

Documento Técnico

Guía para el diagnóstico serológico de *Bordetella pertussis*

Introducción

Coqueluche, pertussis, tos ferina o tos convulsa es una enfermedad respiratoria aguda causada por *B. pertussis*. Se caracteriza por paroxismos, estridor inspiratorio y vómitos posteriores a la tos. Se disemina de persona a persona por las gotitas de “flush”.

El diagnóstico de esta enfermedad puede realizarse por diversas metodologías cuya sensibilidad y especificidad dependen de factores tales como: el estadio de la enfermedad, la edad del paciente, el estado de vacunación, la previa recepción o no de tratamientos antimicrobianos apropiados, etc. Es importante resaltar el esfuerzo puesto en marcha desde hace ya algunos años para “armonizar” las metodologías diagnósticas con el fin de asegurar la calidad y la compatibilidad de los datos.

Las pruebas diagnósticas más frecuentemente utilizadas en el laboratorio para el diagnóstico de Coqueluche son el cultivo, las metodologías moleculares como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y la serología.

La metodología diagnóstica de referencia es el cultivo, a partir de muestras nasofaríngeas extraídas en la fase catarral y en la fase paroxística temprana. Es una prueba muy específica, pero con baja sensibilidad (menos de 60%).

La técnica de PCR es una prueba más sensible y se realiza con las mismas muestras que las utilizadas para el cultivo.

Las pruebas serológicas son más sensibles que el cultivo para el diagnóstico en adolescentes y adultos. Sin embargo, una prueba serológica estandarizada para Coqueluche no está rutinariamente disponible para la mayoría de los laboratorios clínicos, y los valores de punto de corte o “cutoff” que correlacionan con la enfermedad requieren estudios poblacionales locales. Además es necesario disponer de antígenos altamente purificados específicos de *B. pertussis*. Es así, que en la actualidad el ensayo serológico recomendado para diagnóstico de Coqueluche es la detección de anticuerpos IgG anti toxina pertussis (IgG-anti-TP). Hay que tener en cuenta las condiciones de toma de muestra para lograr distinguir entre una respuesta inmune provocada por la enfermedad de la ocasionada por la vacunación, cuando se recibió recientemente alguna dosis de vacuna.

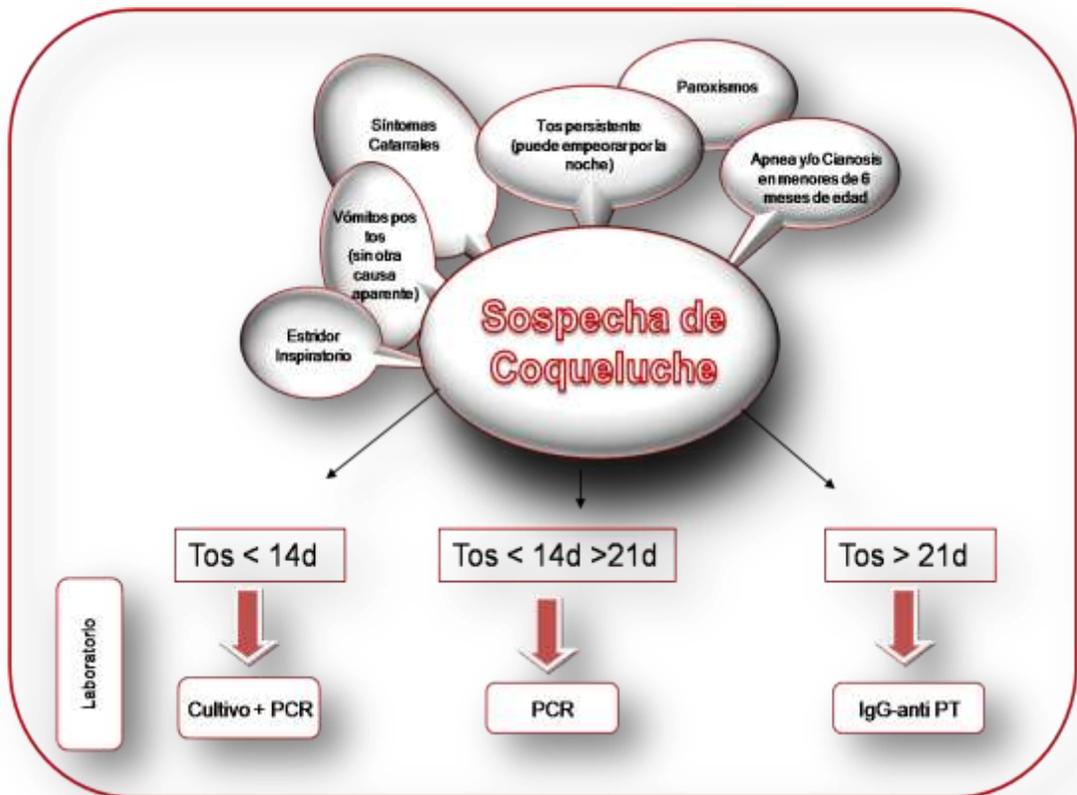
La medición de IgG-anti-TP NO es significativa en recién nacidos y lactantes.

