



El Colegio de la Frontera Sur

**Análisis de la infección por *Bordetella pertussis* en menores
de cinco años del Hospital de Las Culturas de San Cristóbal
de Las Casas, Chiapas**

Tesis
presentada como requisito parcial para optar al grado de
Maestra en Ciencias en Recursos Naturales y Desarrollo Rural
Con orientación en Salud

Por

Castañon Ortiz Jazmin Guadalupe

2019



El Colegio de la Frontera Sur

San Cristóbal de Las Casas Chiapas, ____ de _____ de 2020.

Las personas abajo firmantes, miembros del jurado examinador de:

Jazmin Guadalupe Castañon Ortiz

hacemos constar que hemos revisado y aprobado la tesis titulada

Análisis de la infección por *Bordetella pertussis* en menores de cinco años del Hospital de Las Culturas de San Cristóbal de Las Casas, Chiapas.

para obtener el grado de **Maestro (a) en Ciencias en Recursos Naturales y Desarrollo Rural**

	Nombre	Firma
Director/a	Dr. Héctor Javier Sánchez Pérez	_____
Codirector	Dr. Anaximandro Gómez Velasco	_____
Asesor /a	Dra. Alied Bencomo Alerm	_____
Asesor /a	Dr. Jorge Leonel León Cortes	_____
Sinodal adicional	Dr. Juan Carlos Nájera Ortiz	_____
Sinodal adicional	Dr. Arturo Torres Dosal	_____
Sinodal adicional	Dr. Gerardo Alberto González Figueroa	_____

DEDICATORIA Y AGRADECIMIENTOS

A mi familia: Flor de María Ortiz Cholac; a mis hermanos Ma. Hassiby Castañon Ortiz, Sergio Castañon Ortiz, Ma. Karina Castañon Ortiz; a mi abuela Flor de Ma. Cholac González, mi abuelo Nahum Ortiz Ruiz, Jesús González Pérez. A ellos por su cariño y confianza que me ayuda a tener la fuerza mental y espiritual para realizar mis proyectos de vida.

A mi comité y colaboradores del proyecto Análisis epidemiológico y molecular: Dr. Héctor Javier Sánchez Pérez, Dr. Anaximandro Gómez Velasco, Dr. Jorge León Cortés, Dr. Javier Gutiérrez Jiménez, Dra. Ma. Adelina Schlie Guzmán, Dra. Mercedes Flores López, Dra. Elvira Garza González, Microbióloga de la Universidad Autónoma de Nuevo León (UANL); M.C. Jessica Lizzeth Gutiérrez Ferman. A los participantes del proyecto tosferina química Jodie Nohely Guillén Vázquez, el enfermero José Eduardo Teomitzi Díaz y al personal de salud, doctores y enfermeras, del área de Urgencias Pediátrica del Hospital de Las culturas de San Cristóbal de Las Casas. Por todo su apoyo intelectual y humano en el desarrollo de la tesis.

Al CONACYT por la beca nacional para estudios de posgrado otorgada durante el transcurso de la maestría, ya que gracias a ello pude sustentar mi posgrado. A la Fundación Ford por los recursos otorgados para el desarrollo del proyecto. A la beca del PATM por medio de los convenios realizados por ECOSUR, y al apoyo económico otorgado por el ICTIECH del programa "beca tesis para posgrado convocatoria 2019".

CONTENIDO

DEDICATORIA Y AGRADECIMIENTOS	3
RESUMEN.....	6
INTRODUCCIÓN.....	7
ESTADO DEL ARTE	12
Generalidades de la tosferina.....	12
Vacunación contra la tosferina	13
Vacunación contra la tosferina en México	14
Antecedentes y epidemiología de la Tosferina en México.....	16
Características biológicas de <i>Bordetella pertussis</i>	20
Divergencia antigénica entre cepas vacunales y circulantes	21
Patogenia.....	22
Características clínicas de la enfermedad	26
Diagnóstico.....	28
Tratamiento.....	33
JUSTIFICACIÓN.....	34
PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.....	36
HIPÓTESIS	36
OBJETIVOS.....	36
Objetivo General:.....	36
Objetivo específico:	36
METODOLOGÍA.....	37
Lugar y población de estudio.....	37
Criterios de inclusión	37
Criterios de exclusión	37
Procedimiento de recolección de datos	38
Toma de muestra de Exudado Nasofaríngeo (ExNf).....	38
Diagnóstico microbiológico.....	39
Residuos peligrosos biológicos infecciosos (RPBI)	43
RESULTADOS	44
DISCUSIÓN	53
CONCLUSIONES.....	58
ANEXOS.....	60

Aspectos Éticos	60
Literatura Citada	63
Cuadros y Figuras	69

RESUMEN

Objetivo. Determinar la tasa de positividad a *B. pertussis* y los factores clínicos y epidemiológicos asociados a dicha positividad.

Métodos. Se realizó un estudio transversal, del 1 de marzo al 25 de octubre de 2019, en el que se incluyeron todos/as los/as niños/as menores de cinco años de edad, que fueron admitidos al servicio de urgencias pediátricas del Hospital de Las Culturas, de San Cristóbal de Las Casas, Chiapas, y que presentaban signos y síntomas compatibles con tosferina y/o síndrome coqueluchoide (n=38). A los padres de las y los niños incluidos en el estudio, se les entrevistó para recopilar información demográfica, epidemiológica y clínica de las y los niños, a los cuales se les tomaron dos muestras de exudados nasofaríngeos para realizar el diagnóstico confirmatorio por cultivo, MALDI-TOF y PCR-TR. De manera adicional, se tomaron datos sanguíneos, de la fórmula blanca, del expediente clínico de las y los niños estudiados, con el fin de utilizarlos para analizar la positividad de infección mediante un predictor clínico que incluyó las concentraciones de leucocitos \geq a $21.6 \times 10^3 /\mu\text{l}$ y linfocitos a $\geq 11.5 /\mu\text{l}$, analizando la asociación con las variables en estudio.

Resultados: Se evidenció la presencia de casos de tosferina: la tasa de positividad por cultivo fue de 5.4%; por PCR-TR, 16.12% y, por el predictor clínico, 36.66%. No se encontró ninguna asociación estadísticamente significativa entre la positividad a tosferina y las variables analizadas. También se encontró una alta proporción (78.9%) de niños/as que no tenían su esquema completo de vacunación contra esta enfermedad.

Conclusiones: Es necesario mejorar la prevención y el diagnóstico de casos de tosferina por parte de los servicios de salud de la región, mediante la capacitación y sensibilización al personal, así como dotarlo de los equipos e insumos para la vacunación y detección de casos de esta enfermedad.

Palabras claves: Tosferina; Disnea paroxística; Leucocitosis; Linfocitosis; México;

Key words: Whooping Cough; Dyspnea, Paroxysmal; Leukocytosis; Lymphocytosis; Mexico.

INTRODUCCIÓN

La tosferina, también llamada tos convulsiva y pertussis, es una enfermedad infecciosa y altamente contagiosa, causada por la bacteria *B. pertussis*, que está reemergiendo en varios países (Hernández Porras and González Saldaña 2014).

La sintomatología de la tosferina se clasifica en tres fases: 1. La catarral, que se manifiesta como una gripe; 2. La paroxística, en la que se presentan los episodios característicos de la tosferina de tos violenta, generando el denominado “gallo inspiratorio”; y, 3. La fase de convalecencia, en la que disminuyen los accesos de tos (Mancebo Hernández et al. 2005). Estos síntomas son muy parecidos al padecimiento clínico “Síndrome Coqueluchoide”, por lo que se le ha considerado para referirse a los signos y síntomas de la tosferina sin confirmación, siendo el síntoma más común la tos paroxística o en accesos, sin importar la duración, ya que el síndrome coqueluchoide puede ser causado por otros agentes etiológicos principalmente por el virus sincitial respiratorio (Dotres Martínez et al. 2012), así como *Mycoplasma pneumoniae* o el virus parainfluenza tipo 1, 2 y 3, entre otros agentes microbiológicos (SSA 2018).

A nivel mundial, la tosferina ha sido y es una de las diez primeras causas de muerte en niños menores de un año, grupo en el que a inicios de la década del 2010, se tuvo un estimado de 50 millones de casos y 300,000 defunciones por año (OPS 2012). De acuerdo a estimaciones de la Organización Mundial de la Salud (OMS) en 2013, en el ámbito mundial la tosferina causó al menos, 63,000 muertes en menores de 5 años de edad, aun con el subdiagnóstico y subregistro de casos que se sabe existe de esta enfermedad (WHO 2015). El subdiagnóstico y subregistro se hizo evidente en un estudio de la carga global de tosferina en menores de 5 años, estimando para el año 2014, una carga de 24.1 millones de casos y 160,700 muertes en este grupo de edad, presentándose la mayor proporción en la región Africana con 7.8 millones de casos y 92,500 muertes (Ting Yeung et al. 2017). Asimismo, para el año 2018 la OMS reportó 151,074 casos nuevos y un estimado de 89,999 de muertes estimadas para el año 2008 en el mundo (WHO 2019a)¹.

