51% de los hospitalizados por tosferina fueron menores de 4 años y el 63% de los menores de un año de edad tenían menos de 3 meses de edad (31). En Portugal, Oliveira *et al.* (435), en un estudio efectuado a nivel estatal que recogió todas las hospitalizaciones por tosferina ocurridas entre 2000 y 2015 en ese país (n=2881), refirieron que el 94% había correspondido a menores de un año de edad, en su mayor parte, menores de 3 meses. El estudio puso de manifiesto que la tasa de hospitalización fue 1800 veces mayor en lactantes que en la población general, reflejando la mayor gravedad de la enfermedad en ese grupo de población. En Brasil, en un prolongado estudio que abarcó desde 1996 a 2013, Mançaneira *et al.* (436), comunicaron que el 88,2% de los ingresos había tenido lugar en menores de un año, grupo en el que también ocurrieron el 96,8% de las muertes por tosferina. En el estudio estadounidense efectuado por López *et al.* (437) en pacientes de 0 a 18 años con tosferina desde 1997 a 2009, los menores de 6 meses sumaron el 90% de los ingresos. Otro estudio que analizó más de 15900 casos de tosferina declarados en siete estados de EEUU entre 2011 y 2015 (396) obtuvo una tasa de hospitalización de 3,2%, similar a la observada en Gipuzkoa en 2011-2017 (2,9%). El estudio refirió que a los menores de 2 meses correspondieron el 1.6% del total de casos de tosferina, pero el 29% del total de hospitalizaciones. Por tanto, los resultados de los estudios efectuados en partes muy diversas del mundo (incluyendo el realizado en Gipuzkoa) son coherentes, confirmando que el grupo más vulnerable y con mayor riesgo de tosferina grave que requiere hospitalización son los menores de un año y que este grupo aglutina el grueso de las hospitalizaciones a causa de tosferina. Además, señalan que, tras la resurgencia de la tosferina, esta situación no ha cambiado o incluso se ha hecho más evidente.

En Gipuzkoa, se obtuvo una incidencia media anual de hospitalización en menores de un año de 36,5 casos/100.000 hab. (1998-2010), y de 141,3 casos/100.000 hab. durante la fase de

resurgencia epidémica (2011-2017). En España, entre 1997 y 2011 se ha comunicado una incidencia media anual de hospitalización a causa de tosferina en esa edad de 115 casos/100.000 hab (327,433). Sizaire *et al.* (327) refirieron que, en los menores de un año de edad, desde 1998 a 2009 las cifras se mantuvieron estables, pero presentaron un aumento también a partir de ese año (analizado hasta 2012), alcanzando en 2011, 378 casos/100.000 hab., si bien fue más moderado en 2012 (131 casos/100.000 hab.). Por tanto, en España, la resurgencia de la tosferina parece haberse acompañado de un aumento en la hospitalización, si bien de magnitud claramente menor al aumento observado para el total de los casos declarados. De hecho, la incidencia de tosferina en Gipuzkoa aumentó 40,3 veces al comparar el período 2011-2017 con el período 2000-2010 (11,5 para menores de un año de edad) mientras que esta ratio fue de 3,8 veces si comparamos tasas de hospitalización. A nivel internacional se han obtenido datos más dispares, en relación probablemente a los diferentes programas vacunales y su cobertura, el período de estudio y su duración, y la fase epidemiológica que esté atravesando cada país (epidémica, de baja incidencia...). Así por ejemplo en Australia (438), entre 1998 y 2009 la incidencia media anual de hospitalización en menores de un año fue elevada (151,6 casos/100.000 hab.), siendo en Portugal (435) 139 casos/100.000 hab. (2000-2015), mientras que en Austria, este valor fue inferior, situándose en 71,2 casos/100.000 hab. entre 1996 y 2003. En EEUU (28) se han notificado en 2017 una tasa de hospitalización que varía entre 78,4 casos/100.000 hab. (menores de un año) y 1,7 casos/100.000 hab. (mayores de 20 años). Otro estudio estadounidense (Masseria *et al.*) (348) ha notificado una tasa de hospitalización de 118 casos/100.000 hab. en los menores de un año. En Canadá (Abu-Raya *et al.*) (387) en pacientes hospitalizados por tosferina entre 1999 y 2015 se refirió una tasa de hospitalización en menores de un año de 42 casos/100.000 hab., aumentando a 116 casos/100.000 hab., en los menores de 2 meses. Otro estudio también efectuado en ese país (Quebec) observó tasas para menores de un año de edad de 165 casos/100.000 hab. y 34 casos/100.000 hab. en 1981-1995 y 2006-2016 respectivamente (439), estando en el segundo período ya en uso la vacuna acelular. La razón de esta disminución podría estar, entre otras, en la reciente introducción de la vacunación en el adolescente y en la mayor cobertura vacunal en el último período de estudio debido a la mejor aceptación de las vacunas acelulares.

En Gipuzkoa se observó en 2016 y 2017 un descenso tanto en números absolutos como relativos (en relación al total de casos registrados de tosferina) en las hospitalizaciones ocurridas en menores de un año. Este descenso probablemente está relacionado con la introducción en 2015 de la vacunación frente a tosferina en la embarazada. Aunque aún ha

transcurrido poco tiempo desde su introducción, el porcentaje de casos de tosferina en menores de 4 meses de edad (grupo “core” a ser beneficiado por esta vacunación) en 2016-2017 fue significativamente menor que en 2011-2015 (tabla 23; casos hospitalizados por tosferina 2011-2017), lo que sugiere que la medida está siendo exitosa. A la hora de redactar esta tesis doctoral, la información generada en España sobre la efectividad de la vacunación en la embarazada, debido a su reciente introducción y a las coberturas vacunales subóptimas obtenidas, es aún escasa. Por ejemplo, en Cataluña, Fernández-Cano *et al.* (440) obtuvieron una cobertura vacunal en mujeres gestantes de sólo un 25% en el primer año de implantación del programa de inmunización. Tampoco fuera de España hay mucha información a este respecto, procediendo la parte principal de la misma de EEUU y UK. En estos países, en los que la vacunación en la embarazada se introdujo años antes que en España, se ha observado un efecto protector frente a la enfermedad en los lactantes cuando se alcanzaron en las embarazadas coberturas vacunales significativas. En California (441), con una cobertura en embarazadas del 87%, se mostró una efectividad vacunal del 88% para prevenir el contagio de menores de dos meses de edad que aún no habían recibido ninguna dosis de vacuna. En el estudio de Mbayei *et al.* (396), efectuado entre 2011 y 2015 en siete estados americanos, se observó que una dosis de vacuna en mujeres en el tercer trimestre del embarazo redujo la probabilidad de tosferina en los dos primeros meses de vida de sus hijos; en Inglaterra (272,442), tras la implantación en 2012 de la vacunación en la embarazada, se observó un fuerte descenso de la infección en los menores de 3 meses de edad, con una cobertura vacunal en torno al 64% en dicha cohorte de embarazadas. La efectividad de la vacunación en el embarazo para evitar tosferina en los 2-3 primeros meses de vida ha sido estimada en algunos estudios en ≈90% (442,443,444) incluyendo un reciente estudio de casos y controles efectuado en Valencia (445) y otro observacional en Bizkaia (446). Además, los hijos de madres vacunadas que sufrieron tosferina, padecieron una forma más leve, con menos riesgo de hospitalización y de ingreso en Cuidados Intensivos y estancias más cortas (447). No está claro aún el mejor momento de vacunación en el embarazo, aunque se ha sugerido el segundo o principio del tercer trimestre (276), habiendo actualmente diferencias en la fecha de recomendación de la vacuna en diferentes países (277). Se ha señalado la necesidad de que a la hora de decidir el tiempo de vacunación, se tenga en cuenta los niños prematuros, cuyas madres, en ocasiones no tienen tiempo para recibir la vacuna (274). La vacunación de la embarazada es segura para el neonato (448).

En el presente estudio la quinta parte de los hospitalizados necesitaron el apoyo de la UCIP, de los que el 85% fueron menores de 3 meses y el 96% menores de 4 meses. Varios estudios han

encontrado que corta edad (<2 o de 3 meses) es un factor de riesgo para ingreso en la UCIP (376,399,454). La estancia media en la Unidad de Hospitalización y en la UCIP de la serie de Gipuzkoa fue de 7,3 días y 10,7 días respectivamente, datos acordes a los obtenidos en otros estudios y que indican que la enfermedad tiene un fuerte impacto en los hospitalizados: 8 días de estancia media según la serie 1997-2011 a nivel estatal (433), 6 días en EEUU requiriendo un 13% ingreso en UCIP (449), 8 días en Unidad de Hospitalización en Australia y 6 días en UCIP, precisando el apoyo de esta última un 18% de los pacientes hospitalizados (450). En Canadá en una serie de 1999 a 2015 se constataron 8 días de estancia media en Unidad de Hospitalización y 5 días en UCIP (387). A lo largo del estudio solo cuatro pacientes (3% de los hospitalizados), todos ellos de dos o menos meses de edad, precisaron ventilación mecánica invasiva. En una serie de 140 pacientes ingresados en Australia, Elliott *et al.* (450) notificaron que el 10% la precisaron, siendo todos ellos menores de un año.

A lo largo del estudio, nueve adultos con tosferina fueron hospitalizados (considerando como tales a los mayores de 14 años), correspondiendo a un 6,9% del total de hospitalizados y a un 1,1% de los casos de tosferina diagnosticados en mayores de 14 años. Ocho de ellos eran mayores de 40 años de edad y la mayor parte (6/9) presentaban enfermedades de base (asma, amiloidosis, colitis ulcerosa, diabetes...). Estos datos son parecidos a los recogidos previamente por otros autores. En un estudio de casos y controles realizado en Australia en 2015 en adultos, Karki *et al.* (451) observaron que un 4% de los mayores de 45 años con tosferina precisaron ingreso; edad avanzada (>65 años), ser fumador o padecer una enfermedad respiratoria de base (asma), fueron factores de riesgo independientes para el ingreso. En otro estudio llevado a cabo en Canadá (378) un 6% de los mayores de 50 años con tosferina fueron hospitalizados, siendo en este caso también factores de riesgo ser asmático o fumador. Como ya se ha comentado previamente, varios estudios han relacionado el asma con mayor susceptibilidad a padecer tosferina (392,393), aunque en adultos no está claramente demostrada esta asociación dado que estos pacientes, al ser más conscientes de los síntomas respiratorios, también solicitan asistencia médica más frecuentemente que aquellos que no son asmáticos. Otro estudio realizado en EEUU entre 2010 y 2014 (452) y que analizó los ingresos por tosferina, observó que un 22% del total de los ingresados era mayor de 21 años, y que la patología respiratoria de base (asma o enfermedad pulmonar obstructiva crónica), eran factores de riesgo para ser hospitalizado. En la serie de Gipuzkoa, solo dos pacientes presentaron antecedente de asma o patología respiratoria crónica, siendo más frecuentes condiciones que se asocian a inmunodepresión como colitis ulcerosa, amiloidosis, diabetes o insuficiencia renal crónica en hemodiálisis.

A pesar de que, en términos generales, la enfermedad parece más prevalente entre mujeres, en relación al ingreso hospitalario no observamos diferencias estadísticamente significativas entre ambos sexos. Estos datos concuerdan con los publicados también a nivel estatal (433), aunque otros estudios epidemiológicos detectan un mayor número de hospitalizaciones en mujeres que en hombres, siendo estas diferencias, en cualquier caso, mínimas (347,368,450).

Las manifestaciones clínicas encontradas entre los pacientes ingresados fueron las propias de los lactantes menores de un año, dado el abrumador protagonismo de este grupo de edad entre los hospitalizados. Por ello probablemente se observa en la muestra de este estudio una proporción algo menor de tos que en la población total de pacientes con tosferina y un aumento en el número de los que presentaron apnea y cianosis. En la presente cohorte, un 25% de los pacientes ingresados presentaron apnea y un 13% cianosis, porcentajes cercanos e intermedios a los comunicados en otras series amplias. En Australia se ha referido una proporción mayor de ambos eventos [41% y 67% respectivamente (450)] mientras que en un estudio efectuado en EEUU analizando hospitalizaciones entre 1993-2004, la apnea fue la complicación principal entre los ingresados menores de un año con un 19% de los casos (347). Por otra parte, en Gipuzkoa, los pocos adultos que hospitalizaron lo hicieron por accesos de tos, síncope tusígeno y disnea.

Cuatro pacientes, todos menores de un año, recibieron un diagnóstico al alta de neumonía (3,9% de los pacientes hospitalizados menores de un año). Otras series han comunicado una proporción ligeramente superior de neumonía en pacientes hospitalizados: en USA se ha referido que un 9-12% de los menores de un año hospitalizados con tosferina presentaba signos sugestivos de neumonía (347,449); el mismo porcentaje (9%) ha sido observado en otro estudio en Canadá (453), habiéndose referido en Australia una cifra de 17% (450).

### **7.9 Impacto de la enfermedad en los distintos niveles asistenciales**

A lo largo del periodo estudiado y especialmente los últimos años del período de reemergencia de tosferina, los Centros de Salud han constituido el principal punto de diagnóstico de la enfermedad, sobre todo entre los pacientes mayores de un año. En la mayor parte de los casos se trató de patología leve-moderada, que requiere una sospecha diagnóstica con instauración de tratamiento precoz y medidas de aislamiento a fin de controlar los brotes en la población.

Durante los últimos cuatro años de estudio, se pudo constatar que un importante porcentaje de los casos de tosferina ( $\approx 30\%$ ), necesitaron consultas adicionales (considerando como tales

las adicionales a la consulta realizada al inicio del cuadro donde se procede a la toma de la muestra microbiológica y la posterior instauración del tratamiento con macrólidos). El grupo de edad que presentó mayor número de consultas una vez establecido el diagnóstico fue el de 5-13 años, sin encontrarse diferencias estadísticamente significativas respecto al estado vacunal de los pacientes. En la mayoría de las ocasiones el motivo de estas consultas adicionales fue la persistencia de la tos. La evolución de la enfermedad fue tórpida, por tanto, en un importante porcentaje de casos, necesitando asistencia más allá de la fase aguda. Estos datos permiten apreciar que, durante la fase de resurgencia, a pesar de que la clínica de la enfermedad es habitualmente leve, la tosferina supone una importante sobrecarga al Sistema de Salud, y una causa de consumo de recursos sanitarios, en concepto de consultas y medicación. Los médicos de Atención Primaria, tanto pediatras como médicos de familia, son la puerta de entrada de estos pacientes al Sistema Sanitario, siendo esencial que estén concienciados y familiarizados con la enfermedad para poder diagnosticarla y tratarla adecuadamente y lo antes posible.

#### **7.10 Limitaciones del estudio**

Este proyecto de investigación presenta varias limitaciones que se exponen a continuación. Brevemente, el diseño del estudio ha sido retrospectivo en un primer periodo (enero 1998 – diciembre 2013) y por tanto presenta los sesgos propios de este tipo de diseños. Al tratarse de un estudio descriptivo, no permite establecer una relación de causalidad entre los resultados observados, limitándose únicamente a describir el comportamiento de la enfermedad en la población y sus características clínico-epidemiológicas. Las muestras microbiológicas no se han extraído sistemáticamente a todos los pacientes, sino que han sido recogidas en múltiples centros sanitarios y según el criterio de cada observador, pudiéndose haber producido un sesgo muestral. Por otro lado, solo permite apreciar una parte del problema: no se tienen en cuenta los casos no diagnosticados bien por sospecha errónea, o por ser leves y no haber acudido al médico. Finalmente, entre los casos declarados en muchas ocasiones no se pudo disponer de toda la información clínica relevante.

## **8 CONCLUSIONES**

1.- En Gipuzkoa, tras la introducción de la vacuna frente a la tosferina en los años sesenta del siglo pasado, la incidencia de la enfermedad disminuyó drásticamente. Finalizado 1992, las grandes epidemias periódicas dejaron de producirse y la incidencia anual descendió a cifras muy bajas, en torno a 1-2 casos/100.000 hab. Tras casi dos décadas de “luna de miel”, la enfermedad reemergió en 2011-2012 en los tres Territorios de la CAPV, iniciándose un prolongado período epidémico que continuó al menos hasta 2017 (año de cierre de esta Tesis Doctoral). En Gipuzkoa, la incidencia de tosferina en este período alcanzó las registradas en los años 80 del siglo pasado, hace 30 años.

2.- En el período de reemergencia, entre 2011 y 2017, la incidencia media anual de tosferina fue más elevada en los menores de 1 año (729 casos/100.000 hab.) y disminuyó progresivamente en los siguientes grupos de edad. La incidencia fue también elevada en los niños de 1-5 y 6-13 años de edad (328 y 251 casos/100.000 hab., respectivamente). Aunque la incidencia en los menores de un año se multiplicó por doce durante la fase de reemergencia, el peso relativo de este grupo de edad disminuyó, debido a mayores incrementos en los restantes grupos de edad. Los menores de 1 año representaron el 28% de los casos declarados antes de la reemergencia, pero tan solo el 8% de los declarados durante ella. Por otra parte, por primera vez en la CAPV se declararon cientos de casos de tosferina en adultos, confirmando la circulación de la bacteria en todos los grupos de edad.

3.- Las características epidemiológicas de la tosferina durante la reemergencia (período 2011-2017), fueron similares a las referidas en descripciones clásicas de la enfermedad: amplia extensión geográfica, ya que la enfermedad se distribuyó por todo el Territorio de Gipuzkoa con incidencia similar en ámbito rural y urbano; ciclos epidémicos prolongados, multianuales; circulación ininterrumpida a lo largo del año, si bien más intensa en los meses cálidos; ligero predominio del sexo femenino, frecuente ocurrencia de brotes en ámbito escolar, al menos 108 entre 2011 y 2017 que comprendieron el 26% de todos los casos declarados; y frecuente detección de casos en ámbito familiar, presentando también el 26% de los casos confirmados, alguna relación de parentesco con otro caso también confirmado, siendo la relación más frecuente hermano o hermana, en la mitad de estos casos, seguido de madre y padre, por este orden.

4.- La mayor parte de los casos de tosferina correspondieron a sujetos vacunados. Entre los menores de 15 años, el porcentaje de vacunados fue del 73% en el período 1999-2010,

umentando hasta el 89% en el período de reemergencia y 91% en el último trienio del estudio. Todos los niños de este último trienio que habían sido vacunados habían sido total o parcialmente vacunados con vacuna acelular.

5.- Durante la fase de reemergencia, la enfermedad fue benigna y poco específica, requiriendo alto nivel de sospecha. Tos en accesos fue la principal manifestación clínica en todos los grupos de edad (85%), seguida por disnea o dificultad respiratoria (5%). Manifestaciones como apnea o cianosis fueron menos frecuentes y observadas casi exclusivamente en menores de 1 año. Sólo un 11% de las radiografías de tórax presentaron hallazgos anormales (principalmente condensación alveolar y atelectasias), correspondiendo también en su mayor parte a menores de un año de edad.

6.- Los macrólidos fueron los antibióticos empleados casi exclusivamente en el tratamiento de la tosferina a lo largo del estudio. Durante el mismo, la eritromicina fue sustituida por azitromicina como macrólido de uso habitual. En cerca de 1/3 de los casos se emplearon tratamientos sintomáticos (antitusígenos, broncodilatadores y corticoides) antes del diagnóstico de tosferina, lo que pone de relieve la frecuente falta de sospecha etiológica y el consiguiente retraso diagnóstico.

7.- Todos los años del estudio (1998-2017) fueron hospitalizados pacientes a causa de tosferina, representando el 4,4% del total de casos declarados e indicando circulación sostenida de mayor o menor nivel. Durante la resurgencia, y a pesar de la benignidad global de la enfermedad, la incidencia de hospitalización aumentó, cuadruplicándose en relación a la registrada en la primera década del siglo. La mayor parte de los pacientes hospitalizados fueron menores de 1 año de edad (79,4%) siendo la incidencia media anual de hospitalización en esa edad durante la resurgencia (2011-2017) de 141 casos/100000 hab. El 90,4% de éstos fueron lactantes en sus cuatro primeros meses de vida, aún sin tiempo para haber recibido al menos dos dosis de vacuna.

8.- En los menores de un año de edad, en el último bienio del estudio (2016-2017), se observaron importantes descensos en la proporción de casos de tosferina, tanto en casos totales como hospitalizados, respecto a la primera parte del período de reemergencia (2011-2015). Un fenómeno similar pero aún más llamativo se observó en los menores de cuatro meses de edad. Estos datos sugieren que la vacunación de la embarazada, iniciada en la CAPV en 2015 está consiguiendo su principal objetivo que es proteger al lactante de la tosferina en sus primeros meses de vida.

9.- El impacto de la enfermedad en los hospitalizados fue importante. La estancia media fue de casi diez días y el 21% necesitaron el apoyo de la Unidad de Cuidados Intensivos pediátricos, todos excepto uno menores de 4 meses. Entre los menores de 1 año, el 41% precisó oxigenoterapia y cuatro niños ventilación mecánica invasiva. Llama la atención la hospitalización de nueve adultos durante el período de reemergencia, por accesos de tos paroxística, seis de ellos con condiciones de salud predisponentes. La letalidad fue muy baja, falleciendo solo una niña de poco más de un mes de vida, nacida prematura, entre los más de 3000 casos declarados.

10.- Aunque la mayor parte de los casos de tosferina fueron benignos, la enfermedad evolucionó en muchos de manera tórpida, solicitando un 31% de los casos consultas reiteradas y en un 28% en dos o más ocasiones.

11.- La detección de *Bordetella pertussis* en pacientes con poca expresión clínica, o incluso asintomáticos en el transcurso de estudios de contactos familiares, muchos de ellos adultos (padres, tíos, abuelos), sugiere que la bacteria circula de modo inadvertido en la población adulta, siendo necesario un alto índice de sospecha para su detección.

12.- Por último, la reemergencia epidémica de la tosferina en Gipuzkoa y la CAPV en el período 2011-2017, con incidencia elevada en niños de 1-5 y 6-13 años de edad, cohortes que presentan una cobertura vacunal >95% mayoritariamente con vacunas acelulares, sugiere que el programa actual de vacunación no bloquea la transmisión de *Bordetella pertussis* y no crea por tanto inmunidad de masa, permitiendo la infección natural de una parte importante de la población. No obstante, el curso mayoritariamente benigno de la enfermedad con proporcionalmente poca hospitalización y mortalidad, indica que los efectos de las vacunas acelulares son, a pesar de lo anterior, importantes. En términos de gravedad, el principal impacto de la tosferina en la era de la reemergencia se concentra en los menores de 4 meses de edad que por su edad aún no han recibido dos dosis de vacuna, lo que refuerza la importancia de alcanzar una cobertura elevada con la vacuna dTpa en la embarazada.

## **9 ANEXOS**

**ANEXO 1.** Casos de tosferina declarados a Epidemiología e incidencia global y anual por grupos de edad en Gipuzkoa (1999-2010)

	< 1año	1-5 años	6-13 años	14-34 años	≥35 años	Total
<b>1999</b>	15	30	31	5	0	81
<b>2000</b>	3	6	5	1	0	15
<b>2001</b>	4	1	1	1	1	8
<b>2002</b>	4	3	3	1	0	11
<b>2003</b>	4	0	2	0	0	6
<b>2004</b>	5	3	3	0	0	11
<b>2005</b>	1	0	0	0	0	1
<b>2006</b>	4	3	2	2	4	15
<b>2007</b>	3	1	5	0	0	9
<b>2008</b>	7	4	3	4	3	21
<b>2009</b>	2	3	3	2	0	10
<b>2010</b>	2	0	0	0	0	2
<b>Total</b>	54	54	58	16	8	190
<b>Censo*</b>	7106	33619	74679	152720	427745	695869
<b>Incidencia global</b>	759,9	160,6	77,7	10,5	1,87	27,3
<b>Incidencia anual</b>	63,2	13,4	6,5	0,9	0,2	2,3

\*Censo de Gipuzkoa año 2006.

