

Infección por *Bordetella pertussis* en contactos domiciliarios de casos de tosferina en el suroriente de la ciudad de Cali, Colombia 2006-2007

MIRYAM ASTUDILLO, MSc¹, VICTORIA EUGENIA ESTRADA, MSc²,
MÓNICA FERNÁNDEZ DE SOTO, BSc³, LUZ ÁNGELA MORENO, BSc⁴

RESUMEN

Introducción: *Bordetella pertussis* causa tos ferina o tos convulsiva, enfermedad contagiosa e inmunoprevenible, una de las primeras 10 causas de muerte entre niños menores de 1 año, al no estar completamente inmunizados. Se considera reemergente en varios países, con altas tasas de complicaciones y hospitalizaciones.

Objetivo: Conocer la proporción de infección por *B. pertussis*, entre casos sospechosos de tosferina y sus contactos domiciliarios entre niños del suroriente de Cali, área geográfica con mayor demanda de consulta por esta infección.

Metodología: Estudio descriptivo de corte transversal. Se tomaron datos epidemiológicos y muestras nasofaríngeas a 24 casos sospechosos y sus 109 contactos domiciliarios. Las muestras se analizaron por la reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (Q-PCR) y por cultivo.

Resultados: La proporción de positividad entre los casos por la técnica de Q-PCR fue de 50% (12/24) y 40% por la técnica de cultivo (8/20), con buena concordancia entre las dos técnicas (Kappa 0,61). En cuanto a los contactos, 30.3% (33/109) (IC 95%: 21.8%-39.8%) resultaron positivos. Los contactos hermanos (7/15) y las madres (7/22) presentaron la mayor proporción de positividad. En cuanto a la edad, 60% con 4 años (3/5) y 50% en el grupo de 45- 64 años. No se encontraron diferencias significativas entre la presencia o ausencia de síntomas y la presencia de infección por *B. pertussis*, excepto en la presencia de flujo nasal (moquiadera) (27%) y tos (36%) durante el último mes.

Conclusiones: El estudio confirma la alta prevalencia de infección asintomática por *B. pertussis* entre contactos domiciliarios de niños con sintomatología de tosferina y la transmisión domiciliar de la misma. En Cali es necesario revisar la efectividad de las estrategias de control implementadas y la utilización de un esquema de vacunación que no cubre a la población adolescente y adulta como control del foco de infección.

Palabras clave: *Bordetella pertussis*; Casos y contactos domiciliarios de tosferina.

Colomb Med. 2011; 42: 184-90

***Bordetella pertussis* infection in household contacts of cases of pertussis in the southeast zone of the city of Cali, Colombia, 2006-2007**

SUMMARY

Introduction: *Bordetella pertussis* causes whooping cough or convulsive cough, a contagious and immune-preventable disease. It is one of the 10 leading causes of death among children younger than one year of age, when not completely immunized. It is considered reemerging in several countries, with high rates of complications and hospitalizations.

Objective: to learn of the proportion of infection by *B. pertussis* among suspected cases of whooping cough and their household contacts among children from the southeast zone of Cali, a geographic area with great consultation demand due to this infection.

1. Profesora Titular, Departamento de Microbiología, Facultad de Salud, Universidad del Valle, Cali, Colombia.

e-mail: myriam.astudillo@correounivalle.edu.co

2. Epidemióloga, Secretaría de Salud Pública Municipal de Cali, Colombia. e-mail: vestrada19@yahoo.com

3. Estudiante de Biología, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad del Valle, Cali, Colombia.

e-mail: msipfer@gmail.com

4. Docente Cátedra, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad del Valle, Cali, Colombia.

e-mail: luzangelmo@hotmail.com

Recibido para publicación agosto 24, 2010 Aceptado para publicación febrero 18, 2011

Methodology: This is a cross-sectional descriptive study. Epidemiological data and nasopharyngeal samples were taken from 24 suspected cases and from their 109 household contacts. The samples were analyzed via real-time polymerase chain reaction (Q-PCR) and through culture.