¹ WHO por sus siglas en inglés Organización Mundial de la Salud

Se ha registrado que la tosferina mantiene ciclos de brotes epidémicos cada dos a cinco años (WHO 2015). Si bien el 90% de los casos de tosferina se encuentran en países en desarrollo, donde la tasa de letalidad puede ser hasta del 4% en menores de un año (Breña Cantu et al. 2018), algunos países desarrollados también han determinado un incremento de la enfermedad (Cantarelli et al. 2013), tal como es el caso de Estados Unidos de América, el Reino Unido, Australia, Holanda y Japón, entre otros (Ojeda González 2017), aun cuando estos países tienen altas coberturas de vacunación (Domenech de Cellès et al. 2016).

Este aumento de casos de tosferina, en los que México está incluido por la presencia de brotes (Pérez Pérez et al. 2015), ha coincidido con el cambio del tipo de vacuna contra la tosferina: de vacuna celular o de células completas (VC), a la vacuna acelular (VA). La VA es empleada en la mayoría de los países (WHO 2015) y se le considera como uno de los factores principales del resurgimiento de la tosferina –por una posible disminución de la inmunidad-, aunque este resurgimiento no es global (Domenech de Cellès et al. 2016). Otros factores asociados, han sido: la corta inmunidad inducida por la infección natural por *B. pertussis*, el incompleto o nulo esquema de vacunación y, la propia evolución de *B. pertussis* (Wood and McIntyre 2008), además de la disponibilidad de métodos de diagnóstico más sensibles.

La Organización Panamericana de la Salud (OPS 2012) emitió en noviembre del 2012 una alerta epidemiológica con recomendaciones para incrementar la vigilancia de la enfermedad y aumentar la cobertura de vacunación, especialmente en el grupo más susceptible, que son los niños menores de cinco años de edad. Esta alerta fue por el aumento en el número de casos de tosferina en países como Argentina, Brasil, Chile, Colombia, Guatemala, Paraguay, Estados Unidos de América y México, presentando algunos un incremento entre 50 a 100% en el número de casos (véase Tabla 1 de anexos).

En la región de las Américas, la cobertura de vacunación contra tosferina se ha mantenido en un 91% en el periodo del 2015 al 2017, aun así, en esta misma región, se reportaron en el año 2017 un total de 10,232 casos de tosferina (WHO 2018).

La VA empleada actualmente en México para la prevención de la tosferina es la denominada pentavalente (DPaT+VIP+Hib) que contiene: el toxoide pertússico (Pa) contra tosferina, el toxoide diftérico (D) contra la Difteria, el toxoide tetánico (T) contra el tétanos, los virus de la poliomielitis inactivados tipos I, II y III (VIP) contra la poliomielitis, y una proteína de la bacteria *Haemophilus influenzae* tipo b (Hib) contra la infección por esta bacteria (SSA 2015a). Se aplica a los 2, 4, 6 y 18 meses de edad con un refuerzo de DPT a los 4 años de edad (SSA 2015b). Reportes oficiales indican que la cobertura nacional en el año 2016 fue del 97% (OMS 2018).

En México, los casos de tosferina se mantuvieron relativamente estables en el periodo 2000 a 2007. En el 2000 se reportaron 53 casos (Ojeda González 2017). Para el año 2008 se reportaron 162 y, en el 2009, 579 casos, con una tasa de incidencia nacional para estos dos últimos años de 0.14 y 0.50 por 100,000 habitantes. Dicho incremento de casos fue atribuido a la sensibilización del personal de salud para la búsqueda intencionada de casos sospechosos, así como a la introducción de la técnica molecular reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (PCR-TR) para el diagnóstico de la enfermedad (SSA 2018). Es pertinente mencionar que, si bien en el bienio del 2011-2012 Chiapas fue uno de los estados donde se realizaron pruebas piloto de la PCR-TR, actualmente no se continúa con la realización de esta prueba.

Para el 2012 se reportaron en todo el país 1,100 casos de tosferina, con una tasa de incidencia de 0.94 por cada 100,000 habitantes (SSA 2018). El grupo de edad con mayor número de casos (en un 85%), fue el de menores de un año de edad. Los estados que reportaron mayor número de casos, en orden descendente, fueron: Nuevo León, Sonora, Tamaulipas, Jalisco, Durango, Chihuahua y Chiapas (Breña Cantu et al. 2018).

En el año 2013 se reportaron en México 955 casos de tosferina (SSA 2018) y una tasa de mortalidad en los menores de un año de 2.4 por 100,000 niños (SINAVE 2016). En los siguientes años presentó un comportamiento cíclico, de subidas y bajadas, de 955, 1,107 y 1,029 casos de tosferina en 2014, 2015 y 2016, respectivamente (SSA 2018). En 2017 el Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica (SINAVE) reportó en el boletín epidemiológico 622 casos; para 2018 fueron 657 casos (SINAVE 2018) y, el año 2019 (véase figura 1 de anexos) dan una cifra de 791 casos (SINAVE 2019).

Este mismo boletín reportó para el estado de Chiapas 68, 87,26, 23 y 39 casos (Figura 2) para los años 2015 (SINAVE 2015), 2016, 2017 (SINAVE 2017), 2018; y el año 2019, respectivamente (SINAVE 2019).

En la región de los Altos de Chiapas², no existen estudios actuales sobre la situación epidemiológica de la tosferina. Sin embargo, en la conferencia “Epidemiología de la tosferina en Chiapas”, dictada por la epidemióloga del Instituto de Salud del Estado de Chiapas (ISECH) Claudia Patricia Nolasco Gómez en septiembre de 2015, se dieron a conocer los siguientes datos y recomendaciones:³

- En una investigación efectuada por el Laboratorio Estatal de Salud Pública del Estado de Chiapas (LESP-Chiapas), la Universidad Autónoma de Chiapas (UNACH) y la Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas (UNICACH) entre 2012 y 2014, se confirmó el aumento en la incidencia de esta enfermedad. De 1,719 personas atendidas, en 1,454 muestras se encontraron anticuerpos contra *B. pertussis*, 313 casos fueron considerados probables y en 130 se identificó la presencia de la bacteria.
- Por cada caso identificado de tosferina, se tiene que hacer la búsqueda de casos, en por lo menos cinco contactos domiciliarios (padres, hermanos, otros familiares) y extradomiciliarios (vecinos, compañeros de escuela) para la detección de la enfermedad.
- Según reportes publicados por la Dirección General de Epidemiología de la SSA, de 2003 a 2013 hubo un aumento de 200% de casos confirmados de tosferina. De 2000 a 2011, la enfermedad mostró un patrón oscilatorio, similar al observado en otros países, con exacerbaciones de 3-5 años. En 2009 hubo 579 casos notificados, para 2010 hubo un decremento y, para 2011, un incremento de 19% con respecto al año 2009
- La tosferina va al alza en Chiapas y, la mayoría de los casos se presenta en periodos de invierno y verano, lo que está asociado a cambios de temperatura. Tapachula y Tuxtla Gutiérrez son los municipios en los que se reportan más casos, aunque la localidad con mayor riesgo es San Lucas, ubicada en los Altos de Chiapas, donde la

² También llamada región Tseltal-Tsotsil

³ Promoción de la Salud. Centro de Noticias. Confirman presencia de casos de tosferina en Chiapas. Disponible en: <http://www.promocion.salud.gob.mx/cdn/?p=16436> Fecha de acceso: 6 de junio de 2019.

mayoría de los casos se encontraron en menores de un año, con mayor frecuencia en mujeres.

Por otra parte, la revista Proceso publicó el 14 de junio del 2007 el reportaje titulado “Catorce muertos por epidemia de tosferina en comunidades de Chiapas” (La Redacción 2007), en el que se señalan los siguientes aspectos, de acuerdo a información proporcionada por la Junta de Buen Gobierno (JBG) del Ejército Zapatista de Liberación Nacional (EZLN) “Corazón Céntrico de los Zapatistas Delante del Mundo”:⁴

- Al menos 14 muertos (en su gran mayoría niños) y más de 20 personas infectadas, debida a una epidemia de tosferina en seis comunidades indígenas de la Cañada de la región de Los Altos de Chiapas, ubicadas en el municipio de San Juan Cancuc, el cual figura como uno de los 100 más pobres del país.
- Las autoridades sanitarias estatales y municipales, advirtieron a la población infectada que, si daban a conocer esta epidemia, podrían llegar a perder los recursos de los programas Oportunidades y Progresá.

Como puede apreciarse de la nota anterior, según la JBG los casos no estaban notificados en la Secretaría de Salud (SSA) “por conflictos políticos que impedían el acceso a la atención de salud”, por lo que se intuye que no hubo un diagnóstico confirmatorio. Esta noticia también expone la exclusión social, de salud y polarización política que se vive en la región de Los Altos de Chiapas, ejemplificado con la negación o rechazo a la vacunación contra tosferina y otras enfermedades.