**ANEXO 2.** Casos de tosferina declarados a Epidemiología e incidencia global y anual por grupos de edad en Gipuzkoa (2011-2017)

	< 1año	1-5 años	6-13 años	14-34 años	≥35 años	Total
<b>2011</b>	27	38	23	32	14	134
<b>2012</b>	52	68	34	48	23	225
<b>2013</b>	24	39	65	7	42	177

<b>2014</b>	48	104	143	19	85	399
<b>2015</b>	43	240	316	50	197	846
<b>2016</b>	9	87	124	11	60	291
<b>2017</b>	20	218	310	29	162	739
<b>Total</b>	223	794	1015	196	583	2811
<b>Censo*</b>	4370	34540	57783	135802	472493	704988
<b>Incidencia global</b>	5103,0	2298,8	1756,6	144,3	123,4	398,7
<b>Incidencia anual</b>	729,0	328,4	250,9	20,6	17,6	57,0

\*Censo de Gipuzkoa 2016

**ANEXO 3.** Distribución del número de casos de tosferina (estudio de casos confirmados) por grupo de edad y año (1999-2016)

	<1 año	1-4 años	5-13 años	14-34 años	≥35 años
<b>1999</b>	13	17	9	0	2
<b>2000</b>	2	2	0	0	0
<b>2001</b>	4	1	2	0	0
<b>2002</b>	6	1	1	0	0
<b>2003</b>	5	2	1	2	0
<b>2004</b>	7	5	3	0	0
<b>2005</b>	1	1	0	0	1
<b>2006</b>	3	3	1	0	4
<b>2007</b>	2	0	2	0	0
<b>2008</b>	7	2	3	2	2
<b>2009</b>	2	2	0	0	0
<b>2010</b>	0	1	0	0	0
<b>2011</b>	23	22	9	1	0
<b>2012</b>	32	63	35	8	45
<b>2013</b>	19	39	48	4	33
<b>2014</b>	28	90	126	4	36

<b>2015</b>	39	207	310	25	55
<b>2016</b>	7	64	109	1	0
<b>Total</b>	200	523	660	47	178

**ANEXO 4.** Incidencia media anual de casos confirmados por Área Sanitaria (OSI) para el período 2011-2016

	<b>Donostialdea</b>	<b>Bidasoa</b>	<b>Goierri</b>	<b>Bajo Deba</b>	<b>Tolosaldea</b>
<b>Nº confirmados</b>	981	218	118	75	67
<b>Población</b>	324.511	76.765	67.537	55.307	48.454
<b>Incidencia anual</b>	50,38	47,33	29,12	22,6	23,05

\*Censo de Gipuzkoa 2016

**ANEXO 5.** Centros de Salud con mayor número de casos de tosferina confirmados a lo largo del estudio.

Se detectó circulación de *B. pertussis* en 83 Centros de Salud (CS) distribuidos por todo Gipuzkoa, lo que muestra la amplitud de la reemergencia de la tosferina en Gipuzkoa. En la siguiente tabla (tabla 38) se muestran los 10 CS que detectaron mayor número de casos durante todo el estudio, todos ellos núcleos con un número de población importante, siendo el CS de Zarautz con 119 casos el que mayor número de casos registró (7,4%). El segundo en frecuencia fue el CS de Ondarreta (dentro del núcleo urbano de Donostia/San Sebastián), con 6,7%, seguido del CS Amara Berri (5,8%), también en el municipio de Donostia/San Sebastián. El tercer núcleo poblacional después de Zarautz y Donostia (barrios de Ondarreta y Amara Berri), fue Irún, donde el CS de Irún Centro detectó el 5,2%, seguido de Hernani y Rentería (CS Rentería Beraun), ambos con igual número de casos (4,9%). Si tenemos en cuenta los datos de incidencia, el CS de Ondarreta es el que registra la mayor incidencia (126,5 casos/100.000 habitantes/año).

	<b>Nº casos</b>	<b>Porcentaje</b>	<b>Población</b>	<b>Incidencia anual</b>
<b>ZARAUTZ</b>	119	7,4	23..040	86,08

<b>ONDARRETA</b>	108	6,7	14.227	126,51
<b>AMARA BERRI</b>	93	5,8	29.143	53,19
<b>IRUN CENTRO</b>	83	5,2	45.011	30,73
<b>HERNANI</b>	79	4,9	19.774	66,59
<b>RENERIA BERAUN</b>	79	4,9	20.012	65,79
<b>HONDARRIBIA</b>	71	4,4	17.147	69,01
<b>LASARTE ORIA</b>	59	3,7	18.544	53,03
<b>ZUMAIA</b>	57	3,5	9.746	97,48
<b>RENERIA IZTIETA</b>	52	3,2	20.003	43,33

\*Censo de Gipuzkoa 2016.

**ANEXO 6.** Casos de tosferina declarados por grupos de edad entre 2011 y 2017 y porcentaje de sujetos vacunados.

Al analizar los datos de vacunación de Epidemiología, tanto de los casos microbiológicamente confirmados como los sospechosos, se objetivó cómo los pacientes entre 1 y 14 años son los que presentan porcentajes superiores al 90%.

	<b>&lt;1 año</b>	<b>1-5 años</b>	<b>6-14 años</b>	<b>15-34 años</b>	<b>≥35 años</b>
	<b>Nº vac (%)</b>				
<b>2011</b>	27 19 (70)	38 36 (95)	23 15 (65)	24 17 (71)	13 0 (0)
<b>2012</b>	52 32 (62)	68 51 (75)	34 32 (94)	48 29 (60)	23 0 (0)
<b>2013</b>	24 18 (75)	38 36 (95)	65 56 (86)	7 5 (71)	32 1 (2)
<b>2014</b>	48 31 (65)	104 95 (91)	143 134 (94)	19 13 (68)	85 4 (5)
<b>2015</b>	43 28 (65)	240 220 (95)	316 263 (84)	50 36 (72)	198 7 (4)
<b>2016</b>	9 8 (89)	87 81 (93)	124 122 (98)	11 8 (73)	60 6 (10)
<b>2017</b>	20 18 (90)	218 208 (95)	310 298 (96)	29 22 (76)	162 0 (0)
<b>Total</b>	223 154 (69)	793 727 (92)	1015 920 (91)	188 130 (69)	573 18 (3)
<b>Total edad</b>	8,0%	28,5%	36,6%	6,7%	20,5%

**N=2792**

Nota: no vacunados o no consta vacunación.

\*Datos obtenidos de las Memorias anuales del Departamento de Epidemiología de la Dirección Territorial de Gipuzkoa

#### ANEXO 7. Tipo de macrólido utilizado según el grupo de edad.

	Azitromicina	Claritromicina	Eritromicina	Desconocido	Total
< 1 año	123 (71,9%)	8 (4,7%)	39 (22,8%)	1 (0,6%)	171
1-4 años	390 (95,4%)	10 (2,4%)	8 (2,0%)	1 (0,2%)	409
5-13 años	516 (98,1%)	5 (1,0%)	5 (1%)	0	526
14-34 años	31 (93,9%)	1 (3,0%)	1 (3,0%)	0	33
≥35 años	126 (96,2%)	3 (2,3%)	2 (1,5%)	0	131
<b>Total</b>	<b>1186 (93,4%)</b>	<b>27 (2,1%)</b>	<b>54 (4,5%)</b>	<b>2 (0,2%)</b>	<b>1270</b>

#### ANEXO 8. Valor medio del recuento absoluto de leucocitos y linfocitos en función de la duración de la tos en accesos.

Duración de los síntomas	Nº casos	Leucocitos	Linfocitos
		Media ± desviación estándar	Media ± desviación estándar
<1 semana	38	16.959 ± 9.072	10.749 ± 6.610
1-2 semanas	51	16.507 ± 6.599	9.935 ± 5.552
2-3 semanas	13	15.419 ± 7.102	9.608 ± 7.504
3-4 semanas	12	11.746 ± 6.808	5.956 ± 5.699
>1 mes	5	8.735 ± 3.314	4.304 ± 3.322
<b>Total</b>	<b>119</b>	<b>15.636 ± 7.657</b>	<b>9.461 ± 6.273</b>

\*leucocitos o linfocitos/ $\mu$ L.

## **10 BIBLIOGRAFÍA**

1. Centers for Disease Control and Prevention. Pertussis. En: Hamborsky J, Kroger A, Wolfe S, editores. *Epidemiology and Prevention of Vaccine-Preventable Diseases The Pink Book: Course Textbook*. 13th ed. Washington D.C: Public Health Foundation; 2015. p. 261-78.
2. Centers for Disease Control and Prevention. Pertussis. Surveillance Trend Reporting and Case Definition [Internet]. 2017 [citado 19 de noviembre de 2017]. Disponible en: <https://www.cdc.gov/pertussis/surv-reporting.html>
3. Moreno-Pérez D, Baquero Artigao F, Rodrigo Gonzalo de Liria C, Cilleruelo Ortega M. Tos ferina. En: Asociación Española de Pediatría. Sociedad Española de Infectología Pediátrica., editor. *Protocolos de infectología* [Internet]. Madrid: Ergon; 2011. p. 95-102. Disponible en: <http://www.aeped.es/sites/default/files/documentos/tosferina.pdf>
4. World Health Organization. Global and Regional Immunization Profile [Internet]. 2018 [citado 15 de febrero de 2020]. Disponible en: [http://www.who.int/immunization/monitoring\\_surveillance/data/g\\_s\\_gloprofile.pdf?ua=1](http://www.who.int/immunization/monitoring_surveillance/data/g_s_gloprofile.pdf?ua=1)
5. World Health Organization. Pertussis vaccines: WHO position paper, August 2015-Recommendations. *Vaccine* [Internet]. 2016;34(12):1423-5. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.vaccine.2015.10.136>
6. Campins M, Moreno-Pérez D, Gil-De Miguel A, González-Romo F, Moraga-Llop FA, Arístegui-Fernandez J, et al. Tos ferina en España. Situación epidemiológica y estrategias de prevención y control. Recomendaciones del Grupo de Trabajo de Tos ferina. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2013;31(4):240-53.
7. Cone TC. Whooping cough is first described as a disease sui generis by Baillou in 1640. *Pediatrics*. 1970;46(4):522.
8. Mortimer EA J. Pertussis Vaccine. En: Plotkin SA, Mortimer EA J, editor. *Vaccines*. 2nd ed. Philadelphia: WB Saunders Company; 1994. p. 91-136.
9. Sydenham T. M.D. *Opera universa*. Early edit. Sydenham T, editor. London: J. Heptinstall; 1705.

10. Bordet J, Gengou O. Le microbe de la coqueluche. *Ann Inst Pasteur (Paris)*. 1906;2:731-41.
11. Aslanabadi A, Ghabili K, Shad K, Khalili M, Sajadi MM. Emergence of whooping cough: Notes from three early epidemics in Persia. *Lancet Infect Dis* [Internet]. 2015;15(12):1480-4. Disponible en: [http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099\(15\)00292-3](http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099(15)00292-3)
12. Bart MJ, Harris SR, Advani A, Arakawa Y, Bottero D, Bouchez V, et al. Global population structure and evolution of *Bordetella pertussis* and their relationship with vaccination. *MBio* [Internet]. 2014 [citado 4 de diciembre de 2018];5(2). Disponible en: <http://mbio.asm.org/>
13. Cliff A, Smallman-Raynor M. *Oxford Textbook of Infectious Disease Control. A Geographical Analysis from Medieval Quarantine to Global Eradication*. First Edit. Oxford: Oxford University Press; 2013. 121-123 p.
14. Madsen T. Whooping cough: its bacteriology, diagnosis, prevention and treatment. *Bost Med Surg J*. 1925;192:50-60.
15. Madsen T. Vaccination Against Whooping Cough. *J Am Med Assoc*. 15 de julio de 1933;101(3):187-8.
16. Sauer L. The known and unknown of bacillus pertussis vaccine. *Am J Public Heal Nations Heal*. 1935;25(11):1226-30.
17. Shapiro-Shapin CG. Pearl Kendrick, Grace Eldering, and the pertussis vaccine. *Emerg Infect Dis* [Internet]. agosto de 2010 [citado 12 de junio de 2018];16(8):1273-8. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20678322>
18. Kendrick PL. Use of alum-treated pertussis vaccine and of alum-precipitated combined pertussis vaccine and diphtheria toxoid for active immunization. *Am J Public Heal Nations Heal* [Internet]. 1940 [citado 30 de julio de 2017];32(6):615–626. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1526873/pdf/amjphnation00708-0047.pdf>
19. Kendrick PL, Eldering G. Progress report on pertussis immunization. *Am J Public Health*. 1936;26(1):8-12.

20. British Medical Journal. Pertussis vaccine. Br Med J [Internet]. 1981 [citado 30 de julio de 2017];282:1563-4. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1505579/pdf/bmjcred00658-0005.pdf>
21. Department of Health and Social Security. Whooping cough: Reports from the Committee on Safety of Medicines and the Joint Committee on Vaccination and Immunisation [Internet]. London : Her Majesty's Stationery Office; 1981 [citado 30 de julio de 2017]. 184 p. Disponible en: <https://searchworks.stanford.edu/view/10819898>
22. Madge N, Diamond J, Miller D, Ross E, McManus C, Wadsworth J, et al. The National Childhood Encephalopathy study: a 10-year follow-up. A report on the medical, social, behavioural and educational outcomes after serious, acute, neurological illness in early childhood. Dev Med Child Neurol - Suppl [Internet]. julio de 1993 [citado 30 de julio de 2017];68:1-118. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8319837>
23. Miller DL, Alderslade R, Ross EM. Whooping cough and whooping cough vaccine: the risks and benefits debate. Epidemiol Rev [Internet]. 1982 [citado 30 de julio de 2017];4:1-24. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6128242>
24. Stetler HC, Mullen JR, Brennan JP, Orenstein WA, Bart KJ, Hinman AR. Adverse events following immunization with DTP vaccine. Dev Biol Stand [Internet]. 1985 [citado 30 de julio de 2017];61:411-21. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3879686>
25. Butler NR, Golding J, Haslum M, Stewart-Brown S. Recent findings from the 1970 child health and education study: preliminary communication. J R Soc Med. 1982;75(10):781-4.
26. World Health Organization. Pertussis [Internet]. World Health Organization; 2019 [citado 16 de febrero de 2020]. Disponible en: [http://www.who.int/immunization/monitoring\\_surveillance/burden/vpd/surveillance\\_type/passive/pertussis/en/](http://www.who.int/immunization/monitoring_surveillance/burden/vpd/surveillance_type/passive/pertussis/en/)
27. World Health Organization. Study on global Ageing and adult health (SAGE) Pertussis Working Group [Internet]. Background paper. Geneva; 2014 [citado 18 de abril de 2018]. Disponible en: [http://www.who.int/immunization/sage/meetings/2014/april/1\\_Pertussis\\_background](http://www.who.int/immunization/sage/meetings/2014/april/1_Pertussis_background)

\_FINAL4\_web.pdf?ua=

28. Centers for Disease Control and Prevention. National Notifiable Diseases Surveillance System, 2018 Annual Tables of Infectious Disease Data. CDC Division of Health Informatics and Surveillance. Atlanta, GA; 2019.
29. National Institute of Infectious Diseases (NIID). Pertussis in Japan, as of January 2017. *Infect Agents Surveill Rep* [Internet]. 2017;38(2):23-4. Disponible en: <https://www.niid.go.jp/niid/en/component/content/article/865-iasr/7093-444te.html>
30. National Institute of Infectious Diseases (NIID). Pertussis in Japan. *Infect agents Surveill Rep* [Internet]. 2019 [citado 21 de enero de 2020];40(1):467. Disponible en: <https://www.niid.go.jp/niid/en/865-iasr/8576-467te.html>
31. European Centre for Disease Prevention and Control. Pertussis. En: ECDC, editor. Annual epidemiological report for 2017. Stockholm: ECDC; 2019.
32. Santé Publique France. Données de couverture vaccinale [Internet]. [citado 21 de enero de 2020]. Disponible en: <https://www.santepubliquefrance.fr/determinants-de-sante/vaccination/articles/donnees-de-couverture-vaccinale-diphtherie-tetanos-poliomyelite-coqueluche-par-groupe-d-age>
33. Rybak A, Vié le Sage F, Béchet S, Werner A, Thiebault G, Bakhache P, et al. Timeliness of routine immunization in non-preterm children less than 2 years old using electronic data capture in an ambulatory setting in France in the context of vaccine hesitancy. *Arch Pediatr*. 1 de febrero de 2019;26(2):56-64.
34. Whooping cough | Institut Pasteur [Internet]. [citado 21 de enero de 2020]. Disponible en: <https://www.pasteur.fr/en/medical-center/disease-sheets/whooping-cough>
35. Tubiana S, Belchior E, Guillot S, Guiso N, Lévy-Bruhl D, Renacoq Participants. Monitoring the Impact of Vaccination on Pertussis in Infants Using an Active Hospital-based Pediatric Surveillance Network: Results from 17 Years' Experience, 1996-2012, France. *Pediatr Infect Dis J* [Internet]. 2015;34(8):814-20. Disponible en: <http://content.wkhealth.com/linkback/openurl?sid=WKPTLP:landingpage&an=00006454-201508000-00003>
36. Amirthalingam G, Brown CS, Campbell H, Chand MA, Fry NK. New Public Health England

- guidelines for managing pertussis in England. *J Infect.* 2017;74(2):202-4.
37. Public Health England. Laboratory confirmed cases of pertussis (England): annual report for 2018. *Heal Prot Rep.* 2018;13(14).
38. Centro Nacional de Epidemiología. CIBER Epidemiología y Salud Pública (CIBERESP). Instituto de Salud Carlos III. Estudio seroepidemiológico: situación de las enfermedades vacunables en España [Internet]. Primera ed. Centro Nacional de Epidemiología. Instituto de Salud Carlos III., editor. Madrid; 2000 [citado 6 de agosto de 2017]. Disponible en: <http://www.isciii.es/ISCIII/es/contenidos/fd-servicios-cientifico-tecnicos/fd-vigilancias-alertas/fd-enfermedades/SEROEPIDEMIOLOGICO.pdf>
39. Ministerio de Sanidad Servicios Sociales e Igualdad. Evolución de la vacunación en España 1999-2014 [Internet]. Coberturas de Vacunación. Datos estadísticos. 2015. Disponible en: <https://www.mscbs.gob.es/profesionales/saludPublica/prevPromocion/vacunaciones/coberturas.htm>
40. Centro Nacional de Epidemiología. CIBER Epidemiología y Salud Pública (CIBERESP). Instituto de Salud Carlos III. Resultados de la vigilancia epidemiológica de las enfermedades transmisibles. Informe anual 2016 [Internet]. Madrid; 2018 [citado 21 de enero de 2020]. Disponible en: [https://www.isciii.es/QueHacemos/Servicios/VigilanciaSaludPublicaRENAVE/EnfermedadesTransmisibles/Documents/INFORMES/INFORMES\\_RENAVE/RENAVE\\_INFORME\\_ANUAL\\_2016.pdf](https://www.isciii.es/QueHacemos/Servicios/VigilanciaSaludPublicaRENAVE/EnfermedadesTransmisibles/Documents/INFORMES/INFORMES_RENAVE/RENAVE_INFORME_ANUAL_2016.pdf)
41. Centro Nacional de Epidemiología. CIBER Epidemiología y Salud Pública (CIBERESP). Instituto de Salud Carlos III. Situación de la Tos Ferina en España 2005-2016 [Internet]. 2016 [citado 19 de abril de 2018]. Disponible en: [http://www.isciii.es/ISCIII/es/contenidos/fd-servicios-cientifico-tecnicos/fd-vigilancias-alertas/fd-enfermedades/pdf\\_2016/INFORME\\_Tos\\_ferina\\_Espana\\_2005-2016.pdf](http://www.isciii.es/ISCIII/es/contenidos/fd-servicios-cientifico-tecnicos/fd-vigilancias-alertas/fd-enfermedades/pdf_2016/INFORME_Tos_ferina_Espana_2005-2016.pdf)
42. Gerlach G, von Wintzingerode F, Middendorf B, Gross R. Evolutionary trends in the genus *Bordetella*. *Microbes Infect.* 2001;3:61-73.
43. Kim S, Goodfellow M. *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*. Whitman WB, Rainey F, Kämpfer P, Trujillo M, Chun J et al., editor. Hoboken, NJ: John

- Wiley & Sons, Inc; 2018.
44. Hamidou Soumana I, Linz B, Harvill ET. Environmental origin of the genus *Bordetella*. *Front Microbiol* [Internet]. 24 de enero de 2017 [citado 10 de agosto de 2017];8(JAN):28. Disponible en: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2017.00028/full>
  45. Mattoo S, Cherry J. Molecular pathogenesis, epidemiology, and clinical manifestations of respiratory infections due to *Bordetella pertussis* and other *Bordetella* subspecies. *Clin Microbiol Rev*. 2005;18(2):326-82.
  46. Shepard CW, Daneshvar MI, Kaiser RM, Ashford DA, Lonsway D, Patel JB, et al. *Bordetella holmesii* bacteremia: a newly recognized clinical entity among asplenic patients. *Clin Infect Dis*. 2004;38(6):799-804.
  47. van Der Zee A, Groenendijk H, Peeters M, Mooi FR. The differentiation of *Bordetella parapertussis* and *Bordetella bronchiseptica* from humans and animals as determined by DNA polymorphism mediated by two different insertion sequence elements suggests their phylogenetic relationship. *Int J Syst Bacteriol*. 1996;46:640-7.
  48. van der Zee A, Mooi FR, Van Embden J, Musser J. Molecular evolution and host adaptation of *Bordetella* spp.: Phylogenetic analysis using multilocus enzyme electrophoresis and typing with three insertion sequences. *J Bacteriol* [Internet]. 1997 [citado 9 de agosto de 2017];179(21):6609-17. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC179586/pdf/1796609.pdf>
  49. Aricò B, Gross R, Smida J, Rappuoli R. Evolutionary relationships in the genus *Bordetella*. *Mol Microbiol* [Internet]. 1 de julio de 1987 [citado 9 de agosto de 2017];1(3):301-8. Disponible en: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2958.1987.tb01936.x>
  50. Eldering G, Kendrick PL. *Bacillus para-pertussis*: a species resembling both *Bacillus pertussis* and *Bacillus bronchisepticus* but identical with neither. *J Bacteriol* [Internet]. 1937 [citado 6 de agosto de 2017];35:561-72. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC545327/pdf/jbacter00766-0001.pdf>
  51. Koepke R, Bartholomew ML, Eickhoff JC, Ayele RA, Rodd D, Kuennen J, et al. Widespread *bordetella parapertussis* infections - Wisconsin, 2011-2012: Clinical and

- epidemiologic features and antibiotic use for treatment and prevention. *Clin Infect Dis* [Internet]. 2015 [citado 12 de junio de 2018];61(9):1421-31. Disponible en: [https://watermark.silverchair.com/civ514.pdf?token=AQECAHi208BE49Ooan9kKhW\\_Er cy7Dm3ZL\\_9Cf3qfKAc485ysgAAAZ0wggGZBgkqhkiG9w0BBwagggGKMII BhgIBADCCAX8 GCSqGS1b3DQEHATAeBgIghkgBZQMEAS4wEQQMUI67CbJVWJBcadUwAgEQgIIBUDU2C R3-Zmz97gEZBFVA2t1Z7-wgQDqm\\_Ecl511dLrGYfVKY](https://watermark.silverchair.com/civ514.pdf?token=AQECAHi208BE49Ooan9kKhW_Er cy7Dm3ZL_9Cf3qfKAc485ysgAAAZ0wggGZBgkqhkiG9w0BBwagggGKMII BhgIBADCCAX8 GCSqGS1b3DQEHATAeBgIghkgBZQMEAS4wEQQMUI67CbJVWJBcadUwAgEQgIIBUDU2C R3-Zmz97gEZBFVA2t1Z7-wgQDqm_Ecl511dLrGYfVKY)
52. Spicer KB, Salamon D, Cummins C, Leber A, Rodgers LE, Marcon MJ. Occurrence of 3 bordetella species during an outbreak of cough illness in Ohio: epidemiology, clinical features, laboratory findings and antimicrobial susceptibility. *Pediatr Infect Dis J* [Internet]. julio de 2014 [citado 12 de junio de 2018];33(7):e162-7. Disponible en: <https://insights.ovid.com/crossref?an=00006454-201407000-00008>
53. Cherry JD, Seaton BL. Patterns of Bordetella parapertussis respiratory illnesses: 2008-2010. *Clin Infect Dis* [Internet]. 15 de febrero de 2012 [citado 12 de junio de 2018];54(4):534-7. Disponible en: <https://academic.oup.com/cid/article-lookup/doi/10.1093/cid/cir860>
54. García-de-la-Fuente C, Guzmán L, Cano ME, Agüero J, Sanjuán C, Rodríguez C, et al. Microbiological and clinical aspects of respiratory infections associated with Bordetella bronchiseptica. *Diagn Microbiol Infect Dis* [Internet]. 1 de mayo de 2015 [citado 12 de junio de 2018];82(1):20-5. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25703895>
55. Ferry NS. Etiology of Canine Distemper. *J Infect Dis* [Internet]. 15 de junio de 1911 [citado 13 de junio de 2018];8(4):399-420. Disponible en: <https://academic.oup.com/jid/article-lookup/doi/10.1093/infdis/8.4.399>
56. Ferry NS. Bacillus Bronchisepticus (Bronchicanis): The Cause of Distemper in Dogs and a Similar Disease in other Animals. *Vet J* [Internet]. 1 de julio de 1912 [citado 13 de junio de 2018];68(7):376-91. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0372554517660383>
57. Berkowitz DM, Bechara RI, Wolfenden LL. An unusual cause of cough and dyspnea in an immunocompromised patient. *Chest* [Internet]. 1 de mayo de 2007 [citado 13 de junio de 2018];131(5):1599-602. Disponible en: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0012369215316391>