Results: The proportion of positivity among the cases via the Q-PCR technique was at 50% (12/24) and at 40% via the culture technique (8/20), with good agreement between both techniques (Kappa 0.61). Regarding the household contacts, 30.3% (33/109) (CI 95%: 21.8%-39.8%) tested positive. The sibling contacts (7/15) and the mothers (7/22) presented the greatest proportion of positivity. Regarding age, 60% were 4 years of age (3/5) and 50% were in the group comprised of individuals 45 to 64 years of age. No significant differences were found among the presence or absence of symptoms and the presence of *B. pertussis* infection, except for the presence of nasal secretions (runny nose) (27%) and coughing (36%) during the last month.

Conclusions: The study confirms the high prevalence of asymptomatic infection by *B. pertussis* among household contacts of children with whooping cough symptomatology and its household transmission. In Cali, health authorities need to review the effectiveness of implemented control strategies and the use of a vaccination scheme that does not cover adolescent and adult populations as a focus of infection control.

Keywords: *Bordetella pertussis*; Whooping cough cases and household contacts.

Colomb Med. 2011; 42: 184-90

Bordetella pertussis causa la tos ferina o tos convulsiva, enfermedad infecciosa inmunoprevenible, que ha venido en aumento en las dos últimas décadas, en los países pobres originando hasta 300,000 fallecidos por año¹. La población más afectada son los menores de 5 años y entre estos los niños con edades entre 2 y 3 meses.

En Colombia, los factores que favorecen la reemergencia están relacionados con condiciones de pobreza, hacinamiento, fallas en el acceso a servicios de salud, la eficacia de la vacuna utilizada cuya protección se reduce con el tiempo y la variación antigénica observada en esta bacteria².

El control de la enfermedad se basa en el mantenimiento de las coberturas útiles (mayores de 95%) de vacunación en la población menor de 5 años con vacuna DPT de célula completa; la vigilancia epidemiológica se realiza a través de la notificación de todo caso

sospechoso, la confirmación por laboratorio por medio de inmunofluorescencia directa (IFD), lo cual ha permitido observar un aumento importante en Colombia en la incidencia entre menores de 5 años desde el año 2005³, la investigación epidemiológica y la quimioprofilaxis de los contactos directos.

Sin embargo, en el año 2008 en Cali, luego de este estudio, se registró una incidencia de 7.32 por 100,000 en el grupo de menores de 5 años y 32.8 por 100.000 entre menores de 1 año; en el mismo período se registraron 3 muertes para una letalidad de 23%³.

La presencia de un cuadro clínico más o menos típico de tosferina, sin confirmación bacteriológica, no atribuye a *B. pertussis* la etiología, pues los adenovirus pueden causar casos esporádicos de síndromes pertusoides.

La dificultad en el diagnóstico clínico ocurre en la etapa catarral, en casos ligeros y en niños muy pequeños, o que han recibido todas o algunas dosis de la vacuna DPT. Existen varios métodos para confirmar un caso sospechoso de tosferina entre ellos el cultivo que es la prueba de oro, con alta especificidad y con una sensibilidad entre 30% y 60%⁴; la reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real o cuantitativa (Q-PCR), método rápido y específico; la IFD considerada como prueba complementaria^{5,6}.

Este estudio planteó como objetivo conocer la proporción de infección por *B. pertussis*, en el suroccidente de Cali, entre casos sospechosos de tosferina y sus contactos domiciliarios mediante cultivo y Q-PCR.

METODOLOGÍA

Tipo de estudio. Estudio descriptivo de corte transversal.

Población. Se estudiaron 24 casos sospechosos de tosferina y 109 contactos domiciliarios sin distinción de sexo, edad o estado clínico, procedentes del suroccidente de la ciudad de Cali, Colombia, entre los años 2006 y 2007.

Los criterios clínicos de inclusión de los casos sospechosos de tosferina fueron: paciente con tos de 1 ó más semanas de duración con al menos uno de los siguientes síntomas: tos paroxística, estridor inspiratorio, vómito post-tusígeno y sin otra causa aparente. Se incluyeron como tosferina atípica los que cumplen uno solo de los siguientes criterios: cuadro respiratorio sin

otro síntoma o caso con otro síntoma, sea paroxismo, acceso de tos, tos prolongada seguida por períodos de apnea, cianosis e estridor inspiratorio. Se aplicó una encuesta estructurada tanto a casos como a contactos que incluyó género, edad, estado de inmunización, fecha de inicio de los síntomas y datos clínicos, información solicitada a los representantes del menor quienes firmaron el consentimiento informado. El estudio contó con la aprobación del Comité de Ética de la Facultad de Salud, Universidad del Valle y del Hospital Infantil Club Noel.