Sobre este brote, según información proporcionada por el encargado del Departamento de Epidemiología de la Jurisdicción Sanitaria II de San Cristóbal de Las Casas, Dr. Cuauhtémoc Zapata Cabrera,⁵ lo que la SSA tiene reportado es que, si bien “por parte de la SSA se estudiaron tanto niños y adultos, solo se confirmó la presencia de casos de tosferina en adultos”. Según el Dr. Zapata se recolectaron en ese entonces 185 muestras provenientes de niños, niñas y sus contactos, sin desglosar cuántas de cada categoría,

⁴ Catorce muertos por epidemia de tosferina en comunidades de Chiapas. La Redacción (Revista Proceso). Disponible en: <https://www.proceso.com.mx/208904/catorce-muertos-por-epidemia-de-tosferina-en-comunidades-de-chiapas> Fecha de acceso 6 de junio de 2019.

⁵ Entrevista efectuada de manera personal, por la autora el 12 de diciembre de 2019 en las oficinas de la Jurisdicción Sanitaria No. II en San Cristóbal de Las Casas, Chiapas.

solo hizo mención que “de esas 185 muestras, la mayoría eran niños/as, pero que los casos positivos encontrados –sin mencionar cuántos-, fueron solamente en adultos. Además, señaló que dicha población no se encontraba vacunada por rechazo a los servicios gubernamentales (“eran renuentes”) y, consideró que el no haber encontrado casos en niños, obedeció a que probablemente, el momento del diagnóstico, “la mayoría de los niños presentaban muchas complicaciones y ya tenían tiempo con la enfermedad, lo que pudo haber afectado en la confirmación del diagnóstico de tosferina”.

La falta de material y equipo para el diagnóstico, concientización e información de la tosferina en la región de los Altos de Chiapas, aunado a la presencia de casos sospechosos de tosferina y/o de síndrome coqueluchoide, es lo que motiva la presente investigación enfocada al análisis de la tosferina, en lo relativo a las características clínicas, epidemiológicas asociadas a la presencia de *B. pertussis* en niños menores de cinco años con síndrome coqueluchoide admitidos al Hospital de Las Culturas de San Cristóbal de Las Casas, durante el periodo del 1 de marzo al 25 de octubre de 2019.

El propósito es contribuir a conocer la epidemiología de la tosferina en esta región, con el fin de contar con mayores criterios clínicos y epidemiológicos para formular estrategias que ayuden a prevenir y controlar la cadena de transmisión de la enfermedad en la región; y, para aislar y tener una colección de cepas de *B. pertussis*, que servirán en el futuro a otras investigaciones, como el proyecto “Análisis epidemiológico y molecular de *Bordetella pertussis* en niños admitidos al Hospital de las Culturas de San Cristóbal de Las Casas, Chiapas” –del cual se desprende el presente estudio–, para conocer su diversidad genética.

ESTADO DEL ARTE

Generalidades de la tosferina

La tosferina es una enfermedad respiratoria aguda infecto-contagiosa, denominada también “tos quintosa” o “canto de gallo” (*whooping cough*) (SSA 2018). Es causada por la bacteria *B. pertussis*, la cual habita en la boca, nariz y garganta del infectado, y es transmitida al expulsar aerosoles, o por contacto directo de secreciones respiratorias

producidas al toser o estornudar (Dotres Martínez et al. 2012). Existen otras especies que causan síntomas similares a la tosferina, descritas en el cuadro 3 de anexos, algunas de las cuales son *B. parapertussis* y *B. holmessi* -que generan una sintomatología más leve que la causada por *B. pertussis*- y, *B. bronchiseptica*, que se ha identificado como generadora de enfermedad en personas inmunocomprometidas y en animales domésticos como perros, gatos y cerdos (Kilgore et al. 2016).

Debido a que el síndrome coqueluchoide presenta signos y síntomas similares a la tosferina, y que pueden generarlo otros agentes bacterianos además de la *B. pertussis* es necesario su diagnóstico de laboratorio para confirmar la infección de *B. pertussis* en casos con esta sintomatología.

Vacunación contra la tosferina

Históricamente han existido dos tipos de vacunas contra la tosferina. Las primeras vacunas empleadas fueron las vacunas completas VC en 1914, y eran preparadas a partir de células muertas de *B. pertussis*. En 1948 se combinó con los toxoides tetánico y diftérico, dando lugar a la vacuna DPT, por sus siglas en inglés, diphtheria, tetanus and pertussis (WHO 2015), introduciéndola en países de alto ingreso, y para 1954 en México. En 1999, se introduce la VC pentavalente (DPT+HB+Hib), en los que se les agregó toxoides para la protección contra Hepatitis B (HB) y *Haemophilus influenzae* (Hib), las cuales se sumaron a las ya incluidas anteriormente tosferina, difteria y tétanos (Hernández Porras and González Saldaña 2014).

La VC generó una disminución en las tasas de incidencia y mortalidad por tosferina, principalmente en menores de cinco años –el grupo etario más afectado por la enfermedad-, debido a su eficacia protectora, alcanzando entre 80-95%, por lo que se incluyó en los calendarios de vacunación nacionales de muchos países y, desde 1974, en los programas de inmunización de la OMS (InDRE 2015).

Sin embargo, la VC fue asociada a efectos secundarios adversos, entre los que incluían fiebre elevada, dolores que generaban llantos inconsolables, convulsiones y encefalopatías (Melvin et al. 2014), lo que impulsó el desarrollo de la VA, siendo Japón el primer país en implementarla en 1981. A diferencia de las VC, la VA sólo incluye uno o varios antígenos específicos purificados a partir de cultivos de *B. pertussis*. Tales

antígenos pueden ser: Toxina pertussis (PT), Hemaglutina filamentosa (FHA), Pertactina (PRN), y Fimbrias (FIM) de tipo 2 y 3. Cada tipo de vacuna se fabrica a concentraciones diferentes de antígenos y con una cepa diferente de *B. pertussis*, lo que no permite que se pueda generalizar el efecto de las vacunas a nivel mundial. En este sentido, la implementación de distintos esquemas de vacunación alrededor del mundo, aproximadamente 80 tipos, también impide un efecto generalizado en el ámbito global (WHO 2015).

Las primeras formulaciones de VA contenían sólo la PT, luego se adicionó el antígeno FHA (WHO 2015). En la actualidad existen formulaciones que contienen de tres a cinco antígenos formulados con PT, FHA, FIM 2 y 3, y PRN (WHO 2015). El tiempo de protección asociada a la VA es de aproximadamente 5 y 10 años (Pérez Pérez et al. 2015), por lo que se recomienda un refuerzo de la VC a los cuatro años de edad, la cual tiene un tiempo de protección de aproximadamente 12 años (WHO 2015).

Vacunación contra la tosferina en México

En México, el cambio hacia la VA inició en el 2007 utilizando la denominada “vacuna pentavalente acelular” (DPaT+VIP+Hib), la cual es una combinación de antígenos que son parte de las bacterias y virus contra las que protege la vacuna: el toxoide diftérico (D) contra la Difteria; el toxoide tetánico (T) contra el tétanos; el toxoide pertússico (Pa) contra la tosferina; los virus de la poliomiелitis inactivados tipos I, II y III (VIP) contra la poliomiелitis; y, una proteína de la bacteria *Haemophilus influenzae* tipo b (Hib) contra la infección por esta bacteria (SSA 2015a). Cuando se compone solo de los antígenos contra la Tosferina, Difteria y Tétanos, se le denomina DPaT o DTaP (Pérez Pérez et al. 2015)

Actualmente la aplicación de esta vacuna, es a los 2, 4, 6 y 18 meses de edad, por vía intramuscular, en menores de 18 meses en el muslo derecho, siendo el músculo más desarrollado a esta edad, el cual garantiza la eficacia vacunal y, en mayores de 18 meses de edad, se aplica en el músculo deltoides (SSA 2015). Diversos estudios han documentado que, con una sola dosis de vacunación contra tosferina se puede tener una protección del 50% contra la forma grave de la enfermedad en menores de un año, en

tanto que con dos dosis se obtiene una protección de hasta el 80%, de manera que la inmunogenicidad aumenta gradualmente con cada dosis vacunal (WHO 2015).

Otro grupo susceptible de ser vacunado en México, lo constituyen las mujeres embarazadas, para el cual la estrategia de vacunación es aplicar una sola dosis de refuerzo de la vacuna Tdpa entre las 20 y 32 semanas de gestación. Dicha vacuna contiene la dosificación de toxoides tetánicos (T), diftérico en cantidad reducida (d) y fracción acelular de Pertussis con carga antigénica estándar (pa), que protegen contra la tosferina, el tétanos y la difteria (SSA 2010). Esta estrategia, llamada “capullo” comenzó en el año 2013 para proteger al recién nacido y a lactantes menores de dos meses (antes del inicio del esquema de vacunación). El fundamento de esta estrategia es la generación de anticuerpos de la madre, que son transferidos al bebé a través de la placenta (Hernández Porras and González Saldaña 2014). Sin embargo, hay estudios que describen que no hay producción de anticuerpos contra tosferina en las mujeres embarazadas, lo que explica parcialmente la presencia de tosferina en recién nacidos de madres a las que se les fue aplicada la vacuna Tdpa (Villarreal Pérez et al. 2014).