Para adolescentes y adultos con tos de menos de tres semanas de duración, la PCR y la medición de IgG-anti-TP son las pruebas de elección. Si la tos duró al menos entre 2 y 3 semanas, se considera que la medición de IgG-anti-TP es suficiente.

Indicaciones para el diagnóstico de Coqueluche.

El diagnóstico de Coqueluche debe considerarse en pacientes con síntomas clásicos compatibles con la enfermedad, tales como tos acompañada de paroxismos, estridor y/o vómitos posteriores a la tos (sin otra causa aparente). En lactantes, niños mayores vacunados, adolescentes y adultos el curso clínico puede no ser típico y la tos prolongada puede ser el único síntoma.

Para el diagnóstico de la enfermedad existen pruebas directas e indirectas. Las pruebas directas son reacción en cadena de la polimerasa y cultivo, mientras que las pruebas indirectas miden anticuerpos específicos en suero. Aquí, nos centraremos en la detección de anticuerpos contra antígenos de *Bordetella pertussis*.



Tipo de Muestra

Se requiere un único suero mantenido a 4°C y recolectado cuando hayan transcurrido 14 o más días de tos.

Si el paciente recibió vacuna acelular anti pertussis (Tdap), la muestra debe ser tomada un año o después de haber recibido la dosis. Si recibió una vacuna de células completas, la muestra debe ser tomada tres años o después de haber recibido la última dosis.

NOTA: Ver Anexo 1- Calendario Nacional de Vacunación de Argentina.

Metodología diagnóstica

La técnica utilizada, consiste en un enzimoimmunoensayo (ELISA), con antígenos altamente purificados. El antígeno utilizado corresponde a la Toxina Pertussis (TP). Similar a otras toxinas bacterianas, es una toxina típica AB, que consiste en dos subunidades principales; una subunidad A (S1) enzimáticamente activa y un oligómero B (S2 - S5) que se une a los receptores de las células diana. El oligómero B no tiene actividad enzimática, pero es necesaria para lograr una unión eficaz de la toxina a las células, y permite que la Subunidad S1 de la enzima pueda alcanzar el sitio de acción dentro de la misma. Los anticuerpos anti-TP se desarrollan después de la infección natural o la vacunación. La TP puede ser químicamente o genéticamente inactivada, pero aún conservar su inmunogenicidad. TP es producida solamente por *B. pertussis* aunque el genoma de otras especies de *Bordetella spp.* tales como *B. parapertussis* y *B. bronchiseptica* contienen un gen *ptx* no funcional. Por lo tanto, los anticuerpos anti TP, son específicos para *Bordetella pertussis*.

Referencia Externa

La utilización de estándares internacionales de referencia brindados por la OMS:

- **06/140, World Health Organization International Standard**

(primer antisuero humano con las siguientes unidades internacionales asignadas (UI): IgG anti-TP, 335 UI / ampolla)

- **06/142, WHO Reference Reagent**

Permiten realizar la curva de calibración, mediante la cual después se realiza la extrapolación de los valores de los sueros estudiados.

Informe de Resultados

Las concentraciones de anticuerpos frente a antígenos de *B. pertussis* deben expresarse cuantitativamente en unidades internacionales (UI/ml), según la preparación de referencia 06-140. Si bien, los valores numéricos de UI/ml son equivalentes a los valores Unidades ELISA/ml (UE/ml), estas últimas han caído en desuso, debido a las concentraciones expresadas para el más reciente material de referencia caracterizado, el “standard” internacional 06/140.

Interpretación de los Resultados serológicos

Punto de corte o “valor cutoff”

En la práctica clínica, el diagnóstico en adolescentes y adultos se basa principalmente en la serología de una muestra utilizando un cutoff único. Varios valores de corte para IgG-anti-TP se han propuestos en base a estudios poblacionales. Actualmente se adoptan los criterios del CDC, hasta obtener valores acordes a nuestra epidemiología.

Valores IgG-anti-TP (UI/ml)	Interpretación
<49	Negativo
49-93	Indeterminado
≥ 94	Positivo