58. Spilker T, Liwiński AA, LiPuma JJ. Identification of *Bordetella* spp. in respiratory specimens from individuals with cystic fibrosis. *Clin Microbiol Infect* [Internet]. 1 de mayo de 2008 [citado 13 de junio de 2018];14(5):504-6. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18325036>
59. de la Torre MJ, de la Fuente CG, de Alegría CR, del Molino CP, Agüero J, Martínez-Martínez L. Recurrent Respiratory Infection Caused by *Bordetella Bronchiseptica* in an Immunocompetent Infant. *Pediatr Infect Dis J* [Internet]. septiembre de 2012 [citado 13 de junio de 2018];31(9):981-3. Disponible en: <http://content.wkhealth.com/linkback/openurl?sid=WKPTLP:landingpage&an=00006454-201209000-00030>
60. Weyant RS, Hollis DG, Weaver RE, Amin MFM, Steigerwalt AG, O'Connor SP, et al. *Bordetella holmesii* sp. nov., a new gram-negative species associated with septicemia. *J Clin Microbiol* [Internet]. enero de 1995 [citado 8 de agosto de 2017];33(1):1-7. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7699023>
61. Pittet LF, Emonet S, Schrenzel J, Siegrist CA, Posfay-Barbe KM. *Bordetella holmesii*: an under-recognised *Bordetella* species. *Lancet Infect Dis* [Internet]. 1 de junio de 2014 [citado 13 de junio de 2018];14(6):510-9. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24721229>
62. Mir-Cros A, Codina G, Martín-Gómez MT, Fàbrega A, Martínez X, Jané M, et al. Emergence of *Bordetella holmesii* as a causative agent of whooping cough, Barcelona, Spain. *Emerg Infect Dis* [Internet]. noviembre de 2017 [citado 13 de junio de 2018];23(11):1856-9. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29052540>
63. Rodgers L, Martin SW, Cohn A, Budd J, Marcon M, Terranella A, et al. Epidemiologic and laboratory features of a large outbreak of pertussis-like illnesses associated with cocirculating *Bordetella holmesii* and *Bordetella pertussis* - Ohio, 2010-2011. *Clin Infect Dis* [Internet]. 1 de febrero de 2013 [citado 13 de junio de 2018];56(3):322-31. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23087388>
64. Yih WK, Silva EA, Ida J, Harrington N, Lett SM, George H. *Bordetella holmesii*-like organisms isolated from Massachusetts patients with pertussis-like symptoms. *Emerg Infect Dis* [Internet]. 1999 [citado 13 de junio de 2018];5(3):441-3. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10341183>

65. Tartof SY, Gounder P, Weiss D, Lee L, Cassidy PK, Clark TA, et al. *Bordetella holmesii* bacteremia cases in the United States, april 2010-january 2011. *Clin Infect Dis* [Internet]. enero de 2014 [citado 13 de junio de 2018];58(2):e39-43. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24092805>
66. Soloaga R, Carrion N, Barberis C, Pidone J, Guelfand L, Vay C. Endocarditis por *Bordetella holmesii* en un paciente asplénico. *Rev Argent Microbiol* [Internet]. 1 de enero de 2013 [citado 13 de junio de 2018];45(2):86-8. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S032575411370004X>
67. Livovsky DM, Leibowitz D, Hidalgo-Grass C, Temper V, Salameh S, Korem M. *Bordetella holmesii* meningitis in an asplenic patient with systemic lupus erythematosus. *J Med Microbiol* [Internet]. 2012 [citado 13 de junio de 2018];61(8):1165-7. Disponible en: [http://www.microbiologyresearch.org/docserver/fulltext/jmm/61/8/1165\\_jmm038208.pdf?expires=1528885963&id=id&accname=guest&checksum=7FD659685705896F61F84AA70DA4BDDA](http://www.microbiologyresearch.org/docserver/fulltext/jmm/61/8/1165_jmm038208.pdf?expires=1528885963&id=id&accname=guest&checksum=7FD659685705896F61F84AA70DA4BDDA)
68. Vandamme P, Hommez J, Vancanneyt M, Monsieurs M, Hoste B, Cookson B, et al. *Bordetella hinzii* sp. nov., isolated from poultry and humans. *Int J Syst Bacteriol* [Internet]. 1995 [citado 8 de agosto de 2017];45(1):37-45. Disponible en: <http://www.microbiologyresearch.org/docserver/fulltext/ijsem/45/1/ij5-45-1-37.pdf?expires=1502223060&id=id&accname=guest&checksum=B5ED0BD809D24CC0A0607C2F8718D496>
69. Cookson BT, Vandamme P, Carlson LC, Larson AM, Sheffield JVL, Kersters K, et al. Bacteremia caused by a novel *Bordetella* species, «*B. hinzii*». *J Clin Microbiol*. 1994;32(10):2569-71.
70. Fabre A, Dupin C, Bénézit F, Goret J, Piau C, Jouneau S, et al. Opportunistic pulmonary *Bordetella hinzii* infection after avian exposure. *Emerg Infect Dis* [Internet]. diciembre de 2015 [citado 13 de junio de 2018];21(12):2122-6. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26584467>
71. Jiyipong T, Morand S, Jittapalapong S, Raoult D, Rolain JM. *Bordetella hinzii* in rodents, Southeast Asia. *Emerg Infect Dis* [Internet]. marzo de 2013 [citado 13 de junio de 2018];19(3):502-3. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23750354>

72. Hayashimoto N, Morita H, Yasuda M, Ishida T, Kameda S, Takakura A, et al. Prevalence of *Bordetella hinzii* in mice in experimental facilities in Japan. *Res Vet Sci* [Internet]. 1 de octubre de 2012 [citado 13 de junio de 2018];93(2):624-6. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S003452881100453X?via%3Dihub>
73. Register KB, Sacco RE, Nordholm GE. Comparison of ribotyping and restriction enzyme analysis for interand intraspecies discrimination of *Bordetella avium* and *Bordetella hinzii*. *J Clin Microbiol* [Internet]. abril de 2003 [citado 13 de junio de 2018];41(4):1512-9. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12682138>
74. Fry NK, Duncan J, Edwards MT, Tilley RE, Chitnavis D, Harman R, et al. A UK clinical isolate of *Bordetella hinzii* from a patient with myelodysplastic syndrome. *J Med Microbiol* [Internet]. 2007 [citado 8 de agosto de 2017];56(12):1700-3. Disponible en: <http://www.microbiologyresearch.org/docserver/fulltext/jmm/56/12/1700.pdf?expires=1502207569&id=id&accname=guest&checksum=1600AE3D61BF103868D8D56EF34FE9E7>
75. Palacián Ruiz MP, Vasquez Martinez MA, Lopez Calleja AI. Respiratory infection caused by *Bordetella hinzii*. *Arch Bronconeumol* [Internet]. 1 de septiembre de 2013 [citado 13 de junio de 2018];49(9):409-10. Disponible en: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1579212913001377>
76. Kattar MM, Chavez JF, Limaye AP, Rassouljian-Barrett SL, Yarfitz SL, Carlson LC, et al. Application of 16S rRNA gene sequencing to identify *Bordetella hinzii* as the causative agent of fatal septicemia. *J Clin Microbiol* [Internet]. febrero de 2000 [citado 8 de agosto de 2017];38(2):789-94. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10655386>
77. Vandamme P, Heyndrickx M, Vancanneyt M, Hoste B, De Vos P, Falsen E, et al. *Bordetella trematum* sp. nov., isolated from wounds and ear infections in humans, and reassessment of *Alcaligenes denitrificans* Rügger and Tan 1983. *Int J Syst Bacteriol* [Internet]. 1996 [citado 8 de agosto de 2017];46(4):849-58. Disponible en: <http://www.microbiologyresearch.org/docserver/fulltext/ijsem/46/4/ijsem-46-4-849.pdf?expires=1502216010&id=id&accname=guest&checksum=1CBA616DD0719F22145F9B472A697C28>
78. Daxboeck F, Goerzer E, Apfalter P, Nehrt M, Krause R. Isolation of *Bordetella trematum*

- from a diabetic leg ulcer. *Diabet Med* [Internet]. 1 de noviembre de 2004 [citado 8 de agosto de 2017];21(11):1247-8. Disponible en: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1464-5491.2004.01310.x>
79. Hernández-Porto M, Cuervo M, Miguel-Gómez MA, Delgado T, Lecuona M. *Bordetella trematum* como agente colonizador en úlcera de pie diabético [Diabetic leg ulcer colonized by *Bordetella trematum*]. *Rev Esp Quimioter* [Internet]. 2013;26(1):72-3. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23546468>
80. Majewski LL, Nogi M, Bankowski MJ, Chung HH. *Bordetella trematum* sepsis with shock in a diabetic patient with rapidly developing soft tissue infection. *Diagn Microbiol Infect Dis* [Internet]. septiembre de 2016 [citado 13 de junio de 2018];86(1):112-4. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27397578>
81. von Wintzingerode F, Schattke A, Siddiqui RA, Rösick U, Göbel UB, Gross R. *Bordetella petrii* sp. nov., isolated from an anaerobic bioreactor, and emended description of the genus *Bordetella*. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2001;51(4):1257-65.
82. Moissenet D, Bingen E, Arlet G, Vu-Thien H. Mucoviscidose: identification des bacilles isolés d'infections bronchiques par séquençage du gène de l'ARN ribosomal 16S [Use of 16S rRNA gene sequencing for identification of «Pseudomonas-like» isolates from sputum of patients with cystic fibrosis]. *Pathol Biol (Paris)* [Internet]. octubre de 2005 [citado 8 de agosto de 2017];53(8-9):500-2. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16081224>
83. Blanco A, Girón RM, Sáez-Nieto JA, Alarcón T. Colonización crónica por *Bordetella petrii*. Primer caso en España. *Rev Esp Quim*. 2016;29(3):167-9.
84. Le Coustumier A, Njamkepo E, Cattoir V, Guillot S, Guiso N. *Bordetella petrii* infection with long-lasting persistence in human. *Emerg Infect Dis* [Internet]. abril de 2011 [citado 8 de agosto de 2017];17(4):612-8. Disponible en: [http://wwwnc.cdc.gov/eid/article/17/4/10-1480\\_article.htm](http://wwwnc.cdc.gov/eid/article/17/4/10-1480_article.htm)
85. Fry NK, Duncan J, Malnick H, Warner M, Smith AJ, Jackson MS, et al. *Bordetella petrii* clinical isolate. *Emerg Infect Dis* [Internet]. 2005 [citado 8 de agosto de 2017];11(7):1131-3. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3371814/pdf/05-0046.pdf>

86. Nogi M, Bankowski MJ, Pien FD. Septic arthritis and osteomyelitis due to *Bordetella petrii*. *J Clin Microbiol* [Internet]. 2015 [citado 8 de agosto de 2017];53(3):1024-7. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4390665/pdf/zjm1024.pdf>
87. Gentry-Weeks CR, Cookson BT, Goldman WE, Rimler RB, Porter SB, Curtiss R. Dermonecrotic toxin and tracheal cytotoxin, putative virulence factors of *Bordetella avium*. *Infect Immun*. 1988;56(7):1698-707.
88. Harrington AT, Castellanos JA, Ziedalski TM, Clarridge JE, Cookson BT. Isolation of *Bordetella avium* and novel *Bordetella* strain from patients with respiratory disease. *Emerg Infect Dis* [Internet]. enero de 2009 [citado 8 de agosto de 2017];15(1):72-4. Disponible en: [http://wwwnc.cdc.gov/eid/article/15/1/07-1677\\_article.htm](http://wwwnc.cdc.gov/eid/article/15/1/07-1677_article.htm)
89. Spilker T, Leber AL, Marcon MJ, Newton DW, Darrah R, Vandamme P, et al. A simplified sequence-based identification scheme for *Bordetella* reveals several putative novel species. *J Clin Microbiol* [Internet]. 2014 [citado 10 de agosto de 2017];52(2):674-7. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3911322/pdf/zjm674.pdf>
90. Vandamme PA, Peeters C, Cnockaert M, Inganäs E, Falsen E, Moore ERB, et al. *Bordetella bronchialis* sp. nov., *Bordetella flabilis* sp. nov. and *Bordetella sputigena* sp. nov., isolated from human respiratory specimens, and reclassification of *Achromobacter sediminum* Zhang et al. 2014 as *Verticia sediminum* gen. nov., comb. nov. *Int J Syst Evol Microbiol* [Internet]. 2015 [citado 10 de agosto de 2017];65(10):3674-82. Disponible en: [http://www.microbiologyresearch.org/docserver/fulltext/ijsem/65/10/3674\\_ijsem000473.pdf?expires=1502386163&id=id&accname=guest&checksum=1843488134E242DD8809AF347712DAEB](http://www.microbiologyresearch.org/docserver/fulltext/ijsem/65/10/3674_ijsem000473.pdf?expires=1502386163&id=id&accname=guest&checksum=1843488134E242DD8809AF347712DAEB)
91. Tazato N, Handa Y, Nishijima M, Kigawa R, Sano C, Sugiyama J. Novel environmental species isolated from the plaster wall surface of mural paintings in the Takamatsuzuka tumulus: *Bordetella muralis* sp. nov., *Bordetella tumulicola* sp. nov. and *Bordetella tumbae* sp. nov. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2015;65(12):4830-8.
92. Ivanov Y V., Linz B, Register KB, Newman JD, Taylor DL, Boschert KR, et al. Identification and taxonomic characterization of *Bordetella pseudohinzii* sp. nov. isolated from

- laboratory-raised mice. *Int J Syst Evol Microbiol*. 1 de diciembre de 2016;66(12):5452-9.
93. Ko KS, Peck KR, Oh WS, Lee NY, Lee JH, Song JH. New species of *Bordetella*, *Bordetella ansorpii* sp. nov., isolated from the purulent exudate of an epidermal cyst. *J Clin Microbiol* [Internet]. mayo de 2005 [citado 8 de agosto de 2017];43(5):2516-9. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15872300>
94. Fry NK, Duncan J, Malnick H, Cockcroft PM. The first UK isolate of «*Bordetella ansorpii*» from an immunocompromised patient. *J Med Microbiol* [Internet]. 2007 [citado 8 de agosto de 2017];56(7):993-5. Disponible en: <http://www.microbiologyresearch.org/docserver/fulltext/jmm/56/7/993.pdf?expires=1502226756&id=id&accname=guest&checksum=3DD0EB785DB4F37D28273623D1DE1B5A>
95. Cotter PA, Miller JF. *Bordetella*. En: Groisman E, editor. *Principles of Bacterial Pathogenesis*. San Diego, California: Academic Press; 2001. p. 619-74.
96. Sanofi Pasteur. *Bordetella pertussis*. Electron microscope image of the bacteria responsible for pertussis [Internet]. 2013 [citado 14 de noviembre de 2017]. Disponible en: <https://www.flickr.com/photos/sanofi-pasteur/5280262078/in/album-72157625526694383/>
97. Linz B, Ma L, Rivera I, Harvill ET. Genotypic and phenotypic adaptation of pathogens: lesson from the genus *Bordetella*. *Curr Opin Infect Dis*. 1 de junio de 2019;32(3):223-30.
98. Walther BA, Ewald PW. Pathogen survival in the external environment and the evolution of virulence. *Biol Rev Camb Philos Soc* [Internet]. 1 de noviembre de 2004 [citado 10 de agosto de 2017];79(4):849-69. Disponible en: <http://doi.wiley.com/10.1017/S1464793104006475>
99. Kramer A, Schwebke I, Kampf G. How long do nosocomial pathogens persist on inanimate surfaces? A systematic review. *BMC Infect Dis* [Internet]. 16 de agosto de 2006 [citado 10 de agosto de 2017];6:130. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16914034>
100. Mitscherlich E, Marth EH, SpringerLink. *Microbial Survival in the Environment. Bacteria and Rickettsiae Important in Animal and Human Health*. First ed. Berlin (Germany),

- Heidelberg (Germany), New York: Springer-Verlag; 1984. 802 p.
101. Lacey BW. Antigenic modulation of *Bordetella pertussis*. *J Hyg (Lond)*. 1960;58(1):57-93.
  102. Moon K, Bonocora RP, Kim DD, Chen Q, Wade JT, Stibitz S, et al. The BvgAS regulon of *Bordetella pertussis*. *MBio [Internet]*. 8 de noviembre de 2017 [citado 13 de junio de 2018];8(5):e01526-17. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29018122>
  103. Kimura A, Mountzouros KT, Relman DA, Falkow S, Cowell JL. *Bordetella pertussis* filamentous hemagglutinin: evaluation as a protective antigen and colonization factor in a mouse respiratory infection model. *Infect Immun [Internet]*. 1990 [citado 16 de agosto de 2017];58:7-16. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC258400/pdf/iai00049-0023.pdf>
  104. Menozzi FD, Boucher PE, Riveau G, Gantiez C, Locht C. Surface-associated filamentous hemagglutinin induces autoagglutination of *Bordetella pertussis*. *Infect Immun [Internet]*. octubre de 1994 [citado 16 de agosto de 2017];62(10):4261-9. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7927683>
  105. Ishibashi Y, Claus S, Relman DA. *Bordetella pertussis* filamentous hemagglutinin interacts with a leukocyte signal transduction complex and stimulates bacterial adherence to monocyte CR3 (CD11b/CD18). *J Exp Med [Internet]*. 1 de octubre de 1994 [citado 16 de agosto de 2017];180(4):1225-33. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7931059>
  106. Cotter PA, Yuk MH, Mattoo S, Akerley BJ, Boschwitz J, Relman DA, et al. Filamentous hemagglutinin of *Bordetella bronchiseptica* is required for efficient establishment of tracheal colonization. *Infect Immun*. 1998;66(12):5921-9.
  107. Hazenbos WL, van den Berg BM, Geuijen CW, Mooi FR, van Furth R. Binding of FimD on *Bordetella pertussis* to very late antigen-5 on monocytes activates complement receptor type 3 via protein tyrosine kinases. *J Immunol [Internet]*. 1995 [citado 16 de agosto de 2017];155(8):3972-8. Disponible en: <http://www.jimmunol.org/content/155/8/3972>
  108. Proenza L, Campos J, Ferrán B, Marcos E. Expresión de las fimbrias Fim2 y Fim3 desde el plasmidio pMMB67 en cepas de *Bordetella pertussis*. *Rev CENIC Ciencias Biológicas*

- [Internet]. 2010 [citado 16 de agosto de 2017];41(1):61-6. Disponible en: [http://revista.cnic.edu.cu/revistaCB/sites/default/files/articulos/Articulo\\_No\\_8\\_B25-09.pdf](http://revista.cnic.edu.cu/revistaCB/sites/default/files/articulos/Articulo_No_8_B25-09.pdf)
109. Roberts M, Fairweather NF, Leininger E, Pickard D, Hewlett EL, Robinson A, et al. Construction and characterization of Bordetella pertussis mutants lacking the vir-regulated P.69 outer membrane protein. Mol Microbiol [Internet]. 1 de junio de 1991 [citado 16 de agosto de 2017];5(6):1393-404. Disponible en: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2958.1991.tb00786.x>
110. Novotny P, Chubb AP, Cownley K, Charles IG. Biologic and protective properties of the 69-kDa outer membrane protein of Bordetella pertussis: a novel formulation for an acellular pertussis vaccine. J Infect Dis [Internet]. 1 de julio de 1991 [citado 16 de agosto de 2017];164(1):114-22. Disponible en: <https://academic.oup.com/jid/article-lookup/doi/10.1093/infdis/164.1.114>
111. Gustafsson L, Hallander HO, Olin P, Reizenstein E, Storsaeter J. A controlled trial of a two-component acellular, a five-component acellular, and a whole-cell pertussis vaccine. N Engl J Med [Internet]. 8 de febrero de 1996 [citado 16 de agosto de 2017];334(6):349-55. Disponible en: <http://www.nejm.org/doi/abs/10.1056/NEJM199602083340602>
112. Pawloski LC, Queenan AM, Cassiday PK, Lynch AS, Harrison MJ, Shang W, et al. Prevalence and molecular characterization of pertactin-deficient Bordetella pertussis in the United States. Clin Vaccine Immunol [Internet]. 2014 [citado 25 de octubre de 2017];21(2):119-25. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3910938/pdf/zcd119.pdf>
113. Zeddeman A, van Gent M, Heuvelman CJ, van der Heide HG, Bart MJ, Advani A, et al. Investigations into the emergence of pertactin-deficient Bordetella pertussis isolates in six European countries, 1996 to 2012. Eurosurveillance. 2014;19(33).
114. Bouchez V, Brun D, Cantinelli T, Dore G, Njamkepo E, Guiso N. First report and detailed characterization of B. pertussis isolates not expressing pertussis toxin or pertactin. Vaccine. 2009;27(43):6034-41.
115. Melvin JA, Scheller E V, Miller JF, Cotter PA. Bordetella pertussis pathogenesis: current

- and future challenges. *Nat Rev Microbiol* [Internet]. 10 de marzo de 2014 [citado 19 de noviembre de 2017];12(4):274-88. Disponible en: <http://www.nature.com/doi/10.1038/nrmicro3235>
116. Serrano-Rivero Y, Fando-Calzada R. La toxina adenilato ciclasa – hemolisina de *Bordetella pertussis*: función en la patogénesis y aplicaciones. *Rev CENIC Ciencias Biológicas* [Internet]. 2013 [citado 18 de agosto de 2017];44(3):46-56. Disponible en: <http://revista.cnic.edu.cu/revistaCB/articulos/la-toxina-adenilato-ciclasa—hemolisina-de-bordetella-pertussis-función-en-la-patogénesis>
117. Hewlett EL, Burns DL, Cotter PA, Harvill ET, Merkel TJ, Quinn CP, et al. Pertussis pathogenesis - what we know and what we don't know. *J Infect Dis* [Internet]. 1 de abril de 2014 [citado 13 de junio de 2018];209(7):982-5. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24626533>
118. Carbonetti NH. Pertussis toxin and adenylate cyclase toxin: key virulence factors of *Bordetella pertussis* and cell biology tools. *Future Microbiol* [Internet]. 2010 [citado 18 de agosto de 2017];5(3):455-69. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2851156/pdf/nihms189281.pdf>
119. Cheung GY, Xing D, Prior S, Corbel MJ, Parton R, Coote JG. Effect of different forms of adenylate cyclase toxin of *Bordetella pertussis* on protection afforded by an acellular pertussis vaccine in a murine model. *Infect Immun* [Internet]. 1 de diciembre de 2006 [citado 18 de agosto de 2017];74(12):6797-805. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16982827>
120. Prior S, Fleck RA, Gillett ML, Rigsby PR, Corbel MJ, Stacey GN, et al. Evaluation of adenyl cyclase toxin constructs from *Bordetella pertussis* as candidate vaccine components in an in vitro model of complement-dependent intraphagocytic killing. *Vaccine* [Internet]. 29 de mayo de 2006 [citado 18 de agosto de 2017];24(22):4794-803. Disponible en: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0264410X06003082>
121. Bordet J, Gengou O. L'endotoxine coquelucheuse. *Ann Inst Pasteur*. 1909;23:415–419.
122. Harvill ET, Preston A, Cotter PA, Allen AG, Maskell DJ, Miller JF. Multiple roles for *Bordetella* lipopolysaccharide molecules during respiratory tract infection. *Infect Immun*. 2000;68(12):6720-8.