Toma de muestra y cultivos. La muestra de los casos sospechosos se tomó con sonda para aspirado nasofaríngeo (enfermera del hospital), transportada hasta el laboratorio, en el lapso de 1 hora. Se cultivó en agar fresco Charcoal (Difco) con sangre de caballo, incubada en aerobiosis a 35°C por 6 días. Al observarse las unidades formadoras de colonias (UFC) sospechosas se examinaron por coloración de Gram y se confirmaron por Q-PCR. Se realizó Q-PCR tanto a las colonias como a la secreción nasofaríngea. Como control interno se utilizó una cepa enviada por el Instituto Nacional de Salud de Colombia.

La muestra de los contactos se tomó con hisopo de dacrón (enfermera en el domicilio) para exudado nasofaríngeo, una parte de la muestra se sembró en agar Charcoal sangre de caballo y la otra parte se utilizó para realizar Q-PCR.

Los factores relacionados con la transmisión que se indagaron en los contactos fueron: esquema de vacunación a menores de 10 años, enfermedad crónica, fiebre, lagrimeo, moquiadera, tos en el último mes.

PCR en tiempo real. La extracción del material genético se realizó mediante precipitación con sales Salitng Out⁷, se verificó la calidad por electroforesis y se almacenó a -20°C. Para realizar la Q-PCR en un equipo 7500 Real Time PCR Applied Biosystem, se usaron los iniciadores y sonda diseñados por Knorr *et al.*⁷ con 100% de homología con el gen promotor de la toxina de *B. pertussis*.

Como control negativo, se utilizaron cepas de *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*. Se evaluó además la sensibilidad y la especificidad de la técnica por medio de diluciones seriadas, desviación y error estándar.

Evaluación de las pruebas diagnósticas. Se utilizó el índice de Kappa para evaluar la fiabilidad de la prueba diagnóstica Q-PCR en relación con el cultivo.

RESULTADOS

Infección por Bordetella pertussis entre los casos.

Los 24 pacientes reportados al Sistema de Vigilancia (SIVIGILA) como probables casos de tosferina cumplieron los criterios de inclusión; 62.5% eran hombres y 37.5% mujeres; 58.3% pertenecían al régimen subsidiado; 25% no tenían afiliación a la seguridad social; 12.5% pertenecían al régimen contributivo y 4.2% eran particulares. La proporción de positividad por la técnica de Q-PCR fue de 50% (12 casos) y 40% por la técnica de cultivo (8/20); a 4 casos no se les tomó muestra para cultivo.

La edad de los casos osciló entre 0 y 48 meses; 67% (8/12) de los casos confirmados eran menores de 3 meses, así: un recién nacido y 2 casos de un mes de edad, fueron confirmados por cultivo y Q-PCR; de 2 meses, 3 confirmados por cultivo y 5 por Q-PCR; de 5 meses 1 confirmado por Q-PCR; de 7 meses 1 confirmado por cultivo y 2 por Q-PCR; de 9 meses 1 confirmado por las dos técnicas.

El promedio de días transcurridos entre el inicio de los síntomas y la consulta fue de 7.4, mediana de 4.5; el promedio de días de hospitalización fue de 8 y mediana de 6; presentaron tos intosa 91.3%; fiebre 78.2%; y tos ligera 52.1%; coriza y vómito mucoso 47.8% y ronquera y estridor inspiratorio 39.1%.

Entre los casos que cumplieron con el criterio de tosferina típica, 53% (10/19) fueron confirmados por Q-PCR y 32% (6/19) por cultivo; entre los que cumplieron criterio de tosferina atípica, 2/2 fueron confirmados por las dos técnicas.

Se encontraban en fase catarral de la enfermedad al momento de la consulta, 79.1% de los casos, con 11/19 confirmados por Q-PCR y 7 confirmados por cultivo; 20.9% se encontraban en fase paroxística de los cuales 1/5 fue confirmado por las dos técnicas. El tiempo promedio transcurrido entre el inicio del antibiótico y la toma de la muestra fue de 3 días, mediana de 2.5 con rango 0-8 días. Entre los que consumieron antibiótico, entre 0-3 días, 6/12 fueron confirmados por Q-PCR y 2 por cultivo, con consumo de antibiótico entre 4-8 días; 4/8 fueron confirmados por Q-PCR y por cultivo; habían recibido tratamiento antibiótico 20/24.