La vacunación contra la tosferina, además de brindar protección directa, que es la inducida por la vacuna, también brinda protección a los no vacunados –de manera indirecta-, al generarles un menor riesgo de infección, siendo esto de importancia para el éxito de programas de vacunación (Domenech de Cellès et al. 2016).

En un estudio realizado en Estados Unidos de América en el periodo de 1998 a 2001, en el que se evaluó la efectividad de la aplicación de vacunas contra la tosferina en niños de entre 6 y 59 meses de edad, se encontró que la mejor combinación en cuanto a protección, era utilizando tres dosis de la vacuna celular DPT y una dosis de la vacuna acelular DTaP después de los 14 meses de edad, confiriendo mayor protección por parte de la DPT (Bisgard et al. 2005).

Para el año 2014, la OMS (WHO 2015) estimó un 86% de cobertura mundial de vacunación contra la tosferina en niños; para el 2017 estimó un 92% de cobertura de 3 dosis de la vacuna contra tosferina, difteria y tétanos (WHO 2018). La Cobertura estimada por la OMS para esta misma vacuna en el 2018 fue del 86% a nivel mundial (WHO 2019a) y, aunque esta cifra parezca alta, no es suficiente ya que se necesita una cobertura de

alrededor del 95% según las recomendaciones de la OPS/OMS para disminuir la reemergencia de la tosferina (OPS 2012), criterio que no se está cumpliendo y que, de alcanzarse, podrían evitarse 1.5 millones de muertes (WHO 2019b).

Antecedentes y epidemiología de la Tosferina en México

La tosferina en México ha sido una enfermedad prevalente desde hace muchos años. Hay registros de las primeras descripciones de esta enfermedad desde 1836, realizadas por el doctor Manuel Andrade, el cual publicó en el periódico de la Academia de Medicina de dicho año, una nota donde indicaba el aumento de casos de tosferina en México, describiendo el cuadro clínico, complicaciones de esta enfermedad, mencionando ya el alto grado de contagio al narrar su experiencia con pacientes convivientes de enfermos de tosferina, así también aportó desde su experiencia tratamientos para esta enfermedad (Carrado Bravo et al. 1982).

El Dr. José María Lugo Hidalgo, en 1898, también contribuyó con tratamientos para la tosferina, publicando en la *Gaceta Médica de México* los beneficios del bromoformo para el tratamiento de esta enfermedad, así como también investigó algunos procesos de su patología, al mencionar que el neumococo invadía el parénquima pulmonar, generando las complicaciones respiratorias (Carrado Bravo et al. 1982).

Se sabe que desde antes de la utilización de las vacunas contra la tosferina, esta enfermedad se presentaba, y se sigue presentando (Murray et al. 2013), en mayor proporción y con complicaciones clínicas en menores de un año de edad y era una causa común de muerte en esta población. Esto se demuestra en el registro de casos de tosferina en la República Mexicana para el año de 1903, teniendo 11,383 defunciones en menores de un año con una mortalidad de 28.26 por cada 1,000 niños menores de un año, y 17,859 defunciones por tosferina en niños de todas las edades. En ese mismo año, la tasa de mortalidad a nivel nacional fue de 15.25 por cada 10,000 habitantes (Carrado Bravo et al. 1982).

Posteriormente, la estimación del número de defunciones por tosferina en el periodo de 1922 a 1941 fue de 251,983, de las cuales, el 39% fueron en menores de un año de edad (Carrado Bravo et al. 1982).

En los primeros años de la década de 1930 en México, el número de menores de cinco años que fallecieron por causa de la tosferina fue de aproximadamente 10,000 (Ojeda González 2017). Para el año de 1940 se logró generar el primer lote de vacuna contra la tosferina en México realizado por la Dra. Pearl Kendrick, aunque aún no se había ampliado el programa de vacunación contra la enfermedad, por lo que se seguía considerando como la tercera causa de muerte infantil en el país (Carrado Bravo et al. 1982).

Es por ello que el director del Laboratorio de Epidemiología y Bioestadística del Instituto de Enfermedades Tropicales, el Doctor Miguel E. Bustamante, promovió la prevención de la enfermedad al incluir dentro del programa de vacunación, la vacuna contra la tosferina (Carrado Bravo et al. 1982).

México registró 519,413 defunciones por tosferina en un intervalo de 54 años (1922 a 1975) con tendencias a veces descendentes y, otras con picos epidémicos, tal como puede apreciarse en el Cuadro 1 (Carrado Bravo et al. 1982).

En cuanto a la morbilidad por tosferina se reportaron 998,258 casos en México durante el periodo de 1941-1979, presentando la mayor morbilidad en 1942 con 33,825 casos y una tasa de 165.9 por 100,000 habitantes (Cuadro 2).

En 1950, gracias a la implementación de la vacunación contra la tosferina en el país, se logró una importante disminución en la morbilidad y mortalidad, la cual se ubicó en ese año con una tasa de 46.1 defunciones por 100,000 habitantes (Ojeda González 2017), en comparación con épocas anteriores (1934), en las que se presentaba una tasa de mortalidad de hasta 113.6 por 100,000 habitantes. Sin embargo, en 1950 la erradicación de la tosferina era un desafío, ocupando en ese año el cuarto lugar como causa de defunciones en todas las edades, presentándose el 97% en menores de cinco años y, de este porcentaje, el 71% en menores de 1 año (Ojeda González 2017).

En México, año con año ha venido disminuyendo la mortalidad por tosferina. No obstante, se observó un incremento en el periodo de 2008-2015; en el año 2009 se presentaron 32 defunciones en menores de cinco años con una tasa de mortalidad de 0.33 por cada

100,000 niños del mismo grupo de edad; para el 2011 se notificaron 44 defunciones con una tasa de mortalidad de 0.39 con el mismo denominador (Ojeda González 2017).

Chiapas, por su parte, sufrió una elevada mortalidad por tosferina entre 1936 y 1940, así como entre 1955 y 1959, siendo de los diez primeros estados con mayor mortalidad por tosferina, registrando una tasa de mortalidad de 46.3 por 100,000 habitantes y, posteriormente, en el periodo que va de 1968 a 1975, se ubicó como uno de los tres estados con mayor mortalidad por tosferina (Carrado Bravo et al. 1982).

Para el año de 1979 las tres instituciones de salud más importantes en México: la Secretaría de Salubridad y Asistencia de México (actualmente Secretaría de Salud), el Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) y el Instituto de Seguridad y Servicios Sociales de los Trabajadores del Estado (ISSSTE), reportaron entre las tres, 4,680 casos de tosferina, en los que Chiapas fue de los estados con más casos diagnosticados. De acuerdo a reportes de la SSA, los estados con más casos fueron: Oaxaca (434), Chiapas (354) y Chihuahua (123). En el IMSS fueron: Distrito Federal (DF) y Estado de México (465), Jalisco (264), Chiapas (223) y Veracruz (210). En el ISSSTE fueron: DF (12), Chiapas (6), Puebla (6) y, Sonora (6) (Carrado Bravo et al. 1982). Sin embargo, el número de casos pudo haber sido mayor, debido a que solamente se contabilizó a la población que tenía acceso a servicios de salud en las instituciones mencionadas.

En un estudio realizado en México sobre la seroepidemiología de la tosferina a nivel nacional, para el periodo de 1987-1988, se evidenció la importancia de la vacunación contra la tosferina, al presentar mayor frecuencia de casos con seropositividad en pacientes vacunados, en comparación con los no vacunados (Sapián López et al. 1992) aportando evidencias de la protección conferida a través de la vacunación.

México presenta ciclos epidémicos de la tosferina cada tres a cinco años (Mancebo Hernández et al. 2005), comportamiento epidemiológico que también se observa en otros países. En un estudio epidemiológico en la ciudad de México en pacientes derechohabientes del IMSS durante el periodo de 1992 a 2011, se pudo observar este comportamiento cíclico en la frecuencia de casos de tosferina que, si bien, desde 1992 se habían reportado apenas cuatro casos confirmados, en 1997 se presentó un alza a 144 casos. Años antes, en 1994, se publicó la NOM-017-SSA2-1994 para la vigilancia

epidemiológica de enfermedades prevenibles por vacunación, la cual definía el síndrome coqueluchoide que, al operacionalizar la sintomatología, permitió delimitar y facilitar la comprensión de lo que debe considerarse como dicho síndrome, favoreciendo un mejor diagnóstico y, por ende, una mayor posibilidad de captar más casos de tosferina. Posteriormente ocurrieron descensos y ascensos no significativos en varios años seguidos, hasta la aparición de un brote a nivel nacional en 2009 con 141 casos en población derechohabiente, y a nivel nacional 579 casos positivos de tosferina (Pérez Pérez et al. 2015).