123. Castro AM. Bordetella pertussis. En: El Manual Moderno, editor. Bacteriología Médica Basada en Problemas. Segunda ed. México D.F.; 2014. p. 92-108.
124. Carbonetti NH. Contribution of pertussis toxin to the pathogenesis of pertussis disease. Pathog Dis. 2015;73(8):ftv073.
125. Araki Y, Yoshida T, Nakamura N, Koyama K, Nakamura Y, Nakano K, et al. Effect of islet-activating protein (IAP) upon insulin secretion from human pancreatic islets. Endocrinol Jpn. 1981;28(2):139-43.
126. Carbonetti NH, Artamonova G V, Mays RM, Worthington ZE V. Pertussis toxin plays an early role in respiratory tract colonization by Bordetella pertussis. Infect Immun. 2003;71(11):6358-66.
127. Carbonetti NH, Artamonova G V, Van Rooijen N, Ayala VI. Pertussis toxin targets airway macrophages to promote Bordetella pertussis infection of the respiratory tract. Infect Immun. 2007;75(4):1713-20.
128. Williams MM, Sen KA, Weigand MR, Skoff TH, Cunningham VA, Halse TA, et al. Bordetella pertussis strain lacking pertactin and pertussis toxin. Emerg Infect Dis [Internet]. febrero de 2016 [citado 13 de junio de 2018];22(2):319-22. Disponible en: [http://wwwnc.cdc.gov/eid/article/22/2/15-1332\\_article.htm](http://wwwnc.cdc.gov/eid/article/22/2/15-1332_article.htm)
129. Cattelan N, Jennings-Gee J, Dubey P, Yantorno OM, Deora R. Hyperbiofilm formation by Bordetella pertussis strains correlates with enhanced virulence traits. Infect Immun [Internet]. 2017 [citado 13 de junio de 2018];85(12):e00373-17. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5695122/pdf/e00373-17.pdf>
130. Higgs R, Higgins SC, Ross PJ, Mills KH. Immunity to the respiratory pathogen Bordetella pertussis. Mucosal Immunol [Internet]. 2012 [citado 30 de octubre de 2017];5(5):485–500. Disponible en: <https://www.nature.com/mi/journal/v5/n5/pdf/mi201254a.pdf>
131. Troseid M, Jonassen TO, Steinbakk M. Isolation of Bordetella pertussis in blood culture from a patient with multiple myeloma. J Infect [Internet]. 1 de enero de 2006 [citado 13 de junio de 2018];52(1):e11-3. Disponible en: [https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S016344530500109X?\\_rdoc=1&\\_fmt=high&\\_origin=gateway&\\_docanchor=&md5=b8429449ccfc9c30159a5f9aeea92ffb#bi](https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S016344530500109X?_rdoc=1&_fmt=high&_origin=gateway&_docanchor=&md5=b8429449ccfc9c30159a5f9aeea92ffb#bi)

b2

132. Janda WM, Santos E, Stevens J, Celig D, Terrile L, Schreckenberger PC. Unexpected isolation of *Bordetella pertussis* from a blood culture. *J Clin Microbiol* [Internet]. 1994 [citado 13 de junio de 2018];32(11):2851-3. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC264173/pdf/jcm00011-0233.pdf>
133. Cherry JD. Pertussis in the preantibiotic and prevaccine era, with emphasis on adult pertussis. *Clin Infect Dis* [Internet]. 1999 [citado 16 de noviembre de 2017];28 Suppl 2:S107-11. Disponible en: [https://watermark.silverchair.com/28-Supplement\\_2-S107.pdf?token=AQECAHi208BE49Ooan9kKhW\\_Ercy7Dm3ZL\\_9Cf3qfKAc485ysgAAAcEwggG9BgkqhkiG9w0BBwagggGuMIIBqgIBADCCAaMGCSqGSIB3DQEHATAeBgIghkgBZQMEAS4wEQQMWDtsx2DDWYZWk5o7AgEQgIBdGQk1sk5hVMtdB8Yau9\\_Tji3VbmfyRV-k3](https://watermark.silverchair.com/28-Supplement_2-S107.pdf?token=AQECAHi208BE49Ooan9kKhW_Ercy7Dm3ZL_9Cf3qfKAc485ysgAAAcEwggG9BgkqhkiG9w0BBwagggGuMIIBqgIBADCCAaMGCSqGSIB3DQEHATAeBgIghkgBZQMEAS4wEQQMWDtsx2DDWYZWk5o7AgEQgIBdGQk1sk5hVMtdB8Yau9_Tji3VbmfyRV-k3)
134. Heininger U, Stehr K, Schmitt-Grohé S, Lorenz C, Rost R, Christenson PD, et al. Clinical characteristics of illness caused by *Bordetella parapertussis* compared with illness caused by *Bordetella pertussis*. *Pediatr Infect Dis J* [Internet]. 1994;13(4):306-9. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8036048>
135. Mertsola J, Ruuskanen O, Eerola E, Viljanen MK. Intrafamilial spread of pertussis. *J Pediatr* [Internet]. septiembre de 1983 [citado 29 de agosto de 2017];103(3):359-63. Disponible en: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S002234768380403X>
136. Long SS, Welton CJ, Clark JL. Widespread silent transmission of pertussis in families: antibody correlates of infection and symptomatology. *J Infect Dis* [Internet]. marzo de 1990 [citado 18 de noviembre de 2017];161(3):480-6. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2313126>
137. Luttinger P. The Epidemiology of Pertussis. *Am J Dis Child* [Internet]. 1 de septiembre de 1916;12(3):290. Disponible en: <http://archpedi.jamanetwork.com/article.aspx?doi=10.1001/archpedi.1916.04110150088007>
138. Warfel JM, Beren J, Merkel TJ. Airborne transmission of *Bordetella pertussis*. *J Infect Dis*. 2012;206(6):902-6.
139. Elahi S, Holmstrom J, Gerdtts V. The benefits of using diverse animal models for studying

- pertussis. *Trends Microbiol.* 2007;15(10):462-8.
140. Standfast AF. The comparison between field trials and mouse protection tests against intranasal and intracerebral challenges with *Bordetella pertussis*. *Immunology.* 1958;1(2):135-43.
141. Warfel JM, Beren J, Kelly VK, Lee G, Merkel TJ. Nonhuman primate model of pertussis. *Infect Immun.* 2012;80(4):1530-6.
142. Hewlett EL. Pertussis: current concepts of pathogenesis and prevention. *Pediatr Infect Dis J.* 1997;16(4 Suppl):S78-84.
143. Culotta CE, Dominick D, Harrison ER. Epidemiologic Studies in Whooping Cough. *Yale J Biol Med.* 1938;10(5):473-83.
144. Heininger U, Cherry JD, Christenson PD, Eckhardt T, Göering U, Jakob P, et al. Comparative study of Lederle/Takeda acellular and Lederle whole-cell pertussis-component diphtheria-tetanus-pertussis vaccines in infants in Germany. *Vaccine* [Internet]. enero de 1994 [citado 28 de octubre de 2017];12(1):81-6. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8303945>
145. Tuomanen E, Weiss A. Characterization of two adhesins of *Bordetella pertussis* for human ciliated respiratory-epithelial cells. *J Infect Dis* [Internet]. 1 de julio de 1985 [citado 28 de octubre de 2017];152(1):118-25. Disponible en: <https://academic.oup.com/jid/article-lookup/doi/10.1093/infdis/152.1.118>
146. Aricò B, Nuti S, Scarlato V, Rappuoli R. Adhesion of *Bordetella pertussis* to eukaryotic cells requires a time-dependent export and maturation of filamentous hemagglutinin. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1993;90:9204-8.
147. van den Berg BM, Beekhuizen H, Willems RJ, Mooi FR, van Furth R. Role of *Bordetella pertussis* virulence factors in adherence to epithelial cell lines derived from the human respiratory tract. *Infect Immun* [Internet]. 1999 [citado 30 de octubre de 2017];67(3):1056-62. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC96429/pdf/ii001056.pdf>
148. Bache C, Spreitzer I, Becker B, Loeschner B, Roskopf U, Hanschmann KM, et al. *Bordetella Pertussis* Toxin does not induce the release of pro-inflammatory cytokines in

- human whole blood. *Med Microbiol Immunol* [Internet]. 15 de agosto de 2012 [citado 30 de octubre de 2017];201(3):327-35. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/s00430-012-0238-1>
149. Carbonetti NH. *Bordetella pertussis*: New concepts in pathogenesis and treatment. *Curr Opin Infect Dis* [Internet]. junio de 2016 [citado 13 de junio de 2018];29(3):287-94. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26906206>
150. Wilson R, Read R, Thomas M, Rutman A, Harrison K, Lund V, et al. Effects of *Bordetella pertussis* infection on human respiratory epithelium in vivo and in vitro. *Infect Immun* [Internet]. 1991 [citado 28 de octubre de 2017];59(1):337-45. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC257746/pdf/iai00037-0357.pdf>
151. Soane MC, Jackson A, Maskell D, Allen A, Keig P, Dewar A, et al. Interaction of *Bordetella pertussis* with human respiratory mucosa in vitro. *Respir Med* [Internet]. 1 de agosto de 2000 [citado 28 de octubre de 2017];94(8):791-9. Disponible en: <file:///C:/Users/Aitziber/Documents/Aitziber/Tesis/Escritos/INTRODUCCIÓN/ETIOPATOGENIA/S0954611100908230.html>
152. Lamberti YA, Hayes JA, Perez Vidakovics ML, Harvill ET, Rodriguez ME. Intracellular trafficking of *Bordetella pertussis* in human macrophages. *Infect Immun* [Internet]. 2010 [citado 30 de octubre de 2017];78(3):907-13. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2825910/pdf/1031-09.pdf>
153. Hellwig SM, Hazenbos WL, Van de Winkel JG, Mooi FR. Evidence for an intracellular niche for *Bordetella pertussis* in broncho-alveolar lavage cells of mice. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 1999;26(3-4):203-7.
154. McGuirk P, Mahon BP, Griffin F, Mills KH. Compartmentalization of T cell responses following respiratory infection with *Bordetella pertussis*: hyporesponsiveness of lung T cells is associated with modulated expression of the co-stimulatory molecule CD28. *Eur J Immunol* [Internet]. enero de 1998 [citado 30 de octubre de 2017];28(1):153-63. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9485195>
155. Ryan M, Murphy G, Gothefors L, Nilsson L, Storsaeter J, Mills KH. *Bordetella pertussis* respiratory infection in children is associated with preferential activation of type 1 T helper cells. *J Infect Dis* [Internet]. 1997 [citado 6 de noviembre de 2017];175(5):1246-

50. Disponible en: [https://watermark.silverchair.com/175-5-1246.pdf?token=AQECAHi208BE49Ooan9kkhW\\_Ercy7Dm3ZL\\_9Cf3qfKAc485ysgAAAAa8wggGrBgkqhkiG9w0BBwagggGcMIIBmAIBADCCAZEGCSqGSib3DQEHATAeBgIghkgBZQMEAS4wEQQMs6D5to\\_J68Ojn1hZAgEQgIIBYtDPtEquD6l7W5pJPE\\_NseU-mKzxmGc5D7kVrCavZQTf](https://watermark.silverchair.com/175-5-1246.pdf?token=AQECAHi208BE49Ooan9kkhW_Ercy7Dm3ZL_9Cf3qfKAc485ysgAAAAa8wggGrBgkqhkiG9w0BBwagggGcMIIBmAIBADCCAZEGCSqGSib3DQEHATAeBgIghkgBZQMEAS4wEQQMs6D5to_J68Ojn1hZAgEQgIIBYtDPtEquD6l7W5pJPE_NseU-mKzxmGc5D7kVrCavZQTf)
156. Cheers C, Gray DF. Macrophage behaviour during the complaisant phase of murine pertussis. *Immunology*. 1969;17(6):875-87.
157. Paddock CD, Sanden GN, Cherry JD, Gal AA, Langston C, Tatti KM, et al. Pathology and pathogenesis of fatal *Bordetella pertussis* infection in infants. *Clin Infect Dis* [Internet]. 1 de agosto de 2008 [citado 30 de octubre de 2017];47(3):328-38. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18558873>
158. Bromberg K, Tannis G, Steiner P. Detection of *Bordetella pertussis* associated with the alveolar macrophages of children with human immunodeficiency virus infection. *Infect Immun* [Internet]. 1991 [citado 30 de octubre de 2017];59(12):4715-9. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC259105/pdf/iai00048-0435.pdf>
159. Saukkonen K, Cabellos C, Burroughs M, Prasad S, Tuomanen E. Integrin-mediated localization of *Bordetella pertussis* within macrophages: role in pulmonary colonization. *J Exp Med* [Internet]. 1 de mayo de 1991 [citado 6 de noviembre de 2017];173(5):1143-9. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2022924>
160. Mesa-Villanueva M, Patiño PJ. Receptores tipo Toll: entre el reconocimiento de lo no propio infeccioso y las señales endógenas de peligro. *Inmunología* [Internet]. 2006 [citado 5 de noviembre de 2017];25(2):115-30. Disponible en: <http://www.inmunologia.org/Upload/Articles/6/9/694.pdf>
161. Higgins SC, Lavelle EC, McCann C, Keogh B, McNeela E, Byrne P, et al. Toll-like receptor 4-mediated innate IL-10 activates antigen-specific regulatory T cells and confers resistance to *Bordetella pertussis* by inhibiting inflammatory pathology. *J Immunol* [Internet]. 2003 [citado 5 de noviembre de 2017];171(6):3119-27. Disponible en: <http://www.jimmunol.org/content/171/6/3119>
162. Lenz DH, Weingart CL, Weiss AA. Phagocytosed *Bordetella pertussis* fails to survive in human neutrophils. *Infect Immun* [Internet]. 2000 [citado 6 de noviembre de

- 2017];68(2):956-9. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC97230/pdf/ii000956.pdf>
163. McGuirk P, Mills KH. A regulatory role for interleukin 4 in differential inflammatory responses in the lung following infection of mice primed with Th1- or Th2-inducing pertussis vaccines. *Infect Immun* [Internet]. marzo de 2000 [citado 3 de noviembre de 2017];68(3):1383-90. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10678951>
164. Harvill ET, Cotter PA, Miller JF. Pangenomic comparative analysis between *Bordetella bronchiseptica* RB50 and *Bordetella pertussis* tohama I in murine models of respiratory tract infection. *Infect Immun* [Internet]. noviembre de 1999 [citado 5 de noviembre de 2017];67(11):6109-18. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10531274>
165. Andreasen C, Carbonetti NH. Role of neutrophils in response to *Bordetella pertussis* infection in mice. *Infect Immun* [Internet]. 2009 [citado 5 de noviembre de 2017];77(3):1182-8. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2643619/pdf/1150-08.pdf>
166. Byrne P, McGuirk P, Todryk S, Mills KH. Depletion of NK cells results in disseminating lethal infection with *Bordetella pertussis* associated with a reduction of antigen-specific Th1 and enhancement of Th2, but not Tr1 cells. *Eur J Immunol* [Internet]. 1 de septiembre de 2004 [citado 6 de noviembre de 2017];34(9):2579-88. Disponible en: <http://doi.wiley.com/10.1002/eji.200425092>
167. Barbic J, Leef MF, Burns DL, Shahin RD. Role of gamma interferon in natural clearance of *Bordetella pertussis* infection. *Infect Immun* [Internet]. diciembre de 1997 [citado 6 de noviembre de 2017];65(12):4904-8. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9393774>
168. Mills KH. Immunity to *Bordetella pertussis*. *Microbes Infect* [Internet]. 2001 [citado 6 de noviembre de 2017];3(8):655-77. Disponible en: [https://ac.els-cdn.com/S1286457901014216/1-s2.0-S1286457901014216-main.pdf?\\_tid=d18f1db2-c31d-11e7-8c75-00000aacb362&acdnat=1509992030\\_c443846fa0e8f1123fdbe5c1e6c92212](https://ac.els-cdn.com/S1286457901014216/1-s2.0-S1286457901014216-main.pdf?_tid=d18f1db2-c31d-11e7-8c75-00000aacb362&acdnat=1509992030_c443846fa0e8f1123fdbe5c1e6c92212)
169. Ryan M, McCarthy L, Rappuoli R, Mahon BP, Mills KH. Pertussis toxin potentiates Th1 and Th2 responses to co-injected antigen: adjuvant action is associated with enhanced

- regulatory cytokine production and expression of the co-stimulatory molecules B7-1, B7-2 and CD28. *Int Immunol* [Internet]. mayo de 1998 [citado 6 de noviembre de 2017];10(5):651-62. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9645613>
170. Cherry JD, Beer T, Chartrand SA, De Ville J, Beer E, Olsen MA, et al. Comparison of values of antibody to Bordetella pertussis antigens in young German and American men. *Clin Infect Dis* [Internet]. mayo de 1995 [citado 13 de noviembre de 2017];20(5):1271-4. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7620009>
171. Cherry JD. Historical review of pertussis and the classical vaccine. *J Infect Dis* [Internet]. 1996 [citado 9 de noviembre de 2017];174 Suppl:S259-63. Disponible en: [https://watermark.silverchair.com/174-Supplement\\_3-S259.pdf?token=AQECAHi208BE49Ooan9kKhW\\_Ercy7Dm3ZL\\_9Cf3qfKAc485ysgAAAadswggHXBgkqhkiG9w0BBWagggHIMIIBxAIBADCCAb0GCSqGSib3DQEHATAeBgIghkgBZQMEAS4wEQQMs2KBlo-sa4hW4ls4AgEQgIIBjuYo5SCCoHxmIJmQPqw0Uh4wk0jk2B6fM](https://watermark.silverchair.com/174-Supplement_3-S259.pdf?token=AQECAHi208BE49Ooan9kKhW_Ercy7Dm3ZL_9Cf3qfKAc485ysgAAAadswggHXBgkqhkiG9w0BBWagggHIMIIBxAIBADCCAb0GCSqGSib3DQEHATAeBgIghkgBZQMEAS4wEQQMs2KBlo-sa4hW4ls4AgEQgIIBjuYo5SCCoHxmIJmQPqw0Uh4wk0jk2B6fM)
172. Mahon BP, Brady MT, Mills KH. Protection against Bordetella pertussis in mice in the absence of detectable circulating antibody: implications for long-term immunity in children. *J Infect Dis* [Internet]. 2000 [citado 13 de noviembre de 2017];181(6):2087-91. Disponible en: [https://watermark.silverchair.com/181-6-2087.pdf?token=AQECAHi208BE49Ooan9kKhW\\_Ercy7Dm3ZL\\_9Cf3qfKAc485ysgAAAaQwggGgBgkqhkiG9w0BBWagggGRMIIBjQIBADCCAYYGCSqGSib3DQEHATAeBgIghkgBZQM EAS4wEQQMSvIoRNsikCjEOWQBAgEQgIIBV1oFXZCPmftyQsc4dSDR8bbmTjv5ih1qBg7ZTxdnxRNz](https://watermark.silverchair.com/181-6-2087.pdf?token=AQECAHi208BE49Ooan9kKhW_Ercy7Dm3ZL_9Cf3qfKAc485ysgAAAaQwggGgBgkqhkiG9w0BBWagggGRMIIBjQIBADCCAYYGCSqGSib3DQEHATAeBgIghkgBZQM EAS4wEQQMSvIoRNsikCjEOWQBAgEQgIIBV1oFXZCPmftyQsc4dSDR8bbmTjv5ih1qBg7ZTxdnxRNz)
173. Wendelboe AM, Van Rie A, Salmaso S, Englund JA. Duration of immunity against pertussis after natural infection or vaccination. *Pediatr Infect Dis J* [Internet]. mayo de 2005 [citado 12 de abril de 2018];24(5 suppl):S58-61. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15876927>
174. Comité Asesor de Vacunas (CAV-AEP). Manual de vacunas en línea de la AEP [Internet]. Madrid; 2018 [citado 10 de abril de 2018]. Disponible en: <https://vacunasaep.org/documentos/manual/manual-de-vacunas>
175. Ausiello CM, Lande R, Urbani F, la Sala A, Stefanelli P, Salmaso S, et al. Cell-mediated immune responses in four-year-old children after primary immunization with acellular pertussis vaccines. *Infect Immun* [Internet]. 1999 [citado 13 de noviembre de

- 2017];67(8):4064-71. Disponible en:  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC96703/pdf/ii004064.pdf>
176. Barnard A, Mahon BP, Watkins J, Redhead K, Mills KH. Th1/Th2 cell dichotomy in acquired immunity to *Bordetella pertussis*: variables in the in vivo priming and in vitro cytokine detection techniques affect the classification of T-cell subsets as Th1, Th2 or Th0. *Immunology* [Internet]. 1996 [citado 13 de noviembre de 2017];87(3):372-80. Disponible en:  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1384104/pdf/immunology00060-0036.pdf>
177. Redhead K, Watkins J, Barnard A, Mills KH. Effective immunization against *Bordetella pertussis* respiratory infection in mice is dependent on induction of cell-mediated immunity. *Infect Immun* [Internet]. 1993 [citado 13 de noviembre de 2017];61(8):3190-8. Disponible en:  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC280987/pdf/iai00020-0098.pdf>
178. 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* [Internet]. 14 de enero de 2014 [citado 13 de junio de 2018];111(2):787-92. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24277828>
179. da Silva Antunes R, Babor M, Carpenter C, Khalil N, Cortese M, Mentzer AJ, et al. Th1/Th17 polarization persists following whole-cell pertussis vaccination despite repeated acellular boosters. *J Clin Invest*. 2018;128(9):3853-65.
180. Plotkin SA. Composition of pertussis vaccine given to infants determines long-term T cell polarization. *J Clin Invest*. 2018;128(9):3742-4.
181. Kerr JR, Matthews RC. *Bordetella pertussis* infection: pathogenesis, diagnosis, management, and the role of protective immunity. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* [Internet]. 2000 [citado 14 de noviembre de 2017];19(2):77-88. Disponible en:  
<https://link.springer.com/content/pdf/10.1007%2Fs100960050435.pdf>
182. Bisgard KM, Pascual FB, Ehresmann KR, Miller CA, Cianfrini C, Jennings CE, et al. Infant pertussis: Who was the source? *Pediatr Infect Dis J* [Internet]. 2004 [citado 22 de junio de 2018];23(11):985-9. Disponible en: <http://ovidsp.uk.ovid.com/sp->

- 3.30.0b/ovidweb.cgi?WebLinkFrameset=1&S=AHEPPDJEKIHFDNIAFNEKNFOFFNMMAA00&returnUrl=ovidweb.cgi%3F%26Full%2BText%3DL%257cS.sh.22.23%257c0%257c00006454-200411000-00002%26S%3DAHEPPDJEKIHFDNIAFNEKNFOFFNMMAA00&directlink=http%3A%2F
183. Crowcroft NS, Booy R, Harrison T, Spicer L, Britto J, Mok Q, et al. Severe and unrecognised: pertussis in UK infants. *Arch Dis Child* [Internet]. 2003 [citado 18 de noviembre de 2017];88(9):802-6. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1719623/pdf/v088p00802.pdf>
184. Deen JL, Mink CA, Cherry JD, Christenson PD, Pineda EF, Lewis K, et al. Household contact study of *Bordetella pertussis* infections. *Clin Infect Dis*. noviembre de 1995;21(5):1211-9.
185. Skoff TH, Kenyon C, Cocoros N, Liko J, Miller L, Kudish K, et al. Sources of infant pertussis infection in the United States. *Pediatrics* [Internet]. 2015 [citado 18 de noviembre de 2017];136(4):635-41. Disponible en: <http://pediatrics.aappublications.org/content/pediatrics/early/2015/09/01/peds.2015-1120.full.pdf>
186. Kara EO, Campbell H, Ribeiro S, Fry NK, Litt D, Eletu S, et al. Survey of household contacts of infants with laboratory-confirmed pertussis infection during a national pertussis outbreak in England and Wales. *Pediatr Infect Dis J* [Internet]. 2017;36(2):140-5. Disponible en: <http://insights.ovid.com/crossref?an=00006454-201702000-00003>
187. Horiba K, Nishimura N, Gotoh K, Kawaguchi M, Takeuchi S, Hattori F, et al. Clinical manifestations of children with microbiologically confirmed pertussis infection and antimicrobial susceptibility of isolated strains in a regional hospital in Japan, 2008–2012. *Jpn J Infect Dis* [Internet]. 2014 [citado 18 de noviembre de 2017];67(5):345-8. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25241683>
188. Heininger U, Klich K, Stehr K, Cherry JD. Clinical findings in *Bordetella pertussis* infections: results of a prospective multicenter surveillance study. *Pediatrics* [Internet]. diciembre de 1997 [citado 18 de noviembre de 2017];100(6):E10. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9382911>
189. Marshall H, Clarke M, Rasiah K, Richmond P, Buttery J, Reynolds G, et al. Predictors of