Entre los niños que tenían esquema de vacunación adecuado para la edad, 75% (18/24) 8 se confirmaron por Q-PCR y 6 por cultivo; con esquema de vacunación

inadecuado (8.3%), confirmaron por Q-PCR 2 y ninguno por cultivo y no se logró evaluar esta información en 16.7% con 2 casos confirmados por las dos técnicas.

El valor de Kappa 0.6153 entre Q-PCR y cultivo denotó buena concordancia.

Infección por *B. pertussis* entre contactos. Se captaron 109 contactos domiciliarios de los 24 casos incluidos en el estudio: 54.5% correspondieron a contactos de casos confirmados y 45.4% a contactos de casos no confirmados; 67.2% mujeres y 32.8% hombres.

La proporción de positividad para infección por *B. pertussis* entre contactos domiciliarios por la técnica Q-PCR fue de 30.3% (33/109) (IC 95%: 21.8%-39.8%). Entre los contactos de casos positivos la proporción de positividad fue 50% y entre los contactos de casos negativos esta proporción fue 6.1% (p=0.0001).

No se encontraron contactos con Q-PCR (+) en el grupo menores de 1 año; la mayor proporción de positividad entre contactos se encontró en el grupo de 4 años (3/5, 60%) y en el grupo de 45 a 60 años (50%). Fue mayor la prevalencia entre las niñas (75.7%) que entre los niños (24%) diferencia no significativa estadísticamente.

En relación con el parentesco, cerca de 80% de los casos la cuidadora era la madre, en 8.3% el abuelo o abuela, 4.2% el hermano o hermana y 8.3% era un particular.

La mayor proporción de positividad se observó en el grupo de hermanos (7/15) y en el grupo de las madres (7/22); el grupo «otro parentesco» correspondía a convivientes no incluidos en las otras categorías como convivientes no parientes (inquilinos) y primos; cerca de la mitad (49%) eran personas entre 15 y 44 años y 14% eran niños entre 1 y 4 años (Cuadro 1). Entre el grupo de «hermanos» se encontró una mayor proporción de infección entre niños menores de 5 años, 4/6 (66%); mientras que en la categoría «otro parentesco» la infección prevaleció en las personas entre 15 y 64 años, 9/19 (47%).

No se encontraron diferencias significativas en cuanto a síntomas en los contactos y la infección por *B. pertussis*, excepto la presencia de flujo nasal en el último mes (27%); para aquellos que refirieron tos en el último mes la proporción de positividad por Q-PCR fue de 36%. Entre los contactos de 1 a 4 años, 26% (5/19) tenían esquema adecuado de vacunación; entre ellos, 1 fue positivo por Q-PCR; 2 contactos tuvieron esquema inadecuado (10%), los 2 fueron positivos por Q-PCR;

Cuadro 1
Proporción de positividad para *Bordetella pertussis* según edad entre contactos domiciliarios de casos notificados de tos ferina

Edad (años)	Frecuencia	Proporción de positividad para <i>Bordetella pertussis</i>	
		PCR ⁿ (%)	Cultivo N° (%)
<1	8	0 (0.0)	
1	6	1 (16.0)	
2	5	1 (20.0)	1 (20.0)
3	3	1 (33.0)	
4	5	3 (60.0)	1 (20.0)
5-14	21	5 (24.0)	
15-24	33	11 (33.0)	
25-44	17	6 (35.0)	1 (5.6)
45-64	10	5 (50.0)	
>65	1	0 (0.0)	
Total	109	33 (30.3)	

en 12 contactos no se logró verificar esta información, de ellos 3 fueron positivos por Q-PCR.