Para el año 2010 disminuyeron a 64 casos y, para 2011, aumentaron a 101 casos en población derechohabiente y 455 casos a nivel nacional, si bien el aumento de casos en 2011 se atribuyó a la implementación de un mayor y mejor diagnóstico, introduciendo técnicas moleculares más eficaces como la Polymerase Chain Reaction (PCR, por su acrónimo en inglés) (Pérez Pérez et al. 2015).

El grupo de edad más afectado por la infección de *B. pertussis* ha sido el de los menores de un año, pero el número de casos en adolescentes y adultos ha venido aumentando, situación epidemiológica observada tanto en México como en varios países del mundo. Estos dos grupos de edades son los mayores reservorios y transmisores de dicha infección, ya que manifiestan la enfermedad con síntomas leves y sin complicaciones, o muchas veces son asintomáticos, por lo que muchas veces no son diagnosticados (Pérez Pérez et al. 2015).

El estudio de la seroepidemiología de la tosferina en México (Sapián López et al. 1992) también describe esta situación, en el sentido de que la cantidad de anticuerpos va disminuyendo conforme aumenta la edad, es decir, que la protección dada por la inmunidad de la vacuna se va reduciendo a medida que aumenta la edad, lo cual se asocia con el incremento de casos positivos a tosferina en adolescentes y adultos reportado actualmente en varias partes del mundo (Pérez Pérez et al. 2015).

En México se ha reportado el aumento de casos en adolescentes y adultos, como el estudio realizado sobre la seroprevalencia de *B. pertussis* en adolescentes de entre 12 y 15 años de secundarias públicas de la Ciudad de México durante el periodo 2002 - 2003, el cual, de una muestra de 61 adolescentes con tos, 20 casos resultaron positivos a *B.*

pertussis y, de entre sus contactos, de una muestra de 152, obtuvieron 16 casos positivos (Tomé Sandoval et al. 2008).

También el estudio peridomiciliar es importante para eliminar la fuente y cadena de transmisión de la tosferina. Esto se demostró en un estudio realizado en Mexicali, Baja California (Franco Esquivel et al. 2018) del caso de un paciente positivo a *B. pertussis*, encontrando en sus contactos un caso positivo a *B. pertussis* y tres contactos positivos a *B. holmessi*. Al paciente positivo se le realizó el estudio peridomiciliar, teniendo 26 personas vecinas, encontrando dos casos más de *B. pertussis* y uno de *B. holmessi* (Franco Esquivel et al. 2018).

Estos estudios demuestran y explican la necesidad del estudio de contactos a partir de pacientes confirmados o sospechosos a tosferina, y la implementación de la denominada “estrategia capullo” (WHO 2015), que consiste en la vacunación a contactos de pacientes de edad vulnerable, como los menores de un año de edad, para cortar la cadena de transmisión de la tosferina.

Características biológicas de *Bordetella pertussis*

Las especies del género *Bordetella* se encuentran clasificadas dentro del phylum proteobacteria subclase beta-proteobacterias, del orden Burkholderiales, y dentro de la familia Alcaligenacea. La *B. pertussis* es un cocobacilo Gram negativo, no productor de esporas, con un tamaño de entre 0.8 y 0.4 μm , aerobio estricto e inmóvil (Sanchez Pardo et al. 2013).

Uno de los precursores del descubrimiento de la *B. pertussis* fue Afanassjew en 1887, quien describió a la bacteria como un bacilo, aunque no logró aislarla como lo hicieron por primera vez Jules Bordet y Octave Gengou en 1906 (Ojeda González 2017). Posterior a Afanassjew, en 1897 Koplik y Spengler aislaron y cultivaron por separado colonias perladas, parecidas morfológicamente a *Bordetella* sp., en agar ascitis, aunque se menciona que eran cultivos impuros de *Bacillus influenzae*. En 1901, Jochmann y Krause aislaron y cultivaron un bacilo que denominaron *Bacillus pertussis Eppendorf*, del esputo de un paciente infantil; sin embargo, el bacilo pertenecía a la especie de *B. influenzae*.

El aislamiento exitoso de la bacteria realizado por Bordet y Gengou en 1906 fue gracias al medio selectivo preparado que incluía extracto de papa, el cual aporta vitaminas y nitrógeno para el desarrollo de *B. pertussis*, e inhibe otros microorganismos y toxinas que afectan el crecimiento de esta bacteria (Klebs 2004).

Asimismo, existen otros miembros del género *Bordetella* que se asocian con el Síndrome Coqueluchoide como la *B. parapertussis*, *B. bronchiseptica* y *B. holmessi*. La *B. parapertussis* y *B. holmessi*, al igual que *B. pertussis*, son patógenos exclusivamente humanos causando la tosferina (Kilgore et al. 2016). *B. bronchiseptica*, se ha aislado principalmente en animales, aunque se ha llegado a aislar, con poca frecuencia en humanos, en los que las características clínicas son menos complicadas en comparación con la infección por *B. pertussis* (Diavatopoulos et al. 2005). En el estudio de Diavatopoulos et al. (2005) se describe a una bacteria similar a *B. bronchiseptica*, designada como “cepa complejo IV”, como el ancestro de las especies antes mencionadas.

Una de las principales diferencias entre las diferentes especies de *Bordetella*, es la virulencia generada por los inmunógenos presentes. Se sabe que *B. pertussis* contiene el inmunógeno de mayor virulencia asociada a generar las complicaciones de la tosferina, este inmunógeno es la PT. Otros inmunógenos presentes en *B. pertussis* son: la toxina adenilato ciclasa (AC), toxina dermonecrótica (DNT), citotoxina traqueal (CTT), FHA, PRT y proteínas metabólicas (Kilgore et al. 2016).

Las personas infectadas por *B. holmessi* presentan pocos y síntomas más leves, ya que la virulencia es menor, aunque se ha reportado coinfección con otros patógenos que sí llegan a generar un cuadro clínico grave. Se necesita mayor investigación de las demás especies de *Bordetella* (Pittet et al. 2014) para que no sigan subestimándose los casos, ya que muchas veces el diagnóstico no es específico de la especie y solo se determina a *B. pertussis* como el único y principal patógeno (Pardo Dominguez et al. 2018).

Divergencia antigénica entre cepas vacunales y circulantes

Se ha documentado que la introducción de vacunas ha promovido cambios en la diversidad antigénica de *B. pertussis*. La divergencia antigénica se ha definido como los

cambios de las características estructurales de los antígenos debido a mutaciones puntuales de los genes que los codifican. La divergencia antigénica entre cepas de la vacuna y las cepas circulantes, constituyen una de las principales causas del resurgimiento de la incidencia de la tosferina, a pesar de la alta cobertura de vacunación en Holanda, Japón, Estados Unidos y Australia, entre otros países (Bart et al. 2014).

En Holanda se demostró por primera vez que la estructura de la población de *B. pertussis* circulante no era igual a la de las cepas empleadas en la producción de vacunas, quizás como consecuencia de una presión de selección ejercida por la inmunización masiva (Mooi 2010). Se ha determinado el cambio conformacional de los antígenos de la bacteria generada por mutaciones de los genes que codifican para estos antígenos, usados en la elaboración de la vacuna que dan la inmunidad protectora como la PT, PRN y FIM (Mooi 2010). Si bien la evolución supone que la vacunación disminuiría la diversidad genética de *B. pertussis*, se han realizado estudios donde confirman presencia de nuevas cepas de la bacteria (WHO 2015).

En un estudio realizado en 19 países que representaban los seis continentes, donde se colectaron y analizaron 343 cepas de *B. pertussis* desde 1920 a 2010, se registró el cambio en genes de *B. pertussis* que codifican para inmunógenos *ptaxA*, *fim2-1*, *ptxP1*, *fim3-1*, los cuales han sido utilizados en las vacunas (Bart et al. 2014).

Patogenia

La transmisión de *B. pertussis* se da por inhalación de aerosoles de personas infectadas o por contacto directo con secreciones. La *B. pertussis* tiene un periodo de incubación de 6 a 20 días, mientras que el cuadro clínico puede durar de siete a ocho semanas después (SSA 2018).

Tras la inhalación de aerosoles que contienen células de *B. pertussis*, se genera la adherencia y fijación a las células del epitelio respiratorio ciliado de la nasofaringe y árbol traqueo bronquial, ya que la bacteria tiene tropismo a estas células (Pescador Vargas and Roa Culma 2017), sobreviviendo a una de las primeras defensas de inmunidad innata del huésped, como el aclaramiento mucociliar y la acción de péptidos antimicrobianos,

multiplicándose localmente, y resistiendo a la eliminación de las células inflamatorias (Melvin et al. 2014).