- disease severity in children hospitalized for pertussis during an epidemic. *Pediatr Infect Dis J* [Internet]. 2015;34(4):339-45. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25260040>
190. Straney L, Schibler A, Ganeshalingham A, Alexander J, Festa M, Slater A, et al. Burden and outcomes of severe pertussis infection in critically ill infants. *Pediatr Crit Care Med* [Internet]. 2016;17(8):735-42. Disponible en: <http://insights.ovid.com/crossref?an=00130478-201608000-00006>
191. Mikelova LK, Halperin SA, Scheifele D, Smith B, Ford-Jones E, Vaudry W, et al. Predictors of death in infants hospitalized with pertussis: a case-control study of 16 pertussis deaths in Canada. *J Pediatr* [Internet]. 1 de noviembre de 2003 [citado 18 de noviembre de 2017];143(5):576-81. Disponible en: [http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022347603003652?\\_rdoc=1&\\_fmt=high&\\_origin=gateway&\\_docanchor=&md5=b8429449ccfc9c30159a5f9aeaa92ffb](http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022347603003652?_rdoc=1&_fmt=high&_origin=gateway&_docanchor=&md5=b8429449ccfc9c30159a5f9aeaa92ffb)
192. Centers for Disease Control and Prevention. Pertussis--United States, 2001-2003. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* [Internet]. 23 de diciembre de 2005 [citado 18 de noviembre de 2017];54(50):1283-6. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16371944>
193. Pierce C, Klein N, Peters M. Is leukocytosis a predictor of mortality in severe pertussis infection? *Intensive Care Med* [Internet]. octubre de 2000 [citado 13 de julio de 2018];26(10):1512-4. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11126265>
194. Nicoll A, Gardner A. Whooping cough and unrecognised postperinatal mortality. *Arch Dis Child* [Internet]. 1988 [citado 19 de noviembre de 2017];63(1):41-7. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1779359/pdf/archdisch00690-0049.pdf>
195. Heininger U, Kleemann WJ, Cherry JD, Sudden Infant Death Syndrome Study Group. A controlled study of the relationship between *Bordetella pertussis* infections and sudden unexpected deaths among German infants. *Pediatrics* [Internet]. 2004 [citado 18 de noviembre de 2017];114(1):e9-15. Disponible en: <http://pediatrics.aappublications.org/content/pediatrics/114/1/e9.full.pdf>
196. Ward JI, Cherry JD, Chang S-J, Partridge S, Keitel W, Edwards K, et al. *Bordetella*

- pertussis infections in vaccinated and unvaccinated adolescents and adults, as assessed in a national prospective randomized Acellular Pertussis Vaccine Trial (APERT). *Clin Infect Dis* [Internet]. 2006 [citado 19 de noviembre de 2017];43(2):151-7. Disponible en: [https://watermark.silverchair.com/43-2-151.pdf?token=AQECAHi208BE49Ooan9kKhW\\_Ercy7Dm3ZL\\_9Cf3qfKAc485ysgAAAaowgGmBgkqhkiG9w0BBWagggGXMIIBkwIBADCCAYwGCSqGSIb3DQEHATAeBgIghkgBZQMEAS4wEQQM65nx8CiCkHc3HsC2AgEQgIIBXeL5Qq95MrjDW9MXxVgIQILwFLxpTQQFse3Rah24I8ocUj](https://watermark.silverchair.com/43-2-151.pdf?token=AQECAHi208BE49Ooan9kKhW_Ercy7Dm3ZL_9Cf3qfKAc485ysgAAAaowgGmBgkqhkiG9w0BBWagggGXMIIBkwIBADCCAYwGCSqGSIb3DQEHATAeBgIghkgBZQMEAS4wEQQM65nx8CiCkHc3HsC2AgEQgIIBXeL5Qq95MrjDW9MXxVgIQILwFLxpTQQFse3Rah24I8ocUj)
197. Centers for Disease Control and Prevention. Pertussis--United States, 1997-2000. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* [Internet]. 1 de febrero de 2002 [citado 19 de noviembre de 2017];51(4):73-6. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11837909>
198. Teepe J, Broekhuizen BDL, Ieven M, Kretzschmar M, Verheij TJM, Loens K, et al. Prevalence, diagnosis, and disease course of pertussis in adults with acute cough: a prospective, observational study in primary care. *Br J Gen Pract* [Internet]. 2015 [citado 19 de noviembre de 2017];65(639):e662-7. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4582879/pdf/bjgpoct-2015-65-639-e662-oa.pdf>
199. Cherry JD, Grimprel E, Guiso N, Heininger U, Mertsola J. Defining pertussis epidemiology: clinical, microbiologic and serologic perspectives. *Pediatr Infect Dis J*. 2005;24(5 Suppl):S25-34.
200. World Health Organization. Pertussis surveillance: a global meeting [Internet]. WHO. Geneva, 16-18 October 2000; [citado 19 de noviembre de 2017]. Disponible en: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/66828>
201. Cherry JD, Tan T, Wirsing Von König CH, Forsyth KD, Thisyakorn U, Greenberg D, et al. Clinical definitions of pertussis: summary of a global pertussis initiative roundtable meeting, february 2011. *Clin Infect Dis*. 2012;54(12):1756-64.
202. Centro Nacional de Epidemiología. CIBER Epidemiología y Salud Pública (CIBERESP). Instituto de Salud Carlos III. Protocolos de la Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica [Internet]. Madrid; 2013. Disponible en: <http://www.proyectosame.com/brotos/Apoyo/Bibliografía/6. Protocolos RENAve.pdf>

203. Guiso N, Hegerle N. Other Bordetellas, lessons for and from pertussis vaccines. *Expert Rev Vaccines* [Internet]. 18 de septiembre de 2014 [citado 13 de junio de 2018];13(9):1125-33. Disponible en: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1586/14760584.2014.942221>
204. Mastrantonio P, Stefanelli P, Giuliano M, Rojas YH, Degli Atti MC, Anemona A, et al. Bordetella parapertussis infection in children: epidemiology, clinical symptoms, and molecular characteristics of isolates. *J Clin Microbiol* [Internet]. 1 de abril de 1998 [citado 14 de enero de 2018];36(4):999-1002. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9542925>
205. Khelef N, Danve B, Quentin-Millet MJ, Guiso N. Bordetella pertussis and Bordetella parapertussis: two immunologically distinct species. *Infect Immun* [Internet]. 1 de febrero de 1993 [citado 14 de enero de 2018];61(2):486-90. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8423077>
206. Bergfors E, Trollfors B, Taranger J, Lagergård T, Sundh V, Zackrisson G. Parapertussis and pertussis: differences and similarities in incidence, clinical course, and antibody responses. *Int J Infect Dis* [Internet]. 1999 [citado 14 de enero de 2018];3(3):140-6. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10460925>
207. Liko J, Robison SG, Cieslak PR. Do pertussis vaccines protect against Bordetella parapertussis? *Clin Infect Dis* [Internet]. 15 de junio de 2017 [citado 14 de enero de 2018];64(12):1795-7. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28369240>
208. Heininger U, Stehr K, Christenson P, Cherry JD. Evidence of efficacy of the Lederle/Takeda acellular pertussis component diphtheria and tetanus toxoids and pertussis vaccine but not the Lederle whole-cell component diphtheria and tetanus toxoids and pertussis vaccine against Bordetella parapertussis in. *Clin Infect Dis* [Internet]. marzo de 1999 [citado 14 de enero de 2018];28(3):602-4. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10194085>
209. Liese JG, Renner C, Stojanov S, Belohradsky BH, Munich Vaccine Study Group. Clinical and epidemiological picture of B pertussis and B parapertussis infections after introduction of acellular pertussis vaccines. *Arch Dis Child* [Internet]. 2003 [citado 14 de junio de 2018];88(8):684-7. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1719607/pdf/v088p00684.pdf>

210. de la Fuente J, Albo C, Rodriguez A, Sopeña B, Martinez C. Bordetella bronchiseptica pneumonia in a patient with AIDS. Thorax [Internet]. 1 de julio de 1994 [citado 22 de enero de 2018];49(7):719-20. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8066571>
211. Rath BA, Register KB, Wall J, Sokol DM, Van Dyke RB. Persistent Bordetella bronchiseptica pneumonia in an immunocompetent infant and genetic comparison of clinical isolates with kennel cough vaccine strains. Clin Infect Dis [Internet]. 15 de marzo de 2008 [citado 22 de enero de 2018];46(6):905-8. Disponible en: <https://academic.oup.com/cid/article-lookup/doi/10.1086/528858>
212. Njamkepo E, Bonacorsi S, Debruyne M, Gibaud SA, Guillot S, Guiso N. Significant finding of Bordetella holmesii DNA in nasopharyngeal samples from French patients with suspected pertussis. J Clin Microbiol [Internet]. diciembre de 2011 [citado 22 de enero de 2018];49(12):4347-8. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22012009>
213. Connor JD. Evidence for an etiologic role of adenoviral infection in pertussis syndrome. N Engl J Med [Internet]. 20 de agosto de 1970 [citado 14 de enero de 2018];283(8):390-4. Disponible en: <http://www.nejm.org/doi/abs/10.1056/NEJM197008202830802>
214. Wirsing Von König CH, Rott H, Bogaerts H, Schmitt HJ. A serologic study of organisms possibly associated with pertussis-like coughing. Pediatr Infect Dis J [Internet]. julio de 1998 [citado 14 de enero de 2018];17(7):645-9. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9686733>
215. Patriarca PA, Biellik RJ, Sanden G, Burstyn DG, Mitchell PD, Silverman PR, et al. Sensitivity and specificity of clinical case definitions for pertussis. Am J Public Health [Internet]. 1988 [citado 23 de enero de 2018];78(7):833-6. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1350347/pdf/amjph00246-0083.pdf>
216. Worthington ZE, Van Rooijen N, Carbonetti NH. Enhancement of Bordetella parapertussis infection by Bordetella pertussis in mixed infection of the respiratory tract. FEMS Immunol Med Microbiol [Internet]. 2011 [citado 23 de enero de 2018];63(1):119-28. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3170498/pdf/nihms309268.pdf>

217. Nuolivirta K, Koponen P, He Q, Halkosalo A, Korppi M, Vesikari T, et al. Bordetella pertussis infection is common in nonvaccinated infants admitted for bronchiolitis. *Pediatr Infect Dis J* [Internet]. agosto de 2010 [citado 24 de enero de 2018];29(11):1013-5. Disponible en: <http://content.wkhealth.com/linkback/openurl?sid=WKPTLP:landingpage&an=00006454-900000000-99223>
218. Cosnes-Lambe C, Raymond J, Chalumeau M, Pons-Catalano C, Moulin F, Suremain ND, et al. Pertussis and respiratory syncytial virus infections. *Eur J Pediatr* [Internet]. 2008 [citado 25 de enero de 2018];167(9):1017-9. Disponible en: <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007%2Fs00431-007-0633-6.pdf>
219. Nelson WL, Hopkins RS, Roe MH, Glode MP. Simultaneous infection with Bordetella pertussis and respiratory syncytial virus in hospitalized children. *Pediatr Infect Dis J* [Internet]. 1986;5(5):540-4. Disponible en: <http://eutils.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/eutils/elink.fcgi?dbfrom=pubmed&id=2876415&retmode=ref&cmd=prlinks%5Cnpapers2://publication/uuid/BDA97CE5-CAA4-4321-BDA4-3DE19D5D05B1>
220. Sanz Moreno JC, De Ory Manchón F, González Alonso J, de la Torre JL, Salmerón F, Limia A, et al. Diagnóstico de laboratorio de tos ferina. Papel de la serología. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2002;20(5):212-8.
221. Strebel PM, Cochi SL, Farizo KM, Payne BJ, Hanauer SD, Baughman AL. Pertussis in Missouri: evaluation of nasopharyngeal culture, direct fluorescent antibody testing, and clinical case definitions in the diagnosis of pertussis. *Clin Infect Dis* [Internet]. 1993 [citado 30 de enero de 2018];16(2):276-85. Disponible en: <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.968.6560&rep=rep1&type=pdf>
222. Hallander HO, Reizenstein E, Renemar B, Rasmuson G, Mardin L, Olin P. Comparison of nasopharyngeal aspirates with swabs for culture of Bordetella pertussis. *J Clin Microbiol* [Internet]. 1993 [citado 30 de enero de 2018];31(1):50-2. Disponible en: <http://jcm.asm.org/content/31/1/50.full.pdf>
223. Hallander HO. Microbiological and serological diagnosis of pertussis. *Clin Infect Dis* [Internet]. 1999 [citado 31 de enero de 2018];28(s2):S99-106. Disponible en:

- [https://watermark.silverchair.com/28-Supplement\\_2-S99.pdf?token=AQECAHi208BE49Ooan9kxhW\\_Ercy7Dm3ZL\\_9Cf3qfKAc485ysgAAAb4wgG6BgkqhkiG9w0BBwagggGrMIIBpwIBADCCAaAGCSqGS1b3DQEHATAeBg1ghkgBZQMEAS4wEQQMiqk2Hb6lxM87C7E2AgEQgIIbCfhBy5YF5W5Fyu9w\\_GuUIMWjqSn8Hp5uqc9](https://watermark.silverchair.com/28-Supplement_2-S99.pdf?token=AQECAHi208BE49Ooan9kxhW_Ercy7Dm3ZL_9Cf3qfKAc485ysgAAAb4wgG6BgkqhkiG9w0BBwagggGrMIIBpwIBADCCAaAGCSqGS1b3DQEHATAeBg1ghkgBZQMEAS4wEQQMiqk2Hb6lxM87C7E2AgEQgIIbCfhBy5YF5W5Fyu9w_GuUIMWjqSn8Hp5uqc9)
224. Von König C, Riffelmann M, Coenye T. Bordetella and Related Genera. En: Jorgensen JH, Pfaller MA, Carroll KC, Funke G, Landry ML, Richter SS, et al., editores. Manual of Clinical Microbiology. 11 edition. Washington D.C: ASM Press; 2015. p. 838-50.
225. Heininger U, Schmidt-schläpfer G, Cherry JD, Stehr K. Clinical validation of a polymerase chain reaction assay for the diagnosis of pertussis by comparison with serology, culture, and symptoms during a large pertussis vaccine efficacy trial. Pediatrics [Internet]. 1 de marzo de 2000 [citado 1 de marzo de 2018];105(3):e31. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10699133>
226. van der Zee A, Agterberg C, van Agterveld M, Peeters M, Mooi FR. Characterization of IS1001, an insertion sequence element of Bordetella parapertussis. J Bacteriol [Internet]. 1993 [citado 1 de marzo de 2018];175(1):141-7. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC196107/pdf/jbacter00043-0165.pdf>
227. Wearing HJ, Rohani P. Estimating the duration of pertussis immunity using epidemiological signatures. PLoS Pathog [Internet]. 2009 [citado 14 de junio de 2018];5(10):e1000647. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2763266/pdf/ppat.1000647.pdf>
228. McGirr A, Fisman DN. Duration of pertussis immunity after DTaP immunization: a meta-analysis. Pediatrics [Internet]. 1 de febrero de 2015 [citado 14 de junio de 2018];135(2):331-43. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25560446>
229. Fry NK, Litt DJ, Duncan J, Vaghji L, Warrenner L, Samuel D, et al. Modelling anti-pertussis toxin IgG antibody decay following primary and preschool vaccination with an acellular pertussis vaccine in UK subjects using a modified oral fluid assay. J Med Microbiol [Internet]. 2013 [citado 4 de marzo de 2018];62 (Pt 9):1281-9. Disponible en: [http://www.microbiologyresearch.org/docserver/fulltext/jmm/62/9/1281\\_jmm062000.pdf?expires=1520183680&id=id&accname=guest&checksum=83D84E42E8A5FD25C495E26747C15DDF](http://www.microbiologyresearch.org/docserver/fulltext/jmm/62/9/1281_jmm062000.pdf?expires=1520183680&id=id&accname=guest&checksum=83D84E42E8A5FD25C495E26747C15DDF)

230. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Pertussis. Whooping Cough. Clinical Disease Specifics. [Internet]. 2019 [citado 1 de febrero de 2020]. Disponible en: <http://www.cdc.gov/pertussis/clinical/disease-specifics.html>
231. Bass JW, Klenk EL, Kotheimer JB, Linnemann CC, Smith MHD, Mitchell IA, et al. Antimicrobial treatment of pertussis. *J Pediatr* [Internet]. 1 de noviembre de 1969 [citado 2 de marzo de 2018];75(5):768-81. Disponible en: [https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022347669802994?\\_rdoc=1&fmt=high&\\_origin=gateway&\\_docanchor=&md5=b8429449ccfc9c30159a5f9aeaa92ffb](https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022347669802994?_rdoc=1&fmt=high&_origin=gateway&_docanchor=&md5=b8429449ccfc9c30159a5f9aeaa92ffb)
232. Henry RL, Dorman DC, Skinner JA, Mellis CM. Antimicrobial therapy in whooping cough. *Med J Aust* [Internet]. 11 de julio de 1981 [citado 2 de marzo de 2018];2(1):27-8. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6268953>
233. Bergquist SO, Bernander S, Dahnsjö H, Sundelöf B. Erythromycin in the treatment of pertussis: a study of bacteriologic and clinical effects. *Pediatr Infect Dis J* [Internet]. mayo de 1987 [citado 1 de marzo de 2018];6(5):458-61. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2885802>
234. Bass JW. Erythromycin for pertussis: probable reasons for past failures. *Lancet*. 1985;2(8447):147.
235. Langley JM, Halperin SA, Boucher FD, Smith B, Pediatric Investigators Collaborative Network on Infections in Canada (PICNIC). Azithromycin is as effective as and better tolerated than erythromycin estolate for the treatment of pertussis. *Pediatrics* [Internet]. 2004 [citado 1 de marzo de 2018];114(1):e96-101. Disponible en: <http://pediatrics.aappublications.org/content/pediatrics/114/1/e96.full.pdf>
236. Ray WA, Murray KT, Hall K, Arbogast PG, Stein CM. Azithromycin and the Risk of Cardiovascular Death. *N Engl J Med* [Internet]. 17 de mayo de 2012 [citado 2 de marzo de 2018];366(20):1881-90. Disponible en: <http://www.nejm.org/doi/abs/10.1056/NEJMoa1003833>
237. Food and Drug Administration (FDA). FDA Drug Safety Communication: Azithromycin and the risk of potentially fatal heart rhythms [Internet]. 2013. Disponible en: <https://www.fda.gov/drugs/drug-safety-and-availability/fda-drug-safety-communication-azithromycin-zithromax-or-zmax-and-risk-potentially-fatal-heart>

238. Gordon KA, Fusco J, Biedenbach DJ, Pfaller MA, Jones RN. Antimicrobial susceptibility testing of clinical isolates of *Bordetella pertussis* from northern California: report from the SENTRY antimicrobial surveillance program. *Antimicrob Agents Chemother* [Internet]. 2001 [citado 2 de marzo de 2018];45(12):3599-600. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC90876/pdf/ac1201003599.pdf>
239. Altunaiji SM, Kukuruzovic RH, Curtis NC, Massie J. Antibiotics for whooping cough (pertussis). *Cochrane Database Syst Rev* [Internet]. 2007 [citado 2 de marzo de 2018];(3):CD004404. Disponible en: <http://doi.wiley.com/10.1002/14651858.CD004404.pub3>
240. Wang K, Bettiol S, Thompson MJ, Roberts NW, Perera R, Heneghan CJ, et al. Symptomatic treatment of the cough in whooping cough. *Cochrane database Syst Rev* [Internet]. 22 de septiembre de 2014 [citado 4 de marzo de 2018];(5):CD003257. Disponible en: <http://doi.wiley.com/10.1002/14651858.CD003257.pub5>
241. Granstrom M, Olinder-Nielson AM, Holmblad P, Mark A, Hanngren K. Specific immunoglobulin for treatment of whooping cough. *Lancet* [Internet]. 16 de noviembre de 1991 [citado 4 de marzo de 2018];338(8777):1230-3. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1682643>
242. Asociación Española de Vacunología. Información general. Vacunas. [Internet]. 2018. Disponible en: <https://www.vacunas.org/tosferina/>
243. Zhang L, Prietsch SO, Axelsson I, Halperin SA. Acellular vaccines for preventing whooping cough in children. *Cochrane Database Syst Rev* [Internet]. 17 de septiembre de 2014 [citado 12 de abril de 2018];(9):CD001478. Disponible en: <http://doi.wiley.com/10.1002/14651858.CD001478.pub6>
244. Greco D, Salmaso S, Mastrantonio P, Giuliano M, Tozzi AE, Anemona A, et al. A controlled trial of two acellular vaccines and one whole-cell vaccine against pertussis. *N Engl J Med* [Internet]. 8 de febrero de 1996 [citado 12 de abril de 2018];334(6):341-9. Disponible en: <http://www.nejm.org/doi/abs/10.1056/NEJM199602083340601>
245. Ad Hoc Group for the Study of Pertussis Vaccines. Placebo-controlled trial of two acellular pertussis vaccines in Sweden--protective efficacy and adverse events. *Lancet* [Internet]. 30 de abril de 1988 [citado 12 de abril de 2018];1(8592):955-60. Disponible

- en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2896826>
246. Edwards KM, Meade BD, Decker MD, Reed GF, Rennels MB, Steinhoff MC, et al. Comparison of 13 acellular pertussis vaccines: overview and serologic response. *Pediatrics* [Internet]. 1995 [citado 13 de abril de 2018];96(3):548-57. Disponible en: <http://pediatrics.aappublications.org/content/96/3/548>
247. Storsaeter J, Hallander HO, Gustafsson L, Olin P. Low levels of antipertussis antibodies plus lack of history of pertussis correlate with susceptibility after household exposure to *Bordetella pertussis*. *Vaccine* [Internet]. 2003 [citado 12 de abril de 2018];21(25-26):3542-9. Disponible en: [https://ac.els-cdn.com/S0264410X03004079/1-s2.0-S0264410X03004079-main.pdf?\\_tid=f2f75070-65d8-4e91-8b25-15dd2c46c44b&acdnat=1523547462\\_edcbcca00271dc4539b5902c02ec1c6f](https://ac.els-cdn.com/S0264410X03004079/1-s2.0-S0264410X03004079-main.pdf?_tid=f2f75070-65d8-4e91-8b25-15dd2c46c44b&acdnat=1523547462_edcbcca00271dc4539b5902c02ec1c6f)
248. Warfel JM, Edwards KM. Pertussis vaccines and the challenge of inducing durable immunity. *Curr Opin Immunol* [Internet]. 1 de agosto de 2015 [citado 14 de junio de 2018];35:48-54. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0952791515000813?via%3Dihub>
249. Grupo de Aislamiento Hospitalario de la Comisión de Infecciones del Hospital Universitario Donostia. Medidas de aislamiento y otras precauciones para pacientes con enfermedades transmisibles [Internet]. [citado 14 de junio de 2018]. Disponible en: [https://www.osakidetza.euskadi.eus/contenidos/informacion/hd\\_publicaciones/es\\_hd\\_on/adjuntos/Protocolo31AislamientoEnfermedadesTransmisiblesC.pdf](https://www.osakidetza.euskadi.eus/contenidos/informacion/hd_publicaciones/es_hd_on/adjuntos/Protocolo31AislamientoEnfermedadesTransmisiblesC.pdf)
250. Dirección de Salud Pública y Servicios de Microbiología de Osakidetza. Departamento de Sanidad y Consumo. Gobierno Vasco. Tosferina. Adaptación de los protocolos de la Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica (RENAVE). Protoc Vigil Epidemiológica [Internet]. 2018 [citado 10 de abril de 2018];1-14. Disponible en: [https://www.osakidetza.euskadi.eus/contenidos/informacion/vigilancia\\_protocolos/es\\_def/adjuntos/Tosferina\\_cast.pdf](https://www.osakidetza.euskadi.eus/contenidos/informacion/vigilancia_protocolos/es_def/adjuntos/Tosferina_cast.pdf)
251. Halperin SA, Bortolussi R, Langley JM, Eastwood BJ, de Serres G. A randomized, placebo-controlled trial of erythromycin estolate chemoprophylaxis for household contacts of children with culture-positive *Bordetella pertussis* infection. *Pediatrics* [Internet]. 1999 [citado 10 de abril de 2018];104(4):e42. Disponible en: <http://pediatrics.aappublications.org/content/pediatrics/104/4/e42.full.pdf>