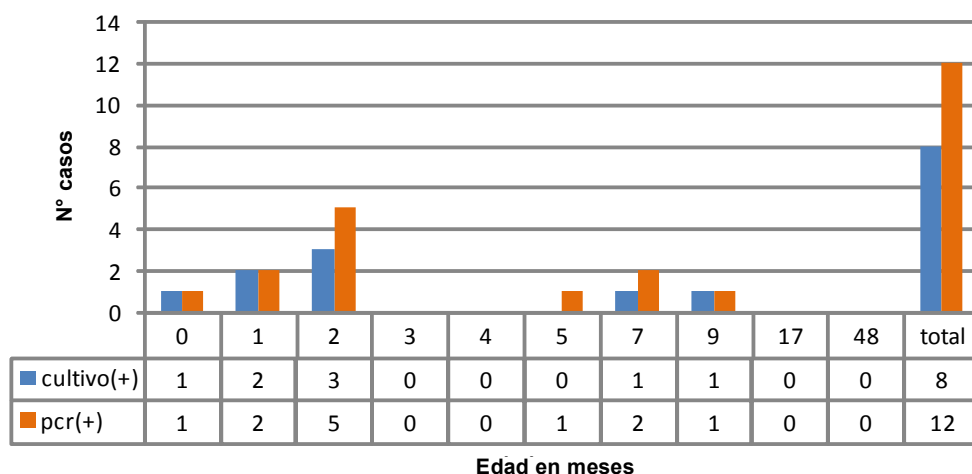
DISCUSIÓN

Este estudio permitió confirmar la enfermedad por *B. pertussis* en 50% (12/24) de los casos sospechosos por Q-PCR y 40% por cultivo (8/20); 4 casos no tuvieron muestra; 50% que quedó sin confirmación por ser caso tal vez debido a otro agente etiológico.

Se encuentra en la literatura estudios entre contactos con diversos resultados por lo cual cada país debe estudiar su situación particular^{8,9}.

La tosferina es inmunoprevenible. En Colombia la cobertura de vacunación para DPT es de 77.8% y para el Valle del Cauca 86%¹⁰. Este estudio reflejó una cobertura de 75% (18/24) del total de niños con esquema de vacunación adecuado para la edad. La enfermedad es potencialmente mortal y es severa entre las edades de 2 a 6 meses, período durante el cual no se han recibido las primeras dosis de la vacuna¹¹. En este estudio se confirmaron 67% (8/12) con menos de 3 meses de edad (Gráfica 1) que coincide con lo informado en la literatura¹².

Entre los casos confirmados 79.1% presentaron síntomas típicos y la enfermedad se confirmó durante la



Gráfica 1. Casos positivos para *Bordetella pertussis* por edad y técnica de laboratorio

fase catarral, etapa donde hay mayor probabilidad de encontrar la bacteria por cualquier técnica, con 12 confirmados por Q-PCR y 2 por cultivo, como se informa en la literatura¹³ con buena concordancia entre el cultivo y Q-PCR con valor de Kappa 0.6153. Se debe tener en cuenta que la sensibilidad de la Q-PCR es mayor que la del cultivo.

Los síntomas encontrados en la mayoría de los casos confirmados coinciden con lo informado en la literatura, excepto en la fiebre (78.2%) lo cual puede deberse a una coinfección¹⁴.

En cuanto a los días de consulta, se encontró un promedio de 7.4 días desde el inicio de los síntomas, con una mediana de 4.5 días, lo cual revela la prontitud en remisión desde los centros de salud. El promedio de 8 días de hospitalización se relaciona con la severidad de los síntomas; las diferencias encontradas no fueron estadísticamente significativas (Fisher: 0.47).

Para la confirmación de los casos se empleó una técnica molecular y directa como Q-PCR y cultivo. En el diagnóstico por cultivo no se deben incluir pacientes con consumo de antibióticos (causa baja densidad de bacterias en nasofaringe), debido a que la sensibilidad del cultivo disminuye entre 1% y 3%¹⁵. Sin embargo, en este estudio se incluyeron niños con consumo de antibióticos debido a la persistencia y empeoramiento de los síntomas y a que en la mayoría de los casos, se captaron los pacientes en segunda consulta médica; los casos positivos por cultivo que habían recibido tratamiento antibiótico, se pueden deber a subdosificación

más que a resistencia, la cual es poco encontrada en *B. pertussis*¹⁶.

Dos casos resultaron con cultivo positivo y Q-PCR negativo, lo cual se puede explicar por una inhibición no detectada o fallas en procesos de extracción de ADN, falta sensibilidad en la detección de los productos, también que el cuadro clínico sea causado por *B. parapertussis*; sin embargo, se encontraron 10% más de muestras confirmadas por Q-PCR en relación con el cultivo¹⁷.