Mediante estudios moleculares se han logrado identificar algunos componentes de la bacteria, que actúan como toxinas secretadas y que son las causantes de la sintomatología (Pescador Vargas and Roa Culma 2017). En esta primera fase de adherencia bacteriana a las células ciliadas de la nasofaringe, intervienen toxinas como la FHA, FIM, PT y PRN, las cuales realizan la adhesión a las células del epitelio respiratorio ciliado (Pescador Vargas and Roa Culma 2017). Estas toxinas trabajan independientemente, ya que al haber una pérdida de función o ausencia de una de estas, no se altera significativamente la adhesión al epitelio, hipótesis que asocia a la insuficiencia de la inmunización activa para prevenir la reproducción bacteriana y generar la enfermedad (Donoso et al. 2012).

Después de la adherencia bacteriana, la *B. pertussis* evade la respuesta inmune por medio de la toxina AC que inhibe la acción de células de defensa como neutrófilos y células NK (asesinas naturales). Esta toxina también interviene, junto con la CTT, en la destrucción de las células ciliadas del epitelio respiratorio (Donoso et al. 2012).

Además de facilitar el ataque a las células ciliadas del tracto respiratorio, la PT contribuye a la colonización de la bacteria, al suprimir y modular la respuesta inmune e inflamatoria del huésped, mediante: 1) intoxicación a macrófagos alveolares, primeras células inmunes mieloides que controlan generalmente una infección (Scanlon et al. 2019); 2) inhibición de la migración y retraso del reclutamiento a neutrófilos en la primera semana de la infección; 3) inhibición de la producción de anticuerpos séricos, y por ende, disminución de la acción de estos para controlar la infección (Donoso et al. 2012); y 4) disminución de la acción fagocítica de los monocitos circulantes, reduciendo la respuesta adaptativa inmune y, promoviendo la supervivencia de *B. pertussis* en el tracto respiratorio (Scanlon et al. 2019).

La toxina PT, es también conocida como pertusinógeno y es la responsable de la gravedad de los signos y síntomas, entre los que se incluyen: leucocitosis -documentado por estudios en modelos animales en los que se utilizaron ratas, cerdos y macacos, a los

que se les administró PT purificado-, hipertensión pulmonar, patologías cerebrales (Scanlon et al. 2019), hipoglicemia y sensibilización de histamina.

La PT es una proteína conformada por dos subunidades, A y B. La subunidad A tiene actividad enzimática, la cual cataliza la ribosilación de la adenosín difosfato (ADP) de la subunidad alfa de las proteínas G triméricas, lo que altera e inhibe señalización y funciones metabólicas de muchas células y genera una variedad de actividades biológicas, entre las que se encuentran unas de suma importancia, como el efecto promotor de la leucocitosis, linfocitosis y la activación de células de los islotes pancreáticos, generando hipoglucemia en recién nacidos (Murray et al. 2013). La subunidad B tiene funciones receptoras y de adherencia.

La molécula de adhesión integrina (LFA-1), es un receptor que media la unión de linfocitos y la extravasación en las vénulas de los ganglios linfáticos. Este receptor sirve como marcador biológico, mientras que el efecto de la PT hacia estos receptores es la disminución de la expresión de estos, lo cual fue demostrado experimentalmente en un modelo en macacos infectados con la toxina PT. Dichos macacos presentaron leucocitosis y reducción de la expresión de LFA-1 en los linfocitos, generando el aglomeramiento de los leucocitos en la vasculatura, al no dejarlos transitar (Carbonetti 2016). Asimismo, en un estudio de lactantes con tosferina, se observó una deficiencia de la expresión del marcador de ganglios linfáticos L-selectina en los linfocitos, lo que puede contribuir a la aglomeración de estas células por su falta de migración (Carbonetti 2015).

En un informe de un caso clínico de un bebé de tres meses no vacunado, infectado por una cepa de *B. pertussis* con deficiencia de la PT, se describió un curso relativamente corto de la tosferina y sin leucocitosis (Carbonetti 2015), lo cual sugiere que la PT es en gran parte responsable de los síntomas respiratorios y de la leucocitosis. No obstante, se necesita más investigación en humanos sobre esta toxina para determinar su asociación con la leucocitosis y la generación del paroxismo, ya que esta relación se ha demostrado en modelos animales.

De las pocas evidencias relativas a que la PT genera la leucocitosis y los síntomas respiratorios de la tosferina en humanos, se encuentra en un estudio con voluntarios infectados con cepas de PT purificado candidatas para utilizarse en vacunas contra la

tosferina. A un grupo de voluntarios se les infectó por vía intranasal, y presentaron un cuadro clínico con muy pocos síntomas respiratorios, no mayores a los presentados en el grupo de voluntarios administrados con placebo, lo que refuerza la idea de que la actividad enzimática de la PT contribuye a los síntomas respiratorios de la tosferina (Carbonetti 2015).

Simultáneamente a la linfocitosis, la *B. pertussis* también afecta órganos linfáticos. Se documentó de una defunción de un bebé infectado por *B. pertussis*, la presencia de agotamiento cortical avanzado en el timo, agotamiento grave de linfocitos en ganglios linfáticos y agotamiento avanzado de la pulpa blanca en el bazo (Scanlon et al. 2019).

En lo que toca al mecanismo de la PT para generar la hipertensión pulmonar, aun se sabe poco al respecto. Se han probado modelos de ratones infectados con cepas de *B. pertussis* con PT, los cuales presentaban esta complicación, mientras que, en el grupo de ratones infectados con cepas deficientes a PT, no hubo desarrollo de hipertensión pulmonar. Asimismo, la PT también se mostró asociada a la aparición de leucocitosis.

En otro estudio sobre la patología de la tosferina, también se identificó trombos leucocitarios en pequeños vasos sanguíneos pulmonares, generando la hipótesis de que la oclusión vascular por los leucocitos, aumenta la presión arterial pulmonar y, por ende, provoca la hipertensión pulmonar (Scanlon et al. 2019).

Otra hipótesis es que la PT inhibe la señalización de receptores de angiotensina II (AT₂). Estos receptores se expresan en mayor cantidad en tejido fetal, incluyen la aorta. Al estar en mayor cantidad en recién nacidos, los hace propensos a desarrollar hipertensión pulmonar generada por esta inhibición de la señalización de la PT. Normalmente los AT₂ limitan la proliferación excesiva del musculo liso vascular y, al ser interrumpida su señalización, se desencadena el engrosamiento arterial y la vasoconstricción, contribuyendo a la generación de la hipertensión pulmonar (Scanlon et al. 2019).

En cuanto a las patologías cerebrales, las cuales pueden ser convulsiones, encefalopatías y hemorragia, se piensa que son resultado de la anoxia de los episodios cianóticos. Pero también se ha descrito en estudios in vitro que la PT, en la diseminación sistémica, permeabiliza las células microvasculares, aumentando la transmigración de

macrófagos y monocitos a través de la capa endotelial microvascular del cerebro. Esto altera la función de la barrera hematoencefálica, generando las patologías cerebrales citadas (Scanlon et al. 2019).

Estudios sobre anticuerpos monoclonales humanizados contra PT, han mostrado efectos beneficiosos en modelos de ratones y babuinos, limitando la leucocitosis y mortalidad por esta causa. Hay trabajos más recientes donde se ha desarrollado una versión humanizada de anticuerpos monoclonales anti-PT, pero en adultos y llevada hasta fase clínica I, por lo que se requieren estudios completos en humanos. Se espera que, una vez utilizados los anticuerpos monoclonales en la clínica, se generarán ventajas para la prevención de complicaciones en el desarrollo de la enfermedad por la infección de *B. pertussis*, ya que se auguran, según los trabajos realizados hasta ahora, resultados positivos (Scanlon et al. 2019). Un ejemplo de esto se está dando en Dinamarca, donde se ha implementado una vacuna monocomponente de PT, lo que ha mantenido bajo control a la tosferina por 15 años, con tasas mínimas de 10 casos por cada 100,000 habitantes (Thierry Carstensen et al. 2013).

Para la eliminación de *B. pertussis* se necesita una serie de respuestas inflamatorias, como la activación de neutrófilos, macrófagos, linfocitos T cooperadores productores de IFN γ e IL-17, células plasmáticas que secreten anticuerpos IgG, IgA y células T de memoria. Para que el organismo humano regrese a la homeostasis, después de estas respuestas inflamatorias, participan los linfocitos T reguladores, generando una actividad benéfica al huésped (Scanlon et al. 2019). En modelo de ratones con dosis de PT purificado, se demostró una supresión en el número y función de estas células reguladoras, lo cual evidencia uno de los mecanismos por los que la PT inhibe la resolución de la infección por *B. pertussis* (Sapián López et al. 1992).

Debido a esto y otros efectos, la PT se considera el principal factor de virulencia (Melvin et al. 2014).