252. Grob PR, Spencely M, Lambert HP. Prophylactic erythromycin for whooping-cough contacts. *Lancet* [Internet]. 4 de abril de 1981 [citado 10 de abril de 2018];317(8223):772-3. Disponible en: [https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0140673681926386?\\_rdoc=1&fmt=high&\\_origin=gateway&\\_docanchor=&md5=b8429449ccfc9c30159a5f9aeaa92ffb](https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0140673681926386?_rdoc=1&fmt=high&_origin=gateway&_docanchor=&md5=b8429449ccfc9c30159a5f9aeaa92ffb)
253. Witt MA, Katz PH, Witt DJ. Unexpectedly limited durability of immunity following acellular pertussis vaccination in preadolescents in a North American outbreak. *Clin Infect Dis* [Internet]. 15 de junio de 2012 [citado 13 de abril de 2018];54(12):1730-5. Disponible en: <https://academic.oup.com/cid/article-lookup/doi/10.1093/cid/cis287>
254. World Health Organization. Pertussis vaccines: WHO position paper. *Wkly Epidemiol Rec*. 2010;85(40):385-400.
255. Ministerio de Sanidad Servicios Sociales e Igualdad de España. Adenda. Actualización en «Revisión del programa de vacunación frente a tos ferina en España» [Internet]. 2015 [citado 13 de abril de 2018]. Disponible en: <http://www.msssi.gob.es/profesionales/saludPublica/prevPromocion/vacunaciones/docs/TosFerina.pdf>
256. Mertsola J, Van Der Meeren O, He Q, Linko-Parvinen A, Ramakrishnan G, Mannermaa L, et al. Decennial administration of a reduced antigen content diphtheria and tetanus toxoids and acellular pertussis vaccine in young adults. *Clin Infect Dis* [Internet]. 2010 [citado 13 de abril de 2018];51(6):656-62. Disponible en: [https://watermark.silverchair.com/51-6-656.pdf?token=AQECAHi208BE49Ooan9kKhW\\_Ercy7Dm3ZL\\_9Cf3qfKAc485ysgAAAzswgGXBgkqhkiG9w0BBwagggGIMIIBhAIBADCCAXOGCSqGS1b3DQEHATAeBgIghkgBZQMEAS4wEQQMbvapl8dlyCcCUWI6AgEQgIIBTsvQVnHonIMr7eW9rv\\_1aqyqG6VOvQR9LHVcADetIXsn0Y](https://watermark.silverchair.com/51-6-656.pdf?token=AQECAHi208BE49Ooan9kKhW_Ercy7Dm3ZL_9Cf3qfKAc485ysgAAAzswgGXBgkqhkiG9w0BBwagggGIMIIBhAIBADCCAXOGCSqGS1b3DQEHATAeBgIghkgBZQMEAS4wEQQMbvapl8dlyCcCUWI6AgEQgIIBTsvQVnHonIMr7eW9rv_1aqyqG6VOvQR9LHVcADetIXsn0Y)
257. Booy R, Van Der Meeren O, Ng SP, Celzo F, Ramakrishnan G, Jacquet JM. A decennial booster dose of reduced antigen content diphtheria, tetanus, acellular pertussis vaccine (Boostrix™) is immunogenic and well tolerated in adults. *Vaccine* [Internet]. 10 de diciembre de 2010 [citado 13 de abril de 2018];29(1):45-50. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0264410X10014945?via%3Dihub>
258. Ward A, Caro J, Bassinet L, Housset B, O'Brien JA, Guiso N. Health and economic

- consequences of an outbreak of pertussis among healthcare workers in a hospital in France. *Infect Control Hosp Epidemiol* [Internet]. 21 de marzo de 2005 [citado 23 de septiembre de 2018];26(3):288-92. Disponible en: [https://www.cambridge.org/core/product/identifiier/S0899823X00197843/type/journal\\_article](https://www.cambridge.org/core/product/identifiier/S0899823X00197843/type/journal_article)
259. Bassinet L, Matrat M, Njamkepo E, Aberrane S, Housset B, Guiso N. Nosocomial pertussis outbreak among adult patients and healthcare workers. *Infect Control Hosp Epidemiol* [Internet]. 2 de noviembre de 2004 [citado 23 de septiembre de 2018];25(11):995-7. Disponible en: [https://www.cambridge.org/core/product/identifiier/S0195941700081005/type/journal\\_article](https://www.cambridge.org/core/product/identifiier/S0195941700081005/type/journal_article)
260. Wright SW, Decker MD, Edwards KM. Incidence of pertussis infection in healthcare workers. *Infect Control Hosp Epidemiol* [Internet]. febrero de 1999 [citado 23 de septiembre de 2018];20(2):120-3. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10064216>
261. Calugar A, Ortega-Sánchez IR, Tiwari T, Oakes L, Jahre JA, Murphy T V. Nosocomial pertussis: costs of an outbreak and benefits of vaccinating health care workers. *Clin Infect Dis* [Internet]. 1 de abril de 2006 [citado 2 de julio de 2018];42(7):981-8. Disponible en: <https://academic.oup.com/cid/article-lookup/doi/10.1086/500321>
262. Ministerio de Sanidad Servicios Sociales e Igualdad de España. Recomendaciones de Vacunación en Adultos [Internet]. Documento Aprobado por la Comisión de Salud Pública, con fecha: 29 de septiembre de 2004. 2004. Disponible en: <http://www.msssi.gob.es/profesionales/saludPublica/prevPromocion/vacunaciones/recoVacunasAdultos.htm>
263. Ministerio de Sanidad Servicios Sociales e Igualdad de España. Vacunación en trabajadores sanitarios [Internet]. 2017 [citado 16 de abril de 2018]. Disponible en: [http://www.msssi.gob.es/profesionales/saludPublica/prevPromocion/vacunaciones/docs/Vacunacion\\_sanitarios.pdf](http://www.msssi.gob.es/profesionales/saludPublica/prevPromocion/vacunaciones/docs/Vacunacion_sanitarios.pdf)
264. Wood N, Siegrist CA. Neonatal immunization: where do we stand? *Curr Opin Infect Dis* [Internet]. junio de 2011 [citado 15 de abril de 2018];24(3):190-5. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21415741>

265. Wood N, McIntyre P, Marshall H, Robertson D. Acellular pertussis vaccine at birth and one month induces antibody responses by two months of age. *Pediatr Infect Dis J* [Internet]. marzo de 2010 [citado 15 de abril de 2018];29(3):209-15. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20009964>
266. Belloni C, De Silvestri A, Tinelli C, Avanzini MA, Marconi M, Strano F, et al. Immunogenicity of a three-component acellular pertussis vaccine administered at birth. *Pediatrics* [Internet]. 1 de mayo de 2003 [citado 15 de abril de 2018];111(5 Pt 1):1042-5. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12728086>
267. Knuf M, Schmitt HJ, Wolter J, Schuerman L, Jacquet JM, Kieninger D, et al. Neonatal vaccination with an acellular pertussis vaccine accelerates the acquisition of pertussis antibodies in infants. *J Pediatr* [Internet]. 1 de mayo de 2008 [citado 15 de abril de 2018];152(5):655-60, 660.e1. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18410769>
268. Halasa NB, O'Shea A, Shi JR, LaFleur BJ, Edwards KM. Poor immune responses to a birth dose of diphtheria, tetanus, and acellular pertussis vaccine. *J Pediatr* [Internet]. 2008 [citado 15 de abril de 2018];153(3):327-32. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3773719/pdf/nihms504863.pdf>
269. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Updated recommendations for use of tetanus toxoid, reduced diphtheria toxoid, and acellular pertussis vaccine (Tdap) in pregnant women--Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP), 2012. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* [Internet]. 22 de febrero de 2013 [citado 16 de abril de 2018];62(7):131-5. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23425962>
270. Committee on Obstetric Practice, Immunization and Emerging Infections Expert Work Group. Committee Opinion No. 718: update on immunization and pregnancy: tetanus, diphtheria, and pertussis vaccination. *Obstet Gynecol* [Internet]. 2017 [citado 16 de abril de 2018];130(3):e153–e157. Disponible en: <https://www.acog.org/-/media/Committee-Opinions/Committee-on-Obstetric-Practice/co718.pdf?dmc=1&ts=20180416T0807426825>
271. Public Health England. Vaccination against pertussis for pregnant women [Internet]. 2014 [citado 16 de abril de 2018]. Disponible en: <https://www.gov.uk/government/publications/vaccination-against-pertussis->

whooping-cough-for-pregnant-women

272. Amirthalingam G, Andrews N, Campbell H, Ribeiro S, Kara E, Donegan K, et al. Effectiveness of maternal pertussis vaccination in England: an observational study. *Lancet* [Internet]. 25 de octubre de 2014 [citado 16 de abril de 2018];384(9953):1521-8. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25037990>
273. Donegan K, King B, Bryan P. Safety of pertussis vaccination in pregnant women in UK: observational study. *BMJ* [Internet]. 11 de julio de 2014 [citado 16 de abril de 2018];349:g4219. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25015137>
274. Eberhardt CS, Blanchard-Rohner G, Lemaître B, Boukrid M, Combescure C, Othenin-Girard V, et al. Maternal immunization earlier in pregnancy maximizes antibody transfer and expected infant seropositivity against pertussis. *Clin Infect Dis*. 1 de abril de 2016;62(7):829-36.
275. Janagaraj PD, Gurusamy PSR, Webby R. Current antenatal pertussis vaccination guidelines miss preterm infants: an epidemiological study from the Northern Territory. *Aust New Zeal J Obstet Gynaecol*. 2019;59(3):436-43.
276. Lumbreras Areta M, Eberhardt CS, Siegrist CA, Martinez de Tejada B. Antenatal vaccination to decrease pertussis in infants: safety, effectiveness, timing, and implementation. *J Matern Neonatal Med* [Internet]. 2019;32(9):1541-6. Disponible en: <https://doi.org/10.1080/14767058.2017.1406475>
277. Vaz-de-Lima LRA, Sato HK, Fernandes EG, Sato APS, Pawloski LC, Tondella ML, et al. Association between the timing of maternal vaccination and newborns' anti-pertussis toxin antibody levels. *Vaccine*. 2019;37(36):5474-80.
278. Van Savage J, Decker MD, Edwards KM, Sell SH, Karzon DT. Natural history of pertussis antibody in the infant and effect on vaccine response. *J Infect Dis* [Internet]. marzo de 1990 [citado 23 de septiembre de 2018];161(3):487-92. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2313127>
279. Blain AE, Lewis M, Banerjee E, Kudish K, Liko J, McGuire S, et al. An assessment of the cocooning strategy for preventing infant pertussis-United States, 2011. *Clin Infect Dis* [Internet]. 1 de diciembre de 2016 [citado 16 de abril de 2018];63(suppl 4):S221-6.

- Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27838676>
280. Healy CM, Rench MA, Wootton SH, Castagnini LA. Evaluation of the impact of a pertussis cocooning program on infant pertussis infection. *Pediatr Infect Dis J* [Internet]. enero de 2015 [citado 16 de abril de 2018];34(1):22-6. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24992123>
281. Meregaglia M, Ferrara L, Melegaro A, Demicheli V. Parent «cocoon» immunization to prevent pertussis-related hospitalization in infants: the case of Piemonte in Italy. *Vaccine* [Internet]. 6 de febrero de 2013 [citado 14 de junio de 2018];31(8):1135-7. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0264410X12018488?via%3Dihub>
282. Skowronski DM, Janjua NZ, Tsafack EP, Ouakki M, Hoang L, De Serres G. The number needed to vaccinate to prevent infant pertussis hospitalization and death through parent cocoon immunization. *Clin Infect Dis* [Internet]. 1 de febrero de 2012 [citado 14 de junio de 2018];54(3):318-27. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22156850>
283. Movilidad y Ordenación del Territorio. Infraestructura de Datos Espaciales de Gipuzkoa [Internet]. 2017 [citado 26 de noviembre de 2017]. Disponible en: <http://www.gipuzkoa.eus/es/-/mugikortasuna-eta-lurralde-antolaketa>
284. Euskalmet. Agencia Vasca de Meteorología. Dirección de Atención de Emergencias y Meteorología. Clasificación de territorios climáticos [Internet]. 2011 [citado 26 de noviembre de 2017]. Disponible en: [http://www.euskalmet.euskadi.eus/s07-5921/es/contenidos/informacion/cla\\_clasificacion/es\\_7264/es\\_clasificacion.html](http://www.euskalmet.euskadi.eus/s07-5921/es/contenidos/informacion/cla_clasificacion/es_7264/es_clasificacion.html)
285. Eustat. Instituto Vasco de Estadística. Población estimada de la C.A. de Euskadi a 1 de enero, según territorio histórico y sexo. 1976-2017 [Internet]. 2017 [citado 26 de noviembre de 2017]. Disponible en: [http://es.eustat.eus/elementos/ele0011400/Poblacion\\_estimada\\_de\\_la\\_C\\_A\\_de\\_Euskadi\\_a\\_1\\_de\\_enero\\_segun\\_territorio\\_historico\\_ysexo/tbl0011431\\_c.html](http://es.eustat.eus/elementos/ele0011400/Poblacion_estimada_de_la_C_A_de_Euskadi_a_1_de_enero_segun_territorio_historico_ysexo/tbl0011431_c.html)
286. Azagra Ros J, Chorén Rodríguez P. La localización de la población española sobre el territorio. Un siglo de cambios. Un estudio basado en series homogéneas (1900-2001). Primera ed. Mas Ivars M, Goerlich Gisbert FJ, editores. Cuadernos Fundación BBVA.

- Fundación BBVA; 2006. 534 p.
287. Instituto Nacional de Estadística (INE). Población por provincias [Internet]. Madrid. 2011 [citado 27 de noviembre de 2017]. Disponible en: <http://www.ine.es/welcome.shtml>
288. Osakidetza. Servicio Vasco de Salud. Organización del área de salud de Gipuzkoa. 2008 [citado 27 de noviembre de 2017]; Disponible en: [http://www.osakidetza.euskadi.eus/r85-ckcent11/es/contenidos/informacion/nuestros\\_centros/es\\_nc/nuestros\\_centros.html](http://www.osakidetza.euskadi.eus/r85-ckcent11/es/contenidos/informacion/nuestros_centros/es_nc/nuestros_centros.html)
289. Eustat. Instituto Vasco de Estadística. Consultas por territorio, categoría y periodo [Internet]. [citado 29 de noviembre de 2017]. Disponible en: [http://www.eustat.eus/bankupx/pxweb/es/spanish/-/PX\\_3719\\_eh\\_aa01.px#axzz4zocpsK3R](http://www.eustat.eus/bankupx/pxweb/es/spanish/-/PX_3719_eh_aa01.px#axzz4zocpsK3R)
290. Servicio de Microbiología. Hospital Donostia. Protocolo de toma y transporte de muestras para microbiología. 2012 [citado 21 de noviembre de 2017];21-2. Disponible en: [https://www.osakidetza.euskadi.eus/contenidos/informacion/hd\\_publicaciones/eu\\_hd\\_on/adjuntos/Protocolo42MuestrasMicrobiologia.pdf](https://www.osakidetza.euskadi.eus/contenidos/informacion/hd_publicaciones/eu_hd_on/adjuntos/Protocolo42MuestrasMicrobiologia.pdf)
291. Kösters K, Reischl U, Schmetz J, Riffelmann M, Wirsing von König CH. Real-time LightCycler PCR for detection and discrimination of *Bordetella pertussis* and *Bordetella parapertussis*. *J Clin Microbiol* [Internet]. mayo de 2002 [citado 16 de septiembre de 2018];40(5):1719-22. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11980949>
292. Pittet LF, Emonet S, François P, Bonetti EJ, Schrenzel J, Hug M, et al. Diagnosis of whooping cough in Switzerland: Differentiating *Bordetella pertussis* from *Bordetella holmesii* by polymerase chain reaction. *PLoS One* [Internet]. febrero de 2014 [citado 16 de septiembre de 2018];9(2):e88936. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24586447>
293. Fernández Sarabia J, García Rodríguez VE. Apnea neonatal y su implicación en el síndrome de muerte súbita del lactante. En: Asociación Española de Pediatría, editor. Libro blanco de la muerte súbita infantil [Internet]. Tercera ed. Madrid; 2013. p. 95-103. Disponible en:

- [http://www.aeped.es/sites/default/files/documentos/libro\\_blanco\\_muerte\\_subita\\_3ed\\_1382444701.pdf](http://www.aeped.es/sites/default/files/documentos/libro_blanco_muerte_subita_3ed_1382444701.pdf)
294. Cansino Campuzano Á. Bronquitis y bronquiolitis. *Pediatría Integr* [Internet]. 2012 [citado 3 de diciembre de 2017];16(1):37-44. Disponible en: <http://www.pediatriaintegral.es/numeros-anteriores/publicacion-2012-01/bronquitis-y-bronquiolitis/>
295. Sánchez Luna M, Moreno Hernando J, Botet Mussons F, Fernández Lorenzo JR, Herranz Carrillo G, Rite Gracia S, et al. Displasia broncopulmonar: definiciones y clasificación. *An Pediatr* [Internet]. 1 de octubre de 2013 [citado 3 de diciembre de 2017];79(4):262.e1-262.e6. Disponible en: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1695403313000751>
296. Ibero Iborra M, Escribano Montaner A, Sirvent Gómez J, García Hernández G, Martínez Gimeno A, Fernández Benítez M. Protocolos diagnósticos en asma bronquial. En: López Guzmán V, editor. *Protocolos Diagnósticos y Terapéuticos en Pediatría* [Internet]. Primera Ed. Lima (Perú); 2017 [citado 3 de diciembre de 2017]. p. 171-86. Disponible en: <https://www.aeped.es/sites/default/files/documentos/diagnostico-asma-aep.pdf>
297. Rellan Rodríguez S, García de Ribera C, Aragón Garcia MP. El recién nacido prematuro. En: Asociación Española de Pediatría, editor. *Protocolos Diagnóstico Terapéuticos de la AEP: Neonatología* [Internet]. 2008 [citado 3 de diciembre de 2017]. p. 68-77. Disponible en: [https://www.aeped.es/sites/default/files/documentos/8\\_1.pdf](https://www.aeped.es/sites/default/files/documentos/8_1.pdf)
298. Fisman DN, Tang P, Hauck T, Richardson S, Drews SJ, Low DE, et al. Pertussis resurgence in Toronto, Canada: a population-based study including test-incidence feedback modeling. *BMC Public Health* [Internet]. 7 de diciembre de 2011 [citado 30 de octubre de 2018];11(1):694. Disponible en: <http://bmcpublihealth.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2458-11-694>
299. Zomer A, Otsuka N, Hiramatsu Y, Kamachi K, Nishimura N, Ozaki T, et al. Bordetella pertussis population dynamics and phylogeny in Japan after adoption of acellular pertussis vaccines. *Microb Genomics* [Internet]. 2018 [citado 22 de octubre de 2018];4(5):e000180. Disponible en: [www.ebi.ac.uk/](http://www.ebi.ac.uk/)
300. Hegerle N, Paris AS, Brun D, Dore G, Njamkepo E, Guillot S, et al. Evolution of French Bordetella pertussis and Bordetella parapertussis isolates: increase of Bordetellae not

- expressing pertactin. *Clin Microbiol Infect* [Internet]. 2012 [citado 22 de octubre de 2018];18(9):E340–E346. Disponible en: [https://www.clinicalmicrobiologyandinfection.com/article/S1198-743X\(14\)61050-8/pdf](https://www.clinicalmicrobiologyandinfection.com/article/S1198-743X(14)61050-8/pdf)
301. Sealey KL, Harris SR, Fry NK, Hurst LD, Gorringe AR, Parkhill J, et al. Genomic analysis of isolates from the United Kingdom 2012 pertussis outbreak reveals that vaccine antigen genes are unusually fast evolving. *J Infect Dis* [Internet]. 2015 [citado 22 de octubre de 2018];212(2):294-301. Disponible en: <http://www.sanger.ac.uk/resources/software/smalt/>
302. Shuel M, Jamieson FB, Tang P, Brown S, Farrell D, Martin I, et al. Genetic analysis of *Bordetella pertussis* in Ontario, Canada reveals one predominant clone. *Int J Infect Dis* [Internet]. junio de 2013 [citado 22 de octubre de 2018];17(6):e413-7. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1201971213000179>
303. Loconsole D, De Robertis AL, Morea A, Metallo A, Lopalco PL, Chironna M. Resurgence of pertussis and emergence of the Ptxp3 toxin promoter allele in South Italy. *Pediatr Infect Dis J* [Internet]. mayo de 2018 [citado 22 de octubre de 2018];37(5):e126-31. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28945679>
304. Octavia S, Sintchenko V, Gilbert GL, Lawrence A, Keil AD, Hogg G, et al. Newly emerging clones of *Bordetella pertussis* carrying prn2 and ptxP3 alleles implicated in Australian pertussis epidemic in 2008-2010. *J Infect Dis* [Internet]. 2012 [citado 22 de octubre de 2018];205(8):1220-4. Disponible en: <http://www.mlva.net>
305. Xu Z, Octavia S, Luu LD, Payne M, Timms V, Tay CY, et al. Pertactin-negative and filamentous hemagglutinin-negative *Bordetella pertussis*, Australia, 2013-2017. *Emerg Infect Dis*. 1 de junio de 2019;25(6):1196-9.
306. Vodzak J, Queenan AM, Souder E, Evangelista AT, Long SS. Clinical manifestations and molecular characterization of pertactin-deficient and pertactin-producing *Bordetella pertussis* in children, Philadelphia 2007-2014. *Clin Infect Dis* [Internet]. 2017 [citado 22 de octubre de 2018];64(1):60-6. Disponible en: <https://academic.oup.com/cid/article-abstract/64/1/60/2496607>
307. Safarchi A, Octavia S, Luu LD, Tay CY, Sintchenko V, Wood N, et al. Pertactin negative *Bordetella pertussis* demonstrates higher fitness under vaccine selection pressure in a

- mixed infection model. *Vaccine* [Internet]. 2015 [citado 22 de octubre de 2018];33(46):6277-81. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.vaccine.2015.09.064>
308. Martin SW, Pawloski L, Williams M, Weening K, Debolt C, Qin X, et al. Pertactin-negative bordetella pertussis strains: evidence for a possible selective advantage. *Clin Infect Dis* [Internet]. 2015 [citado 22 de octubre de 2018];60(2):223-7. Disponible en: <https://academic.oup.com/cid/article-abstract/60/2/223/2895696>
309. Mir-Cros A, Moreno-Mingorance A, Martín-Gómez MT, Codina G, Cornejo-Sánchez T, Rajadell M, et al. Population dynamics and antigenic drift of *Bordetella pertussis* following whole cell vaccine replacement, Barcelona, Spain, 1986–2015. *Emerg Microbes Infect* [Internet]. 1 de enero de 2019 [citado 21 de enero de 2020];8(1):1711-20. Disponible en: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/22221751.2019.1694395>
310. Hiramatsu Y, Miyaji Y, Otsuka N, Arakawa Y, Shibayama K, Kamachi K. Significant decrease in pertactin-deficient *Bordetella pertussis* isolates, Japan. *Emerg Infect Dis*. 2017;23(4):699-701.
311. Lam C, Octavia S, Ricafort L, Sintchenko V, Gilbert GL, Wood N, et al. Rapid increase in pertactin-deficient *Bordetella pertussis* isolates, Australia. *Emerg Infect Dis*. 2014;20(4):626-33.
312. Shuel M, Lefebvre B, Whyte K, Hayden K, De Serres G, Brousseau N, et al. Antigenic and genetic characterization of *Bordetella pertussis* recovered from Quebec, Canada, 2002–2014: detection of a genetic shift. *Can J Microbiol* [Internet]. mayo de 2016 [citado 22 de octubre de 2018];62(5):437-41. Disponible en: <http://www.nrcresearchpress.com/doi/10.1139/cjm-2015-0781>
313. He Q, Mertsola J. Factors contributing to pertussis resurgence. *Future Microbiol* [Internet]. junio de 2008 [citado 22 de octubre de 2018];3(3):329-39. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18505398>
314. Esposito S, Stefanelli P, Fry NK, Fedele G, He Q, Paterson P, et al. Pertussis prevention: Reasons for resurgence, and differences in the current acellular pertussis vaccines. *Front Immunol*. 2019;10(JUL).