De la prevalencia de la infección en los contactos, 30.3% (33/109) (IC 95%: 21.8%-39.8%) confirmados por Q-PCR, 67.2% eran mujeres y 32.8% hombres, relación que se espera por ser las mujeres las cuidadoras y a la vez cabeza de familia.

Se encontró un amplio rango de edad de los contactos (Cuadro 1), con 66.6% (22/33) confirmados con edades entre 5 y 44 años. Fue mayor la prevalencia entre niñas (75.7%) que en niños (24%) diferencia no significativa estadísticamente; hay algunas diferencias con otros estudios que han encontrado infectados 90% de niños menores de 4 años¹⁸.

En relación con el parentesco, este estudio documentó la transmisión domiciliaria en donde los hermanos y la madre desempeñan un papel importante, pero también se encontró que algunos contactos domiciliares más lejanos como convivientes no familiares o primos, en su mayoría adultos, también están involucrados en el círculo de transmisión de la infección (Cuadro 2). Otros estudios han encontrado poca

Cuadro 2
Casos y proporción de positividad para *Bordetella pertussis* por Q-PCR según parentesco entre contactos domiciliarios

Parentesco	Negativo (%)	Positivo (%)	Total
Madre	15 (68.1)	7 (31.8)	2
Padre	4 (80.0)	1 (20.0)	5
Abuelo	12 (80.0)	3 (20)	15
Hermano	8 (53.3)	7 (46.7)	15
Amigo	2 (100.0)	0 (0.0)	2
Niñera	1 (50.0)	1 (50.0)	2
Otro	34 (70.8)	14 (29.2)	48
Total	76 (69.7)	33 (30.3)	109

transmisión domiciliar adulto-niño¹⁹.

Todos los casos confirmados tuvieron contactos positivos. Para la confirmación de la infección entre los contactos se puede emplear la serología, pero como los contactos eran personas con pocos síntomas que puedan establecer la sospecha de tosferina, esta prueba no es de ayuda bajo estas condiciones.

Entre los factores relacionados con la transmisión no se encontraron diferencias significativas en cuanto a síntomas y la infección por *B. pertussis*, excepto la presencia de flujo nasal en el último mes (27%); presentaron tos en el último mes 36% confirmados por Q-PCR. Debido a estos resultados, los contactos que presenten estos síntomas son potenciales transmisores de *B. pertussis* y debe ser confirmado en estudios con mayor número de muestras. En la literatura se informa el hábito de fumar como el más relacionado con la infección y la clase de tos²¹; en el presente estudio los contactos presentaron más síntomas de tos que hábito de fumar.

Se encontró 26% (5/19) de vacunación en el grupo menor de 4 años. Las infecciones leves o asintomáticas parece que podrían desempeñar un papel importante en la transmisión de la enfermedad a niños lactantes¹⁹.

Entre 109 contactos 16 no se cultivaron, 33 se confirmaron por Q-PCR y 3 por cultivo. Esta amplia diferencia con un índice de concordancia Kappa pobre (0.11) entre las dos técnicas empleadas, se puede deber a la baja densidad de *B. pertussis* en los asintomáticos o con síntomas leves inespecíficos para *B. pertussis*.

CONCLUSIONES

En este estudio se confirmó la alta prevalencia de la infección asintomática por *B. pertussis* entre contactos domiciliarios de niños sospechosos de padecer tosferina y la transmisión domiciliar de la misma, lo cual mantiene la incidencia de la enfermedad, las hospitalizaciones y la mortalidad por esta causa en la ciudad de Cali.

Se logró la estandarización de la Q-PCR en el diagnóstico de la tosferina, quedando como herramienta importante para posteriores estudios y para la vigilancia epidemiológica, teniendo en cuenta las limitaciones que presenta el cultivo como estándar de oro en el diagnóstico.

RECOMENDACIONES

Es necesario revisar la efectividad de las actuales estrategias de control caracterizadas por la utilización de una prueba diagnóstica poco efectiva y la aplicación de un esquema de vacunación que no cubre a la población adolescente y adulta como control del foco de infección. En términos de intervención, es necesario evaluar el uso de la vacunación para adultos y adolescentes como medida de prevención de la transmisión de *B. pertussis*.

Conflicto de intereses. Los autores declaran que no hay conflicto de intereses en el presente manuscrito.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue desarrollado bajo convenio entre la Secretaría de Salud Pública Municipal de Santiago de Cali y la Universidad del Valle, Cali, Colombia.