Características clínicas de la enfermedad

Las manifestaciones clínicas de la tosferina dependen de la inmunidad natural y adquirida, edad de la persona y virulencia de *B. pertussis*, entre otros factores. En niños pequeños puede presentarse desde una enfermedad trivial, hasta una grave que resulte

en la muerte (Cherry 2016). La evolución clínica de la enfermedad tiene una duración clásica de 6-12 semanas, o más (Mattoo and Cherry 2005) y se divide, tradicionalmente, en tres etapas sucesivas conforme se desarrolla la enfermedad: catarral, paroxística y de convalecencia (CDC 2017), estas etapas se resumen en el cuadro 4 de anexos y, se describen a continuación:

La fase catarral se manifiesta con síntomas parecidos a un resfriado común con fiebre baja, estornudos, tos ocasional, rinorrea, lagrimeo, y es parte del periodo de contagio. Generalmente dura una a dos semanas (CDC 2017).

La fase paroxística se caracteriza por episodios de tos violenta y repetida, paroxismos – espasmos- de predominio nocturno (15 a 20 accesos de tos por día), seguida de sibilancia o el sonido inspiratorio conocido como “gallo inspiratorio”, que algunas veces puede ser acompañada de vómitos, expulsión de mucosidad bronquial gruesa y clara, así como pérdida del conocimiento o convulsiones por agotamiento respiratorio (Suárez Moreno and Hernández Díaz 2000). La duración de esta fase es de aproximadamente de cuatro a ocho semanas. Por lo general no hay fiebre, a menos que aparezcan complicaciones. En esta fase, los niños que presentan complicaciones como cianosis, por la tos paroxística severa, y apnea, requieren hospitalización inmediata, ya que es común que necesiten ventilación mecánica asistida. Estas complicaciones se observan con mayor frecuencia en niños menores de un año, en los que puede ser incluso mortal (Melvin et al. 2014). Aproximadamente un tercio de los niños menores de 6 meses con tosferina requieren de hospitalización. Los adolescentes y adultos pueden presentar manifestaciones atípicas con tos persistente, pero sin sibilancias (Kilgore et al. 2016).

Diversos estudios han demostrado y fundamentado la elevada concentración de leucocitos y linfocitos en sangre como predictores de casos posibles de tosferina (Carbonetti 2015). En el caso de la linfocitosis se considera predictor cuando hay una concentración mayor o igual a 50% de linfocitos en sangre y, en el caso de leucocitos, una concentración $\geq 20,000/\mu\text{l}$ (Cherry 2016). También se considera el conteo total de linfocitos en sangre con una concentración $\geq 11.5 \times 10^3 / \mu\text{l}$ (Vieira Bellettini et al. 2014)

En formas graves, al diseminarse la bacteria a los pulmones, se presentan complicaciones como bronquiolitis necrotizante, hemorragia intraalveolar y edema

fibrinoso. Se produce una leucocitosis extrema con predominio de linfocitosis, generada por la PT (Carbonetti 2016), correlacionándose con hipertensión pulmonar intratable, ya que al infiltrarse los leucocitos en gran proporción hacia la vasculatura pulmonar, aumenta la resistencia del paso de la sangre a los pulmones (Kilgore et al. 2016), pudiendo producir insuficiencia respiratoria y la muerte, principalmente en lactantes menores de un año (Melvin et al. 2014).

Un factor de riesgo para el desarrollo de complicaciones, es la disminución de la saturación de oxígeno (Villalobos Pinto et al. 2012). Otros estudios han descrito factores de riesgo para la tosferina grave o la muerte por esta causa, a: la leucocitosis $\geq 46,000/\mu\text{l}$; si el niño tuvo un peso menor a 2.821 kg al nacer e hipertensión pulmonar (Cherry 2016). Otro estudio reporta como principal factor de gravedad en la tosferina a la leucocitosis $\geq 30,000/\mu\text{l}$, recomendando la vigilancia de frecuencias respiratorias mayores a 70/min y frecuencias cardíacas mayores a 170/min, considerándolas, junto con la leucocitosis, predictores de tosferina grave (Murray et al. 2013).

Por su parte, la fase de Convalecencia inicia después de 4-6 semanas de haber comenzado la enfermedad; los síntomas descritos anteriormente van remitiendo en semanas o meses; puede haber manifestación de tos al dar paso a infecciones virales o de otras bacterias, pero en lo que se refiere a la tosferina, los enfermos no son contagiosos en esta fase (Dotres Martínez et al. 2012).

Diagnóstico por laboratorio

El cultivo microbiológico era considerado el método de diagnóstico estándar para el aislamiento de *Bordetella sp.* a partir de exudados nasofaríngeos, en tanto que la identificación a nivel de especie se realiza con pruebas bioquímicas (cuadro 5 de anexos) e identificación de genes o regiones específicas de cada especie. Los medios de cultivo utilizados son el Agar Bordet-Gengou y el Regan Lowe o Agar Carbón añadiendo sangre de carnero desfibrinada estéril y el antibiótico cefalexina.

En el agar Bordet Gengou, las colonias de *B. pertussis* pueden observarse como blancas, aperladas, convexas, pequeñas, circulares. En el agar Regan-Lowe o agar carbón, se

observan de color gris como gotas de mercurio, brillantes, circulares, convexas, pequeñas (BD 2003).

Estos medios de cultivo con sangre de carnero también son utilizados para cultivar la bacteria *Haemophilus Influenzae*, así como el desarrollo de otros microorganismos parte de la flora de la nasofaringe (BD 2009)

El fundamento del medio de cultivo agar carbón es el uso de carbón activado y el almidón, componentes que neutralizan sustancias tóxicas que puedan encontrarse en la muestra e inhiban el desarrollo de *B. pertussis*, tal como es el caso de los ácidos grasos. La infusión de cerebro-corazón (BHI) y peptona proporcionan nitrógeno y aminoácidos. El extracto de levadura proporciona vitaminas, y el cloruro de sodio mantiene el equilibrio osmótico de la bacteria. La sangre de carnero desfibrinada aporta nutrientes para el desarrollo de *B. pertussis*. El agar nutritivo es el solidificante para el medio de cultivo (Becton Dickinson 2009).

Para diferenciar la especie de *Bordetella* como primera fase, se utilizan los tiempos de crecimiento, para posteriormente confirmar con las pruebas bioquímicas (InDRE 2015).

El agar Bordet Gengou se ha utilizado desde 1940. Tiene una sensibilidad de hasta el 60% para la recuperación y confirmación de la bacteria (InDRE 2015) con una especificidad para *Bordetella* del 100% (Ojeda González 2017).

El aislamiento de *Bordetella sp.* solo es eficaz si la muestra se toma cuando el paciente se encuentra en la fase catarral y hasta dos semanas de la fase paroxística, ya que por el ciclo de vida de la bacteria, irá disminuyendo la carga bacteriana con el paso del tiempo, por lo que después de este tiempo, es poco probable poder aislar a *B. pertussis* (InDRE 2015). Otro inconveniente técnico para el diagnóstico por cultivo, es la inhibición del crecimiento microbiano por el tratamiento con antibióticos, por lo que es importante tratar de recolectar las muestras nasofaríngeas antes de la toma de antibióticos macrólidos o cefalosporinas, y seguir la metodología establecida para la conservación y manejo de las muestras (InDRE 2015)

Debido a la alta variación de la sensibilidad de los medios de cultivo, se desarrolló una prueba molecular para la detección de *B. pertussis*, así como de otras especies dentro

del género. Este análisis es la PCR, que detecta regiones del genoma de la *B. pertussis*, como la codificadora de la PT, una región upstream del gen porina, IS481 y la región codificadora para la toxina AC. Es una prueba más rápida que el cultivo y más sensible, no necesita a la bacteria viva para su detección, pudiendo realizarse después de la toma de antibióticos, y hasta cuatro semanas después del inicio de la fase paroxística (InDRE 2015).

El beneficio de esta técnica molecular se ha demostrado en varias investigaciones. En un estudio realizado en San Luis Potosí (Ochoa Perez et al. 2014), se revisaron 147 casos probables de *B. pertussis* de residentes reportados al Sistema de Vigilancia Epidemiológica del estado, y analizados en el Laboratorio Estatal de Salud Pública (LESP) de San Luis Potosí, en el periodo diciembre 2011- noviembre 2012, utilizando la técnica PCR-TR, encontraron 59 casos positivos de *B. pertussis* con una incidencia de 2.3 por cada 100,000 habitantes. En otro estudio (Aquino Andrade et al. 2017), utilizando la misma técnica molecular, en pacientes sospechosos a tosferina de hospitales de la Ciudad de México y otros seis centros de la república mexicana, se obtuvo el 67.1% de casos positivos de una muestra de 286 pacientes menores de un año.