315. Warfel JM, Zimmerman LI, Merkel TJ. Comparison of three whole-cell pertussis vaccines in the baboon model of pertussis. *Clin Vaccine Immunol* [Internet]. 2015 [citado 23 de octubre de 2018];23(1):47-54. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4711092/pdf/zcd47.pdf>
316. Acosta AM, DeBolt C, Tasslimi A, Lewis M, Stewart LK, Misegades LK, et al. Tdap vaccine effectiveness in adolescents during the 2012 Washington State pertussis epidemic. *Pediatrics* [Internet]. 1 de junio de 2015 [citado 23 de octubre de 2018];135(6):981-9. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25941309>
317. Kapil P, Merkel TJ. Pertussis vaccines and protective immunity. *Curr Opin Immunol*. 2019;59:72-8.
318. Crowcroft NS, Schwartz KL, Chen C, Johnson C, Li Y, Marchand-Austin A, et al. Pertussis vaccine effectiveness in a frequency matched population-based case-control Canadian Immunization Research Network study in Ontario, Canada 2009–2015. *Vaccine*. 2019;37(19):2617-23.
319. de Viarce Torres de Mier M, López-Perea N, Masa Calles J, Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica (RENAVE). Situación de la tos ferina en España, 1998-2016. Análisis preliminar del impacto de la vacunación de tos ferina en embarazadas. *Boletín Epidemiológico Sem* [Internet]. 2018 [citado 8 de junio de 2018];26(4):43-53. Disponible en: [http://www.isciii.es/ISCIII/es/contenidos/fd-servicios-cientifico-tecnicos/fd-vigilancias-alertas/fd-enfermedades/fd-enfermedades-prevenibles-vacunacion/pdf\\_2018/Situacion\\_de\\_la\\_Tos\\_ferina\\_en\\_Espana\\_1998-2016.pdf](http://www.isciii.es/ISCIII/es/contenidos/fd-servicios-cientifico-tecnicos/fd-vigilancias-alertas/fd-enfermedades/fd-enfermedades-prevenibles-vacunacion/pdf_2018/Situacion_de_la_Tos_ferina_en_Espana_1998-2016.pdf)
320. Aristimuño H, Muga O, Cilla G, Piñeiro L, Zapico MS, Pérez-Yarza EG. Tos ferina en el primer año de vida en una región con elevada cobertura vacunal. *An Pediatr* [Internet]. 1 de septiembre de 2011 [citado 23 de octubre de 2018];75(3):194-8. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1695403311001937>
321. Dirección de Salud Pública y Servicios de Microbiología de Osakidetza. Departamento de Sanidad y Consumo. Gobierno Vasco. I Encuesta de seroprevalencia de la Comunidad Autónoma del País Vasco [Internet]. 2011 [citado 21 de enero de 2020]. 100 p. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/279528636\\_I\\_Encuesta\\_de\\_Seroprevalencia\\_en\\_la\\_Comunidad\\_Autonoma\\_del\\_Pais\\_Vasco\\_DL\\_BI-3364-2011](https://www.researchgate.net/publication/279528636_I_Encuesta_de_Seroprevalencia_en_la_Comunidad_Autonoma_del_Pais_Vasco_DL_BI-3364-2011)

322. Vera I, García-Comas L, Ordobás M, Gutiérrez A, Sanz JC, Barranco D. Incidence trends in pertussis in the Autonomous Region of Madrid, Spain: 1982-2005. *Euro Surveill* [Internet]. 1 de septiembre de 2007 [citado 23 de octubre de 2018];12(9):E7-8. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17991417>
323. Crespo I, Broner S, Soldevila N, Martínez A, Godoy P, Sala-Farré MR, et al. Characteristics of pertussis outbreaks in Catalonia, Spain, 1997 to 2010. *Hum Vaccines Immunother* [Internet]. 2015 [citado 23 de octubre de 2018];11(1):231-5. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25483541>
324. Departamento de Sanidad y Consumo. Gobierno Vasco. Informe de vigilancia epidemiológica de Gipuzkoa [Internet]. 2017 [citado 20 de enero de 2020]. Disponible en: <https://www.euskadi.eus/informacion/vigilancia-de-enfermedades-transmisibles//web01-a2gaixo/es/>
325. Centro Nacional de Epidemiología. CIBER Epidemiología y Salud Pública (CIBERESP). Instituto de Salud Carlos III. Enfermedades de Declaración Obligatoria. Casos notificados por Comunidades Autónomas y tasas por 100.000 habitantes. España 2018. 2019.
326. Latasa P, García-Comas L, Gil de Miguel A, Barranco MD, Rodero I, Sanz JC, et al. Effectiveness of acellular pertussis vaccine and evolution of pertussis incidence in the community of Madrid from 1998 to 2015. *Vaccine* [Internet]. 14 de marzo de 2018 [citado 26 de octubre de 2018];36(12):1643-9. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0264410X18301439>
327. Sizaire V, Garrido-Esteba M, Masa-Calles J, Martínez de Aragón M V. Increase of pertussis incidence in 2010 to 2012 after 12 years of low circulation in Spain. *Eurosurveillance* [Internet]. 14 de agosto de 2014 [citado 26 de octubre de 2018];19(32):20875. Disponible en: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=20875>
328. Solano R, Crespo I, Fernández MI, Valero C, Álvarez MI, Godoy P, et al. Underdetection and underreporting of pertussis in children attended in primary health care centers: Do surveillance systems require improvement? *Am J Infect Control* [Internet]. 1 de noviembre de 2016 [citado 26 de octubre de 2018];44(11):e251-6. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0196655316301730>

329. Moraga F, Roca J, Méndez C, Rodrigo C, Pineda V, Martínez A, et al. Epidemiology and surveillance of pertussis among infants in Catalonia, Spain, during 1997-2001. *Pediatr Infect Dis J* [Internet]. junio de 2005 [citado 9 de junio de 2018];24(6):510-3. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15933560>
330. Domínguez A, Godoy P, Toledo D, Soldevila N, García-Cenoz M, Farrús G, et al. Importance of enhanced surveillance for prevention of pertussis in children. *Pediatr Infect Dis J* [Internet]. julio de 2015 [citado 26 de octubre de 2018];34(7):729-33. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25860533>
331. Fernández-Cano MI, Armadans Gil L, Martínez Gómez X, Campins Martí M. Incidence of whooping cough in Spain (1997-2010): an underreported disease. *Eur J Pediatr* [Internet]. 11 de junio de 2014 [citado 26 de octubre de 2018];173(6):721-6. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/s00431-013-2228-8>
332. Skoff TH, Hadler S, Hariri S. The epidemiology of nationally reported pertussis in the United States, 2000–2016. *Clin Infect Dis* [Internet]. 30 de agosto de 2019 [citado 26 de octubre de 2018];68(10):1634–1640. Disponible en: <https://academic.oup.com/cid/advance-article/doi/10.1093/cid/ciy757/5087840>
333. Liu XC, Bell CA, Simmonds KA, Svenson LW, Fathima S, Drews SJ, et al. Epidemiology of pertussis in Alberta, Canada 2004-2015. *BMC Public Health* [Internet]. 2 de diciembre de 2017 [citado 29 de enero de 2019];17(1):539. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28577558>
334. Pillsbury A, Quinn HE, McIntyre PB. Australian vaccine preventable disease epidemiological review series: pertussis, 2006-2012. *Commun Dis Intell Q Rep* [Internet]. 2014 [citado 26 de octubre de 2018];38(3):E179-94. Disponible en: <http://www.health.gov.au/internet/main/publishing.nsf/Content/cda-cdi3803b.htm>
335. European Centre for Disease Prevention and Control. Pertussis. En: ECDC, editor. *Annual epidemiological report for 2014* [Internet]. Stockholm: ECDC; 2016 [citado 26 de octubre de 2018]. Disponible en: [www.ecdc.europa.eu](http://www.ecdc.europa.eu)
336. Jackson DW, Rohani P. Perplexities of pertussis: recent global epidemiological trends and their potential causes. *Epidemiol Infect* [Internet]. 16 de abril de 2014 [citado 26 de octubre de 2018];142(4):672-84. Disponible en: <https://doi.org/10.1017/S0950268813001811>

- [http://www.journals.cambridge.org/abstract\\_S0950268812003093](http://www.journals.cambridge.org/abstract_S0950268812003093)
337. Palazzo R, Carollo M, Fedele G, Rizzo C, Rota MC, Giammanco A, et al. Evidence of increased circulation of *Bordetella pertussis* in the Italian adult population from seroprevalence data (2012-2013). *J Med Microbiol* [Internet]. 1 de julio de 2016 [citado 26 de octubre de 2018];65(7):649-57. Disponible en: <http://www.microbiologyresearch.org/content/journal/jmm/10.1099/jmm.0.000264>
338. Zhang Y, Bambrick H, Mengersen K, Tong S, Feng L, Zhang L, et al. Resurgence of pertussis infections in Shandong, China: space-time cluster and trend analysis. *Am J Trop Med Hyg*. 2019;100(6):1342-54.
339. Chiappini E, Berti E, Sollai S, Orlandini E, Galli L, De Martino M. Dramatic pertussis resurgence in Tuscan infants in 2014. *Pediatr Infect Dis J* [Internet]. agosto de 2016 [citado 26 de octubre de 2018];35(8):930-1. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27416012>
340. Tan T, Dalby T, Forsyth K, Halperin SA, Heininger U, Hozbor D, et al. Pertussis across the globe: recent epidemiologic trends from 2000 to 2013. *Pediatr Infect Dis J* [Internet]. septiembre de 2015 [citado 26 de octubre de 2018];34(9):e222-32. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26376316>
341. Moraga-Llop FA, Mendoza-Palomar N, Muntaner-Alonso A, Codina-Grau G, Fàbregas-Martori A, Campins-Martí M. Tos ferina en lactantes y niños bien vacunados. ¿son necesarias nuevas estrategias de vacunación? *Enferm Infecc Microbiol Clin* [Internet]. abril de 2014 [citado 9 de junio de 2018];32(4):236-41. Disponible en: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0213005X13001249>
342. Barlow RS, Reynolds LE, Cieslak PR, Sullivan AD. Vaccinated children and adolescents with pertussis infections experience reduced illness severity and duration, Oregon, 2010-2012. *Clin Infect Dis* [Internet]. 1 de junio de 2014 [citado 19 de junio de 2018];58(11):1523-9. Disponible en: <https://academic.oup.com/cid/article-lookup/doi/10.1093/cid/ciu156>
343. McGuinness CB, Hill J, Fonseca E, Hess G, Hitchcock W, Krishnarajah G. The disease burden of pertussis in adults 50 years old and older in the United States: a retrospective study. *BMC Infect Dis* [Internet]. 23 de diciembre de 2013 [citado 18 de junio de

- 2018];13:32. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23343438>
344. Kretzschmar M, Teunis PF, Pebody RG. Incidence and reproduction numbers of pertussis: estimates from serological and social contact data in five European countries. Murray M, editor. *PLoS Med* [Internet]. 22 de junio de 2010 [citado 18 de junio de 2018];7(6):e1000291. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20585374>
345. Masseria C, Krishnarajah G. The estimated incidence of pertussis in people aged 50 years old in the United States, 2006-2010. *BMC Infect Dis* [Internet]. 19 de noviembre de 2015 [citado 18 de junio de 2018];15:534. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26584525>
346. Tozzi AE, Pandolfi E, Celentano LP, Massari M, Salmaso S, Atti MLC degli, et al. Comparison of pertussis surveillance systems in Europe. *Vaccine* [Internet]. 2007 [citado 16 de julio de 2018];25(2):291-7. Disponible en: [https://ac.els-cdn.com/S0264410X06008929/1-s2.0-S0264410X06008929-main.pdf?\\_tid=0c0f46ae-48df-4b0c-b5a5-93c4ff8724c3&acdnat=1531739819\\_d5814b36e3cb14e6a27a5cf96624159c](https://ac.els-cdn.com/S0264410X06008929/1-s2.0-S0264410X06008929-main.pdf?_tid=0c0f46ae-48df-4b0c-b5a5-93c4ff8724c3&acdnat=1531739819_d5814b36e3cb14e6a27a5cf96624159c)
347. Cortese MM, Baughman AL, Zhang R, Srivastava PU, Wallace GS. Pertussis hospitalizations among infants in the United States, 1993 to 2004. *Pediatrics* [Internet]. 1 de marzo de 2008 [citado 16 de julio de 2018];121(3):484-92. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18310196>
348. Masseria C, Martin CK, Krishnarajah G, Becker LK, Buikema A, Tan TQ. Incidence and burden of pertussis among infants less than 1 year of age. *Pediatr Infect Dis J* [Internet]. marzo de 2017 [citado 2 de julio de 2018];36(3):e54-61. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27902648>
349. Cherry JD. Adult pertussis in the pre-and post-vaccine eras: lifelong vaccine-induced immunity? *Expert Rev Vaccines*. 2014;13(9):1073-80.
350. Fales WT. The age distribution of whooping cough, measles, chicken pox, scarlet fever and diphtheria in various areas in the United States. *Am J Epidemiol* [Internet]. septiembre de 1928 [citado 5 de febrero de 2020];8(5):759-99. Disponible en: <https://academic.oup.com/aje/article-lookup/doi/10.1093/oxfordjournals.aje.a121027>

351. Cherry JD. The epidemiology of pertussis and pertussis immunization in the United Kingdom and the United State: a comparative study. *Curr Probl Pediatr*. 1984;14(2):1-78.
352. Gordon JE, Hood RI. Whooping cough and its epidemiological anomalies. *Am J Med Sci*. 1951;222(3):333-61.
353. Centro Nacional de Epidemiología. CIBER Epidemiología y Salud Pública (CIBERESP). Instituto de Salud Carlos III. Resultados de la vigilancia epidemiológica de las enfermedades transmisibles. Informe anual 2012. 2014 [citado 10 de junio de 2018]; Disponible en: [http://www.isciii.es/ISCIII/es/contenidos/fd-servicios-cientifico-tecnicos/fd-vigilancias-alertas/fd-enfermedades/RENAVE\\_INFORME\\_ANUAL\\_2012.pdf](http://www.isciii.es/ISCIII/es/contenidos/fd-servicios-cientifico-tecnicos/fd-vigilancias-alertas/fd-enfermedades/RENAVE_INFORME_ANUAL_2012.pdf)
354. Centro Nacional de Epidemiología. CIBER Epidemiología y Salud Pública (CIBERESP). Instituto de Salud Carlos III. Resultados de la vigilancia epidemiológica de las enfermedades transmisibles. Informe anual 2015. 2017 [citado 8 de junio de 2018];39-40. Disponible en: [http://www.isciii.es/ISCIII/es/contenidos/fd-servicios-cientifico-tecnicos/fd-vigilancias-alertas/fd-enfermedades/RENAVE\\_INFORME\\_ANUAL2015.pdf](http://www.isciii.es/ISCIII/es/contenidos/fd-servicios-cientifico-tecnicos/fd-vigilancias-alertas/fd-enfermedades/RENAVE_INFORME_ANUAL2015.pdf)
355. vom Steeg LG, Klein SL. SeXX matters in infectious disease pathogenesis. *PLoS Pathog* [Internet]. 2016 [citado 12 de julio de 2018];12(2):e1005374. Disponible en: <http://dx.plos.org/10.1371/journal.ppat.1005374>
356. Klein SL, Flanagan KL. Sex differences in immune responses. *Nat Rev Immunol* [Internet]. 2016 [citado 12 de julio de 2018];16(10):626-38. Disponible en: <https://www.nature.com/articles/nri.2016.90.pdf>
357. Taneja V. Sex hormones determine immune response. *Front Immunol* [Internet]. 27 de agosto de 2018 [citado 29 de enero de 2019];9:1931. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30210492>
358. Crespo I, Soldevila N, Muñoz P, Godoy P, Carmona G, Domínguez A. Geographical differences in whooping cough in Catalonia, Spain, from 1990 to 2010. *BMC Public Health* [Internet]. 2014 [citado 10 de junio de 2018];14:268. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3999989/pdf/1471-2458-14-268.pdf>
359. Shrum S, Galbraith R, Bargsten M. Epidemiologic and social determinants of Bordetella

- pertussis infection in New Mexic. *New Mex Epidemiol Rep* [Internet]. 2016 [citado 18 de junio de 2018];2016(11):1-4. Disponible en: <https://nmhealth.org/data/view/report/1951/>
360. Vickers D, Mainar-Jaime RC, Pahwa P. Pertussis in rural populations of Saskatchewan (1995 to 2003): Incidence, seasonality, and differences among cases. *Can J Public Heal* [Internet]. 2006 [citado 18 de junio de 2018];97(6):459-64. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17203725>
361. Mahmud AS, Metcalf CJ, Grenfell BT. Comparative dynamics, seasonality in transmission, and predictability of childhood infections in Mexico. *Epidemiol Infect* [Internet]. 22 de febrero de 2017 [citado 29 de enero de 2019];145(3):607-25. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27873563>
362. Skowronski DM, De Serres G, MacDonald D, Wu W, Shaw C, Macnabb J, et al. The changing age and seasonal profile of pertussis in Canada. *J Infect Dis* [Internet]. 15 de mayo de 2002 [citado 20 de junio de 2018];185(10):1448-53. Disponible en: <https://academic.oup.com/jid/article-lookup/doi/10.1086/340280>
363. Zeng Q, Li D, Huang G, Xia J, Wang X, Zhang Y, et al. Time series analysis of temporal trends in the pertussis incidence in Mainland China from 2005 to 2016. *Sci Rep* [Internet]. 31 de octubre de 2016 [citado 21 de junio de 2018];6:32367. Disponible en: <http://www.nature.com/articles/srep32367>
364. Bhatti MM, Rucinski SL, Schwab JJ, Cole NC, Gebrehiwot SA, Patel R. Eight-year review of *Bordetella pertussis* testing reveals seasonal pattern in the United States. *J Pediatric Infect Dis Soc* [Internet]. 29 de noviembre de 2017 [citado 21 de junio de 2018];6(1):91-3. Disponible en: <https://academic.oup.com/jpids/article-lookup/doi/10.1093/jpids/piv079>
365. Kaczmarek MC, Ware RS, Nimmo GR, Robson JM, Lambert SB. Pertussis seasonality evident in polymerase chain reaction and serological testing data, Queensland, Australia. *J Pediatric Infect Dis Soc* [Internet]. 1 de junio de 2016 [citado 21 de junio de 2018];5(2):215-7. Disponible en: <https://academic.oup.com/jpids/article-lookup/doi/10.1093/jpids/piu144>
366. Fine PE, Clarkson JA. Seasonal influences on pertussis. *Int J Epidemiol* [Internet]. 1 de

- junio de 1986 [citado 30 de octubre de 2018];15(2):237-47. Disponible en: <https://academic.oup.com/ije/article-lookup/doi/10.1093/ije/15.2.237>
367. De Greeff SC, Dekkers AL, Teunis P, Rahamat-Langendoen JC, Mooi FR, De Melker HE. Seasonal patterns in time series of pertussis. *Epidemiol Infect* [Internet]. 30 de octubre de 2009 [citado 21 de junio de 2018];137(10):1388-95. Disponible en: [http://www.journals.cambridge.org/abstract\\_S0950268809002489](http://www.journals.cambridge.org/abstract_S0950268809002489)
368. Celentano LP, Massari M, Paramatti D, Salmaso S, Tozzi AE, EUVAC-NET Group. Resurgence of pertussis in Europe. *Pediatr Infect Dis J* [Internet]. septiembre de 2005 [citado 16 de julio de 2018];24(9):761-5. Disponible en: <https://insights.ovid.com/crossref?an=00006454-200509000-00003>
369. García M, Campins M, Roca J, Moraga F, Baquero F, Gené A, et al. Bordetella pertussis infection in infants and their household contacts. En: 4th World Congress of the World Society for Pediatric Infectious Diseases (WSPID). Varsovia (Polonia); 2005.
370. Kowalzik F, Barbosa AP, Fernandes VR, Carvalho PR, Avila-Aguero ML, Goh DYT, et al. Prospective multinational study of pertussis infection in hospitalized infants and their household contacts. *Pediatr Infect Dis J* [Internet]. marzo de 2007 [citado 22 de junio de 2018];26(3):238-42. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17484221>
371. Godoy P, García-Cenoz M, Toledo D, Carmona G, Caylà JA, Alsedà M, et al. Factors influencing the spread of pertussis in households: a prospective study, Catalonia and Navarre, Spain, 2012 to 2013. *Eurosurveillance*. 2016;21(45):30393.
372. Wendelboe AM, Njamkepo E, Bourillon A, Floret DD, Gaudelus J, Gerber M, et al. Transmission of Bordetella pertussis to young infants. *Pediatr Infect Dis J* [Internet]. abril de 2007 [citado 22 de junio de 2018];26(4):293-9. Disponible en: <https://insights.ovid.com/crossref?an=00006454-200704000-00005>
373. de Greeff SC, Mooi FR, Westerhof A, Verbakel JMM, Peeters MF, Heuvelman CJ, et al. Pertussis disease burden in the household: how to protect young infants. *Clin Infect Dis* [Internet]. 15 de mayo de 2010 [citado 22 de junio de 2018];50(10):1339-45. Disponible en: <https://academic.oup.com/cid/article-lookup/doi/10.1086/652281>
374. Sotir MJ, Cappozzo DL, Warshauer DM, Schmidt CE, Monson TA, Berg JL, et al. A

- countywide outbreak of pertussis: initial transmission in a high school weight room with subsequent substantial impact on adolescents and adults. *Arch Pediatr Adolesc Med* [Internet]. 1 de enero de 2008 [citado 2 de julio de 2018];162(1):79-85. Disponible en: <http://archpedi.jamanetwork.com/article.aspx?doi=10.1001/archpediatrics.2007.7>
375. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). School-associated pertussis outbreak- Yavapai County, Arizona, September 2002-February 2003. *Weely Epidemiol Rec* [Internet]. 2004 [citado 2 de julio de 2018];53(10):216-9. Disponible en: <https://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm5310a4.htm>
376. Brennan M, Strebel P, George H, Yih WK, Tachdjian R, Lett SM, et al. Evidence for transmission of pertussis in schools, Massachusetts, 1996: epidemiologic data supported by pulsed-field gel electrophoresis studies. *J Infect Dis* [Internet]. 1 de enero de 2000 [citado 2 de julio de 2018];181(1):210-5. Disponible en: <https://academic.oup.com/jid/article-lookup/doi/10.1086/315192>
377. Harnden A, Grant C, Harrison T, Perera R, Brueggemann AB, Mayon-White R, et al. Whooping cough in school age children with persistent cough: prospective cohort study in primary care. *BMJ* [Internet]. 22 de julio de 2006 [citado 16 de julio de 2018];333(7560):174-7. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16829538>
378. De Serres G, Shadmani R, Duval B, Boulianne N, Dery P, Fradet MD, et al. Morbidity of pertussis in adolescents and adults. *J Infect Dis* [Internet]. 1 de julio de 2000 [citado 5 de noviembre de 2018];182(1):174-9. Disponible en: <https://academic.oup.com/jid/article-lookup/doi/10.1086/315648>
379. Horby P, Macintyre CR, McIntyre PB, Gilbert GL, Staff M, Hanlon M, et al. A boarding school outbreak of pertussis in adolescents: value of laboratory diagnostic methods. *Epidemiol Infect* [Internet]. abril de 2005 [citado 29 de enero de 2019];133(2):229-36. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15816147>
380. Schellekens J, von König CH, Gardner P. Pertussis sources of infection and routes of transmission in the vaccination era. *Pediatr Infect Dis J* [Internet]. mayo de 2005 [citado 2 de julio de 2018];24(5 suppl):S19-24. Disponible en: <https://insights.ovid.com/crossref?an=00006454-200505001-00004>