REFERENCIAS

- World Health Organization. *Recommended standards for surveillance of selected vaccine-preventable diseases*. WHO/V7B/03.01. Geneva: WHO; 2003. p. 28-30.
- Aguas R, Goncalves G, Gomes MG. Pertussis: increasing disease as a consequence of reducing transmission. *Lancet Infect Dis*. 2006; 6: 112-17.
- Ministerio de la Protección Social, Instituto Nacional de Salud, Colombia. *Sistema de Vigilancia en Salud Pública (SIVIGILA)*. Bogotá: Ministerio de la Protección Social, Instituto Nacional de Salud; 2009.
- Dragsted DM, Dohn B, Madsen J, Jensen JS. Comparison of culture and PCR for detection of *Bordetella pertussis* and *Bordetella parapertussis* under routine laboratory conditions. *J Med Microbiol*. 2004; 53: 749-54.
- García-Martínez J, Cháves F, Salto E, Otero JR. PCR en tiempo real, inmunofluorescencia y cultivo para la detección de *Bordetella pertussis*: evaluación prospectiva y epidemiología molecular. *Enf Infecc Microbiol Clin*. 2006; 24: 500-4.
- Heininger U, Schmidt-Schlapfer 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*. 2000; 105: 31-6.
- Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res*. 1988; 16: 1215.
- Senzilet LD, Halperin SA, Spika JS, Alagaratnam M, Morris A, Smith B. Sentinel Health Unit Surveillance System Pertussis Working Group. Pertussis is a frequent cause of prolonged cough illness in adults and adolescents. *Clin Infect Dis*. 2001; 32: 1691-7.
- Cromer BA, Goydos J, Hackell J, Mezzatesta J, Dekker C, Mortimer EA. Unrecognized pertussis infection in adolescents. *Am J Dis Child*. 1993; 147: 575-7.
- Cruz LF, Girón LN, Velásquez R, García LN, Alzate A. Coberturas de vacunación en el Valle del Cauca 2002. *Colomb Med*. 2003; 34: 17-24.
- Muñoz, FM. Pertussis in infant, children and adolescents: Diagnosis, treatment and prevention. *Sem Pediatr Infect Dis*. 2006; 17: 14-9.
- Sintchenko VN. The emergence of pertussis implications for diagnosis and surveillance. *Public Health Bull*. 2008; 19: 143-5.
- Tilley G, Kanchana MV, Knigh I, Blondeau J, Antonishyn N, Deneer H. Detection of *Bordetella pertussis* in a clinical laboratory by culture, polymerase chain reaction, and direct fluorescent antibody staining; accuracy, and cost. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2000; 37: 17-3.
- Versteegh F, Mooi-Kokenberg E, Schellekens J, Roord J. *Bordetella pertussis* and mixed infections. *Minerva Pediatr*. 2006; 58: 131-7.
- Viljanen VK, Ruuskanen O, Granberg C, Salmi TT. Serological diagnosis of pertussis: IgM, IgA, and IgG antibodies against *Bordetella pertussis* measured by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) *Scand J Infect Dis*. 1982; 14: 117-2.
- Francis M, Borque AC, Del Castillo M, Diez, S García J. Tos ferina: Estudio retrospectivo de casos diagnosticados en un periodo de 15 años. *Ann Esp Pediatr*. 1998; 49: 280-3.
- Lind-Brandberg L, Welinder-Olsson C, Laggegard T, Taranger J, Trolifros B, Zackrisson G. Evaluation of PCR for diagnosis of *Bordetella pertussis* and *Bordetella parapertussis* infections. *J Clin Microbiol*. 1998; 36: 679-3.
- Silberg S, Njamkepo E, Parent du Chatelet I, Partouche H, Gueirard P, Ghasarissian Schlumberger M, 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*. 2002; 186: 415-8.
- Cherry JD. Pertussis in the preantibiotic and prevaccine era, with emphasis on adults pertussis. *Clin Infect Dis*. 1999; 28 (Suppl 2): 107-11.
- Birkebaek NH, Kristiansen M, Seefeldt T, Degn J, Moller A, Heron I, et al. *Bordetella pertussis* and chronic cough in adults. *Clin Infect Dis*. 1999; 29: 1239-42.