**Serología positiva + cumple con definición de Caso
Confirmado Coqueluche (*B.pertussis*)**

**Serología positiva pero NO cumple con definición de Caso
Probable Coqueluche (*B.pertussis*)**

Referencias

- Guiso N**, Berbers G, Fry NK, He Q, Riffelmann M, Wirsing von König CH. What to do and what not to do in serological diagnosis of pertussis: recommendations from EU reference laboratories. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2011;30:307–12
- European Centre for Disease Prevention and Control**. Guidance and Protocol for the serological diagnosis of human infection with *Bordetella pertussis*. Stockholm: ECDC; 2012.
- Baughman AL** Bisgard KM, Edwards KM, et al. Establishment of Diagnostic Cutoff Points for Levels of Serum Antibodies to Pertussis Toxin, Filamentous Hemagglutinin, and Fimbriae in Adolescents and Adults in the United States. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*. 2004;11(6):1045-1053. doi:10.1128/CDLI.11.6.1045-1053.2004.
- Kapasi A**, Meade BD, Plikaytis B, Pawlowski L, Martin BD, Yoder S et al. Comparative study of different sources of pertussis toxin (PT) as coating antigens in IgG anti-PT enzyme-linked immunosorbent assays. *Clin Vaccine Immunol*. 2012;19:64–72.
- Xing D**, Newland P, Rigsby P, Hockley J, Markey K, He Q. EUVAC.NET collaborative study evaluation and standardization of serology for diagnosis of pertussis. *J Immunol Methods*. 2011; 372:137–145.
- Xing D**, Wirsing von König CH, Newland P, Riffelmann M, Meade BD, Corbel M et al. Characterization of reference materials for human antiserum to pertussis antigens by an international collaborative study. *Clin Vaccine Immunol*. 2009;16: 303–311.
- Dalby T**, Sorensen C, Pedersen JW, Kroghfelt KA. Pertussis serology: Assessment of a quantitative IgG-anti-PT ELISA for replacement of the CHO cell assay. *Acta Pathol Microbiol Immunol Scand*. 2010;118: 968–72.

Servicio de Bacteriología Clínica – INEI – ANLIS “Dr. Carlos G. Malbrán:
Laboratorio Nacional de Referencia de Coqueluche

Jonathan Zintgraff
Claudia Lara

E-mail: zintgraff@anlis.gov.ar
E-mail: cslara@anlis.gov.ar

CALENDARIO NACIONAL DE VACUNACIÓN

El Estado Nacional garantiza **VACUNAS GRATUITAS** en centros de salud y hospitales públicos de todo el país

SECRETARÍA GENERAL DE SALUD

Edad	Vacunas					Polio	Rotavirus	Gripe	Hepatitis A	Tetralé (VPI)	Meningitis	Cofeografía n	Tighe	Tighe	Virus	Doble	Doble VPI	Fiebre	
	BCE (1)	Hespatitis B HB (2)	Neumococo conjugado (3)	Quemante DTP-HB-Hib (4)	IPV (5)														OPV (6)
Recién nacido	única dosis (A)	dosis neonatal (B)																	
2 meses			1º dosis	1º dosis	1º dosis														
3 meses																			
4 meses			2º dosis	2º dosis	2º dosis														
5 meses																			
6 meses				3º dosis	3º dosis														
12 meses			refuerzo																
15 meses																			
15-18 meses																			
18 meses																			
24 meses																			
5-6 años (ingreso escolar)																			
11 años																			
15 años																			
Adultos																			
Embarazadas																			
Puerperio																			
Personal de salud																			

- (1) DTP; (2) Inmunización General; (3) Hib; (4) DTP-HB-Hib; (5) IPV; (6) OPV; (7) Rotavirus; (8) Rotavirus; (9) Gripe; (10) Hepatitis A; (11) SFP; (12) Meningitis; (13) Cofoeografía n; (14) Batrimom Gálbur DTP; (15) Batrimom Acetilur d'po VPI; (16) Virus; (17) Bacterias; (18) Doble VPI SFP; (19) Amavilla HA; (20) Hespatitis Argentina EHA.

- (A) Única dosis; (B) Dosis neonatal; (C) 1º dosis; (D) 1º dosis; (E) 1º dosis; (F) 1º dosis; (G) 1º dosis; (H) 1º dosis; (I) 1º dosis; (J) 1º dosis; (K) 1º dosis; (L) 1º dosis; (M) 1º dosis; (N) 1º dosis; (O) 1º dosis; (P) 1º dosis; (Q) 1º dosis; (R) 1º dosis; (S) 1º dosis; (T) 1º dosis; (U) 1º dosis; (V) 1º dosis; (W) 1º dosis; (X) 1º dosis; (Y) 1º dosis; (Z) 1º dosis.

- (1) Menor edad en un caso; (2) Mayor edad en un caso; (3) Menor edad en un caso; (4) Mayor edad en un caso; (5) Menor edad en un caso; (6) Mayor edad en un caso; (7) Menor edad en un caso; (8) Mayor edad en un caso; (9) Menor edad en un caso; (10) Mayor edad en un caso; (11) Menor edad en un caso; (12) Mayor edad en un caso; (13) Menor edad en un caso; (14) Mayor edad en un caso; (15) Menor edad en un caso; (16) Mayor edad en un caso; (17) Menor edad en un caso; (18) Mayor edad en un caso; (19) Menor edad en un caso; (20) Mayor edad en un caso.

Para más información:
0-800-222-1002 salud.gob.ar



ANEXO 1