381. Gehanno JF, Pestel-Caron M, Nouvellon M, Caillard JF. Nosocomial pertussis in healthcare workers from a pediatric emergency unit in France. *Infect Control Hosp Epidemiol* [Internet]. 2 de agosto de 1999 [citado 2 de julio de 2018];20(8):549-52. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10466555>
382. Maltezou HC, Ftika L, Theodoridou M. Nosocomial pertussis in neonatal units. *J Hosp Infect* [Internet]. diciembre de 2013 [citado 29 de enero de 2019];85(4):243-8. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24156850>
383. Paterson JM, Sheppard V. Nosocomial pertussis infection of infants: still a risk in 2009. *Commun Dis Intell Q Rep* [Internet]. diciembre de 2010 [citado 29 de enero de 2019];34(4):440-3. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21413529>
384. Santesteban Otazu E, M<sup>a</sup> Latorre García P, Azpeitia García A, Loureiro González B, Marisela Madrid Aguilar I, Valls Soler A. Resultados de la asistencia neonatal de los muy prematuros en la red sanitaria del País Vasco [Internet]. Servicio Central de Publicaciones del Gobierno Vasco. Eusko Jaurlaritzaren Argitalpen Zerbitzu Nagusia., editor. Investigación Comisionada. Departamento de Salud. Gobierno Vasco. Vitoria; 2013 [citado 2 de julio de 2018]. Disponible en: [www.osakidetza.euskadi.net/osteba](http://www.osakidetza.euskadi.net/osteba)
385. Riise ØR, Laake I, Vestheim D, Flem E, Moster D, Bergsaker MAR, et al. Risk of pertussis in relation to degree of prematurity in children less than 2 years of age. *Pediatr Infect Dis J* [Internet]. mayo de 2017 [citado 2 de julio de 2018];36(5):e151-6. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28403056>
386. Zamir CS, Dahan DB, Shoob H. Pertussis in infants under one year old: risk markers and vaccination status- a case-control study. *Vaccine* [Internet]. 21 de abril de 2015 [citado 2 de julio de 2018];33(17):2073-8. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25728322>
387. Abu-Raya B, Bettinger JA, Vanderkooi OG, Vaudry W, Halperin SA, Sadarangani M, et al. Burden of children hospitalized with pertussis in Canada in the acellular pertussis vaccine era, 1999–2015. *J Pediatric Infect Dis Soc*. 2018;1-10.
388. Aronsson B, Florén CC, Greve-Isdahl M, Lindstrand A, Nøkleby H, Riise Ø, et al. Vaccination of preterm infants against pertussis and pneumococci immunogenicity, effectiveness and safety [Internet]. Norwegian Institute of Public Health. Oslo; 2018

- [citado 2 de julio de 2018]. Disponible en: [https://www.fhi.no/globalassets/dokumenterfiler/rapporter/vaksine/vaccination-of-preterm-infants-against-pertussis-and-pneumococci\\_web.pdf](https://www.fhi.no/globalassets/dokumenterfiler/rapporter/vaksine/vaccination-of-preterm-infants-against-pertussis-and-pneumococci_web.pdf)
389. Ministerio de Sanidad Servicios Sociales e Igualdad de España. Informe anual del Sistema Nacional de Salud, 2016 [Internet]. 2017 [citado 2 de julio de 2018]. Disponible en: <http://www.msssi.gob.es/estadEstudios/estadisticas/sisInfSanSNS/tablasEstadisticas/InfAnSNS.htm%0AN>
390. Blackwell DL, Collins JG, Coles R. Summary health statistics for U.S. adults: National Health Interview Survey, 1997. *Vital Heal Stat 10* [Internet]. mayo de 2002 [citado 2 de julio de 2018];(205):1-109. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15786607>
391. Kendirli SG, Yilmaz M, Bayram I, Altintas DU, Inal A, Karakoc G. Potential association between allergic diseases and pertussis infection in schoolchildren: results of two cross-sectional studies seven years apart. *Allergol Immunopathol (Madr)* [Internet]. febrero de 2009 [citado 2 de julio de 2018];37(1):21-5. Disponible en: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0301054609702472>
392. Capili CR, Hettinger A, Rigelman-Hedberg N, Fink L, Boyce T, Lahr B, et al. Increased risk of pertussis in patients with asthma. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 1 de abril de 2012 [citado 2 de julio de 2018];129(4):957-63. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0091674911018252>
393. Liu BC, McIntyre P, Kaldor JM, Quinn HE, Ridda I, Banks E. Pertussis in older adults: Prospective study of risk factors and morbidity. *Clin Infect Dis* [Internet]. 1 de diciembre de 2012 [citado 8 de noviembre de 2018];55(11):1450-6. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22806592>
394. Klemets P, Lyytikäinen O, Ruutu P, Ollgren J, Kaijalainen T, Leinonen M, et al. Risk of invasive pneumococcal infections among working age adults with asthma. *Thorax* [Internet]. 1 de agosto de 2010 [citado 2 de julio de 2018];65(8):698-702. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20685743>
395. Almirall J, Bolívar I, Serra-Prat M, Roig J, Hospital I, Carandell E, et al. New evidence of

- risk factors for community-acquired pneumonia: a population-based study. *Eur Respir J* [Internet]. 5 de marzo de 2008 [citado 2 de julio de 2018];31(6):1274-84. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18216057>
396. Mbayei SA, Faulkner A, Miner C, Edge K, Cruz V, Peña SA, et al. Severe pertussis infections in the United States, 2011-2015. *Clin Infect Dis*. 2019;69(2):218-26.
397. Buck PO, Meyers JL, Gordon LD, Parikh R, Kurosky SK, Davis KL. Economic burden of diagnosed pertussis among individuals with asthma or chronic obstructive pulmonary disease in the USA: an analysis of administrative claims. *Epidemiol Infect*. 2017;145(10):2109-21.
398. Pongiglione G, Possidoni A, di Luzio Papparatti U, Costanzo AM, Gualberti G, Bonvicini M, et al. Incidence of respiratory disease during the first two years of life in children with hemodynamically significant congenital heart disease in Italy: a retrospective study. *Pediatr Cardiol* [Internet]. 29 de diciembre de 2016 [citado 29 de enero de 2019];37(8):1581-9. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27573216>
399. Torres J, Godoy P, Artigues A, Codina G, Bach P, Mdol I, et al. Brote de tos ferina con elevada tasa de ataque en niños y adolescentes bien vacunados. *Enferm Infecc Microbiol Clin* [Internet]. octubre de 2011 [citado 29 de enero de 2019];29(8):564-7. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21775027>
400. Míguez Santiyán A, Ferrer Estrems R, Chover Lara JL, Alberola Enguídanos J, Nogueira Coito JM, Salazar Cifre A. Early intervention in pertussis outbreak with high attack rate in cohort of adolescents with complete acellular pertussis vaccination in Valencia, Spain, April to May 2015. *Eurosurveillance* [Internet]. 9 de julio de 2015 [citado 29 de enero de 2019];20(27):21183. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26212062>
401. Porras-Povedano M, Roldán-Garrido A, Santacruz-Hamer V. Brote epidémico por Tos ferina en Écija (Sevilla), 2016. *Rev Esp Salud Publica* [Internet]. 18 de enero de 2017 [citado 29 de enero de 2019];91:e201701008. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28098135>
402. Matthias J, Pritchard PS, Martin SW, Dusek C, Cathey E, D'Alessio R, et al. Sustained transmission of pertussis in vaccinated, 1-5-year-old children in a preschool, Florida,

- USA. *Emerg Infect Dis* [Internet]. febrero de 2016 [citado 29 de enero de 2019];22(2):242-6. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26814429>
403. Ryu S, Kim JJ, Chen MY, Jin H, Lee HK, Chun BC. Outbreak investigation of pertussis in an elementary school: a case-control study among vaccinated students. *Clin Exp Vaccine Res* [Internet]. enero de 2018 [citado 29 de enero de 2019];7(1):70. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29399582>
404. Winter K, Glaser C, Watt J, Harriman K, Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Pertussis epidemic--California, 2014. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* [Internet]. 5 de diciembre de 2014 [citado 29 de enero de 2019];63(48):1129-32. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25474033>
405. Préziosi MP, Halloran ME. Effects of pertussis vaccination on transmission: vaccine efficacy for infectiousness. *Vaccine* [Internet]. 16 de mayo de 2003 [citado 4 de julio de 2018];21(17-18):1853-61. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0264410X03000070>
406. Wirsing von König CH, Postels-Multan S, Schmitt HJ, Bock HL. Pertussis in adults: frequency of transmission after household exposure. *Lancet* [Internet]. 18 de noviembre de 1995 [citado 4 de julio de 2018];346(8986):1326-9. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7475771>
407. Tozzi AE, Ravà L, Ciofi degli Atti ML, Salmaso S. Clinical presentation of pertussis in unvaccinated and vaccinated children in the first six years of life. *Pediatrics* [Internet]. julio de [citado 12 de julio de 2018];112(5):1069-75. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9200361>
408. Yaari E, Yafe-Zimerman Y, Schwartz SB, Slater PE, Shvartzman P, Andoren N, et al. Clinical manifestations of *Bordetella pertussis* infection in immunized children and young adults. *Chest* [Internet]. mayo de 1999 [citado 11 de octubre de 2019];115(5):1254-8. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10334136>
409. Cherry JD. Pertussis in young infants throughout the world. *Clin Infect Dis* [Internet]. 1 de diciembre de 2016 [citado 4 de julio de 2018];63(suppl 4):S119-22. Disponible en: <https://academic.oup.com/cid/article-lookup/doi/10.1093/cid/ciw550>

410. Narkeviciute I, Kavaliunaite E, Bernatoniene G, Eidukevicius R. Clinical presentation of pertussis in fully immunized children in Lithuania. *BMC Infect Dis*. 27 de mayo de 2005;5:40.
411. Gilberg S, Njamkepo E, du Châtelet IP, Partouche H, Gueirard P, Ghasarossian C, et al. Evidence of *Bordetella pertussis* infection in adults presenting with persistent cough in a French area with very high whole-cell vaccine coverage. *J Infect Dis* [Internet]. 1 de agosto de 2002 [citado 5 de noviembre de 2018];186(3):415-8. Disponible en: <https://academic.oup.com/jid/article-lookup/doi/10.1086/341511>
412. Postels-Multani S, Schmitt HJ, Wirsing von König CH, Bock HL, Bogaerts H. Symptoms and complications of pertussis in adults. *Infection* [Internet]. mayo de 1995 [citado 5 de noviembre de 2018];23(3):139-42. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/BF01793853>
413. Cornia PB, Hersh AL, Lipsky BA, Newman TB, Gonzales R. Does this coughing adolescent or adult patient have pertussis? *JAMA - J Am Med Assoc* [Internet]. 25 de agosto de 2010 [citado 5 de noviembre de 2018];304(8):890-6. Disponible en: <http://jama.jamanetwork.com/article.aspx?doi=10.1001/jama.2010.1181>
414. Kilgore PE, Salim AM, Zervos MJ, Schmitt HJ. Pertussis: microbiology, disease, treatment, and prevention. *Clin Microbiol Rev* [Internet]. 1 de julio de 2016 [citado 4 de julio de 2018];29(3):449-86. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27029594>
415. Vitek CR, Pascual FB, Baughman AL, Murphy T V. Increase in deaths from pertussis among young infants in the United States in the 1990s. *Pediatr Infect Dis J* [Internet]. julio de 2003 [citado 4 de julio de 2018];22(7):628-34. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12867839>
416. Cherry JD, Wendorf K, Bregman B, Lehman D, Nieves D, Bradley JS, et al. An observational study of severe pertussis in 100 infants  $\leq$  120 days of age. *Pediatr Infect Dis J* [Internet]. marzo de 2017 [citado 4 de julio de 2018];37(3):202-5. Disponible en: <http://insights.ovid.com/crossref?an=00006454-201803000-00002>
417. Gil R, Moraga-Llop FA, Santos JM, Álvaro A, Gil A. Epidemiología de las hospitalizaciones atribuibles a tos ferina en niños menores de 12 meses en España (1999-2005). *Vacunas*

- [Internet]. abril de 2009 [citado 12 de julio de 2018];10(2):32-6. Disponible en: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1576988709722678>
418. He Q, Barkoff AM, Mertsola J, Glismann S, Bacci S, European Bordetella expert group (EUpertstrain), et al. High heterogeneity in methods used for the laboratory confirmation of pertussis diagnosis among European countries, 2010: Integration of epidemiological and laboratory surveillance must include standardisation of methodologies and quality assurance. *Eurosurveillance* [Internet]. 9 de agosto de 2012 [citado 13 de julio de 2018];17(32):20239. Disponible en: <http://www.eurosurveillance.org/content/10.2807/ese.17.32.20239-en>
419. Faulkner AE, Skoff TH, Tondella ML, Cohn A, Clark TA, Martin SW. Trends in pertussis diagnostic testing in the United States, 1990 to 2012. *Pediatr Infect Dis J* [Internet]. septiembre de 2016 [citado 13 de julio de 2018];35(1):39-44. Disponible en: <http://content.wkhealth.com/linkback/openurl?sid=WKPTLP:landingpage&an=00006454-900000000-97588>
420. Centers for Disease Control and Prevention. Pertussis (Whooping cough): best practices for healthcare professionals on the use of polymerase chain reaction (PCR) for diagnosing [Internet]. Disponible en: <https://www.cdc.gov/pertussis/clinical/diagnostic-testing/diagnosis-pcr-bestpractices.html>
421. Moore A, Ashdown HF, Shinkins B, Roberts NW, Grant CC, Lasserson DS, et al. Clinical characteristics of pertussis-associated cough in adults and children: a diagnostic systematic review and meta-analysis. *Chest* [Internet]. agosto de 2017 [citado 13 de julio de 2018];152(2):353-67. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28511929>
422. Carbonetti NH. Pertussis leukocytosis: mechanisms, clinical relevance and treatment. *Pathog Dis* [Internet]. 1 de octubre de 2016 [citado 13 de julio de 2018];74(7):ftw087. Disponible en: <https://academic.oup.com/femspd/article-lookup/doi/10.1093/femspd/ftw087>
423. Winter K, Zipprich J, Harriman K, Murray EL, Gornbein J, Hammer SJ, et al. Risk factors associated with infant deaths from pertussis: a case-control study. *Clin Infect Dis* [Internet]. 1 de octubre de 2015 [citado 13 de julio de 2018];61(7):1099-106. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26082502>

424. Beynon KA, Young SA, Laing RT, Harrison TG, Anderson TP, Murdoch DR. Bordetella pertussis in adult pneumonia patients. *Emerg Infect Dis* [Internet]. abril de 2005 [citado 13 de julio de 2018];11(4):639-41. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15834988>
425. Lieberman D, Shvartzman P, Ben-Yaakov M, Lazarovich Z, Hoffman S, Mosckovitz R, et al. Etiology of respiratory tract infection in adults in a general practice setting. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* [Internet]. octubre de 1998 [citado 13 de julio de 2018];17(10):685-9. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9865980>
426. Krantz I, Norrby SR, Trollfors B. Salbutamol vs. placebo for treatment of pertussis. *Pediatr Infect Dis* [Internet]. 1985 [citado 16 de julio de 2018];4(6):638-40. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3909118>
427. Mertsola J, Viljanen MK, Ruuskanen O. Salbutamol in the treatment of whooping cough. *Scand J Infect Dis* [Internet]. 8 de enero de 1986 [citado 16 de julio de 2018];18(6):593-4. Disponible en: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/00365548609021669>
428. Roberts I, Gavin R, Lennon D. Randomized controlled trial of steroids in pertussis. *Pediatr Infect Dis J* [Internet]. noviembre de 1992 [citado 16 de julio de 2018];11(11):982-3. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1454452>
429. Devasia RA, Jones TF, Collier B, Schaffner W. Compliance with azithromycin versus erythromycin in the setting of a pertussis outbreak. *Am J Med Sci* [Internet]. 1 de marzo de 2009 [citado 16 de julio de 2018];337(3):176-8. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0002962915320486>
430. Honein MA, Paulozzi LJ, Himelright IM, Lee B, Cragan JD, Patterson L, et al. Infantile hypertrophic pyloric stenosis after pertussis prophylaxis with erythromycin: a case review and cohort study. *Lancet* [Internet]. 18 de diciembre de 1999 [citado 16 de julio de 2018];354(9196):2101-5. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0140673699100734>
431. Centers for Disease Control and Prevention. Hypertrophic pyloric stenosis in infants following pertussis prophylaxis with erythromycin--Knoxville, Tennessee, 1999. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* [Internet]. 17 de diciembre de 1999 [citado 16 de julio de 2018];48(49):1117-20. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10634345>

432. Mahon BE, Rosenman MB, Kleiman MB. Maternal and infant use of erythromycin and other macrolide antibiotics as risk factors for infantile hypertrophic pyloric stenosis. *J Pediatr* [Internet]. septiembre de 2001 [citado 16 de julio de 2018];139(3):380-4. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11562617>
433. Fernández-Cano MI, Armadans-Gil L, Álvarez-Bartolomé M, Rodrigo-Pendás JÁ, Campins-Martí M. Hospitalización por tos ferina en España (1997-2011). *Enferm Infecc Microbiol Clin* [Internet]. 1 de diciembre de 2014 [citado 16 de julio de 2018];32(10):638-42. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0213005X13003868>
434. Santos JM, Gil R, Álvaro A, Gil A. Epidemiología de las hospitalizaciones atribuibles a infección por *Bordetella pertussis* en población general en España (1999-2005). *Vacunas* [Internet]. 2008 [citado 16 de julio de 2018];9(2):50-6. Disponible en: [https://ac.els-cdn.com/S1576988708724932/1-s2.0-S1576988708724932-main.pdf?\\_tid=0bbb16b9-8739-4b1d-beb2-cb5427b9a58c&acdnat=1531735222\\_f35c50a239d0ee19ed3746512d988929](https://ac.els-cdn.com/S1576988708724932/1-s2.0-S1576988708724932-main.pdf?_tid=0bbb16b9-8739-4b1d-beb2-cb5427b9a58c&acdnat=1531735222_f35c50a239d0ee19ed3746512d988929)
435. Oliveira SM, Gonçalves-Pinho M, Freitas A, Guimarães H, Azevedo I. Trends and costs of pertussis hospitalizations in Portugal, 2000 to 2015: from 0 to 95 years old. *Infect Dis* [Internet]. 3 de agosto de 2018 [citado 17 de julio de 2018];50(8):625–633. Disponible en: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/23744235.2018.1457796>
436. Mançaneira JF, Benedetti JR, Zhang L. Hospitalizations and deaths due to pertussis in children from 1996 to 2013. *J Pediatr (Rio J)* [Internet]. enero de 2016 [citado 17 de julio de 2018];92(1):40-5. Disponible en: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021755715001047>
437. Lopez MA, Cruz AT, Kowalkowski MA, Raphael JL. Trends in hospitalizations and resource utilization for pediatric pertussis. *Hosp Pediatr* [Internet]. septiembre de 2014 [citado 7 de noviembre de 2018];4(5):269-75. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25318108>
438. Rosewell A, Spokes P, Gilmour R. New South Wales annual vaccine-preventable disease report, 2013. *West Pacific Surveill Response J* [Internet]. 2015 [citado 17 de julio de 2018];6(2):37-44. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26306215>

439. Desai S, Schanzer DL, Silva A, Rotondo J, Squires SG. Trends in Canadian infant pertussis hospitalizations in the pre- and post-acellular vaccine era, 1981–2016. *Vaccine* [Internet]. 2018;36(49):7568-73. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2018.10.047>
440. Fernández-Cano MI, Espada-Trespalacios X, Reyes-Lacalle A, Manresa Domínguez JM, Armadans-Gil L, Campins-Martí M, et al. Cobertura vacunal frente a tos ferina en gestantes de Cataluña en el primer año de implantación del programa de inmunización. *Enferm Infecc Microbiol Clin* [Internet]. noviembre de 2017 [citado 19 de julio de 2018];35(9):550-5. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0213005X16302889>
441. Baxter R, Bartlett J, Fireman B, Lewis E, Klein NP. Effectiveness of vaccination during pregnancy to prevent infant pertussis. *Obstet Gynecol Surv* [Internet]. 3 de mayo de 2017 [citado 19 de julio de 2018];72(11):629-30. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28557752>
442. Amirthalingam G, Campbell H, Ribeiro S, Fry NK, Ramsay M, Miller E, et al. Sustained effectiveness of the maternal pertussis immunization program in England 3 years following introduction. *Clin Infect Dis*. 1 de diciembre de 2016;63:S236-43.
443. Winter K, Nickell S, Powell M, Harriman K. Effectiveness of prenatal versus postpartum tetanus, diphtheria, and acellular pertussis vaccination in preventing infant pertussis. *Clin Infect Dis*. 2017;64(1):3-8.
444. Dabrera G, Amirthalingam G, Andrews N, Campbell H, Ribeiro S, Kara E, et al. 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*. 1 de febrero de 2015;60(3):333-7.
445. Bellido-Blasco J, Guiral-Rodrigo S, Míguez-Santiyán A, Salazar-Cifre A, González-Morán F. A case-control study to assess the effectiveness of pertussis vaccination during pregnancy on newborns, Valencian community, Spain, 1 March 2015 to 29 February 2016. *Eurosurveillance*. 1 de junio de 2017;22(22).
446. Uriarte PS, Rodríguez SSJ, Sancristobal IG, Agirre NM. Effectiveness of dTpa vaccination during pregnancy in preventing whooping cough in infants under 3 months of age.

- Bizkaia, Basque Country, Spain. *Heliyon*. 1 de febrero de 2019;5(2).
447. Winter K, Cherry JD, Harriman K. Effectiveness of prenatal tetanus, diphtheria, and acellular pertussis vaccination on pertussis severity in infants. *Clin Infect Dis*. 2017;64(1):9-14.
448. Sukumaran L, McCarthy NL, Kharbanda EO, Vazquez-Benitez G, Lipkind HS, Jackson L, et al. Infant hospitalizations and mortality after maternal vaccination. *Pediatrics*. 1 de marzo de 2018;141(3).
449. O'Brien JA, Caro JJ. Hospitalization for pertussis: profiles and case costs by age. *BMC Infect Dis [Internet]*. 11 de diciembre de 2005 [citado 16 de julio de 2018];5(1):57. Disponible en: <http://bmcinfectdis.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2334-5-57>
450. Elliott E, McIntyre P, Ridley G, Morris A, Massie J, McEniery J, et al. National study of infants hospitalized with pertussis in the acellular vaccine era. *Pediatr Infect Dis J [Internet]*. marzo de 2004 [citado 16 de julio de 2018];23(3):246-52. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15014301>
451. Karki S, McIntyre P, Newall AT, MacIntyre CR, Banks E, Liu B. Risk factors for pertussis hospitalizations in Australians aged 45 years and over: A population based nested case-control study. *Vaccine [Internet]*. 13 de octubre de 2015 [citado 8 de noviembre de 2018];33(42):5647-53. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0264410X15012062>
452. Meyer S, Faulkner A, Miner C, Edge K, Cruz V, Bargsten M, et al. Pertussis Infections in Hospitalized Patients—United States, 2010–2014. *Open Forum Infect Dis [Internet]*. 1 de diciembre de 2016 [citado 8 de noviembre de 2018];3(suppl\_1). Disponible en: <https://academic.oup.com/ofid/article/2637609/Pertussis>
453. Halperin SA, Wang EE, Law B, Mills E, Morris R, Déry P, et al. Epidemiological features of pertussis in hospitalized patients in Canada, 1991-1997: report of the Immunization Monitoring Program--Active (IMPACT). *Clin Infect Dis [Internet]*. junio de 1999 [citado 18 de julio de 2018];28(6):1238-43. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10451159>