En un estudio realizado por el Departamento de Pediatría de la Universidad de Turku, Finlandia, se analizó la rapidez con que *B. pertussis* desaparece de las muestras de la nasofaringe al implementar antibióticos, en este caso eritromicina. Al comparar el cultivo y PCR como método de diagnóstico, se encontró lo siguiente: 1) De 85 muestras de lactantes no vacunados con sospecha a tosferina, el 56% era positivo a *B. pertussis* por cultivo y el 89% por PCR. 2) Para el séptimo día, 0% fueron positivas por cultivo y el 56% por PCR. Como puede observarse, este estudio evidenció la especificidad y mayor sensibilidad del diagnóstico por PCR, comparado con el cultivo, aun cuando ya se hubiera empezado la toma de antibióticos (Edeleman et al. 1996).

Asimismo, en varios países –incluido México–, se utiliza la prueba diagnóstica de PCR-TR Multiplex (InDRE 2015) que está diseñada para detectar la presencia de *B. pertussis*, *B. parapertussis* y *B. holmesii*, ya que se utilizan las secuencias de inserción: IS481, presente en *B. pertussis* (desde 50-238 copias) y en *B. holmesii* (3-5 copias por genoma); la *hIS1001*, presente en *B. holmesii* (3-5 copias); y *pIS1001*, presente en *B. parapertussis*

(20-23 copias), útil en la identificación de diferentes especies de *Bordetella* (Tatti et al. 2011).

Estos estudios descritos previamente nos manifiestan el impacto positivo del diagnóstico molecular en cuanto al tiempo y mayor eficacia diagnóstica en la búsqueda y confirmación de casos, para así lograr una mejor comprensión en la epidemiología de la tosferina en el país. De igual modo, la presencia de casos confirmados demuestra la necesidad de concientización sobre la enfermedad que aún está presente. Una de las desventajas del diagnóstico molecular es que los reactivos y los equipos usados tienen un alto costo (Tozzi et al. 2005).

La sensibilidad de la PCR-TR Multiplex depende de la correcta alineación de los cebadores a la región genómica (van der Zee et al. 2015). Así mismo, el método de extracción del ADN genómico influye en el análisis molecular. Se ha reportado que la extracción de ADN con kits comerciales, repercute en la mejor eficiencia de ejecución de la PCR, debido a que los reactivos están estandarizados (concentración, cantidad, calidad) y existen menores posibilidades de contaminación e inhibición de la PCR. Debido al costo elevado del kit, muchos laboratorios emplean algún método de extracción manual (por ejemplo, fenol/cloroformo), pero reducen la sensibilidad de detección de la PCR, pudiendo dar falsos negativos (van der Zee et al. 2015).

La serología también se ha usado para diagnosticar la infección por *B. pertussis*, a partir de la búsqueda de antígenos de la bacteria en el suero de la sangre del paciente, sirviendo de diagnóstico hasta 12 semanas después del inicio de los síntomas, en el tiempo en que el cultivo y la PCR pueden ya no ser positivos (Beltrán Silva et al. 2011). Al ser utilizado para estadios tardíos de la enfermedad, no se considera como diagnóstico de elección, ya que lo que se requiere, por el desarrollo de la enfermedad, es un diagnóstico temprano para prevenir las complicaciones. Se ha documentado que los estudios serológicos para diagnóstico de tosferina, presentan reactividad cruzada con otras bacterias, por lo que son menos sensibles y de especificidad variable (Cano Rangel et al. 2012).

Por otra parte, diversos estudios han demostrado y fundamentado la presencia de leucocitosis o linfocitosis en sangre como predictores de casos probables de tosferina.

En un estudio efectuado en Brasil con pacientes menores de 6 meses de edad, se documentaron estas dos características, junto con la cianosis, como predictores clínicos de tosferina. En el caso de la linfocitosis, se considera predictor cuando hay una concentración $\geq 11.5 \times 10^3 /\mu\text{l}$ y, en el caso de los leucocitos, una concentración $\geq 21,600/\mu\text{l}$ (Vieira Bellettini et al. 2014). También el conteo de linfocitos como porcentaje en sangre $\geq 50\%$ es considerado un predictor de tosferina (Cherry 2016).

En el caso de México, aproximadamente el 20% de los casos de síndrome coqueluchoide de todas las edades, son diagnosticados como tosferina (Ojeda González 2017).

En México, la tosferina es de notificación inmediata mediante el SINAVE para las enfermedades inmunoprevalentes. Entre estas notificaciones se encuentra el síndrome coqueluchoide. Este sistema se encarga de “la recolección sistemática, continua, oportuna y confiable de información para la identificación de casos de tosferina en México, caracterizar la situación epidemiológica, evaluar la calidad del sistema de vigilancia epidemiológica y difundir la información epidemiológica de calidad para aportar veracidad y beneficios en la toma de decisiones” (SSA 2018).

Así también, este sistema promueve la sensibilización del diagnóstico sintomático para descubrir casos de tosferina que puedan confundirse con otros padecimientos, tales como: bronquiolitis, bronquitis, neumonía, bronconeumonía y laringotraqueítis, entre otras enfermedades, al establecer definiciones operativas de casos probables de tosferina, caso de tosferina clínica, caso confirmado de tosferina, caso sospechoso de tosferina, caso de tosferina atípico (InDRE 2015) y síndrome coqueluchoide (SSA 2018). En este contexto, en nuestro país es el InDRE el que, con fines de vigilancia epidemiológica, define operacionalmente a la tosferina y síndrome coqueluchoide (InDRE 2015):

Caso probable de tosferina: “persona de cualquier edad, con tos de 14 o más días de evolución y dos o más de las siguientes características; tos paroxística, en accesos, espasmódica o estridor laríngeo inspiratorio y uno o más de los siguientes datos; tos cianosante, hemorragia (conjuntival, petequias, epistaxis), leucocitos con predominio de linfocitos; o historia de contacto con casos similares en las últimas dos a cuatro semanas previas al inicio del padecimiento”.

En esta definición se incluyen a los menores de seis meses que pueden manifestar sólo episodios de apnea o cianosis con tos o sin tos (Vieira Bellettini et al. 2014).

Caso de tosferina clínica: “todo caso con datos clínicos característicos y que no cuente con muestra, independientemente de sus contactos”.

Caso confirmado de tosferina: “todo caso que tenga aislamiento de *Bordetella pertussis* por cultivo o PCR en el caso per se o cualquiera de sus contactos, convivientes o personas con asociación epidemiológica”.

Caso sospechoso de tosferina: “persona de cualquier edad con tos, sin importar los días de duración y con asociación con otros casos probables o confirmados. Esta definición se utiliza para la búsqueda activa de casos adicionales ante la presencia de casos probables, confirmados o atípicos, portadores, defunciones y en brotes”.

Caso de tosferina atípico: “todo caso sospechoso que tengan aislamiento de *Bordetella pertussis*”.

Portador asintomático de Bordetella pertussis: “toda persona sin signos o síntomas de enfermedad respiratoria a quien se tomó muestras por tener asociación epidemiológica con un caso probable o confirmado y cuyos resultados de cultivo o PCR son positivos a *Bordetella pertussis*”

Caso de Síndrome Coqueluchoide: “Todo caso con tos paroxística o en accesos, sin importar la duración”. En menores de un año se presenta cianosis, apnea, vómito con o sin tos (SSA 2018).

Tratamiento

El tratamiento para combatir la tosferina consiste en antibióticos de la clase de los macrólidos. Los macrólidos inhiben la síntesis proteica de la bacteria mediante su anillo lactónico macrocíclico y azúcares, los cuales se unen a la subunidad 50s y 70s de los ribosomas de la bacteria (Ortega Guillén 2010).

Los macrólidos recomendados son la eritromicina, claritromicina y azitromicina durante 14 días, administrados en el periodo de incubación o al principio de la etapa catarral. Al administrarse en la fase paroxística no modifica la evolución clínica, pero sí puede

eliminar la población bacteriana de la nasofaringe, con lo que se reduce la transmisión (WHO 2015). Es por esto la importancia de un diagnóstico temprano para prevenir las posibles complicaciones de la tosferina que se presentan con mayor frecuencia en niños y niñas menores de un año.

JUSTIFICACIÓN

La reemergencia de brotes de tosferina que se han reportado en varias partes del mundo y en algunos estados del país como Baja California, Nuevo León, Oaxaca, Guerrero y Chiapas (Breña Cantu et al. 2018), constituye un problema de salud pública global para el control de la enfermedad (Hernández Porras and González Saldaña 2014).

Dicho resurgimiento se le ha atribuido, como uno de los principales factores, a la disminución de la inmunidad proporcionada por la vacuna acelular (Wood and McIntyre 2008). Algunos estudios lo han reportado, como el de Ojeda González 2017, en el que muestra el aumento en el número de casos a partir de la implementación de la VA, generando la hipótesis de una relación entre el aumento de número de casos de tosferina y el tipo de vacuna acelular utilizado en México (Ojeda González 2017).

Otros factores asociados a la reemergencia, han sido: la corta inmunidad inducida por la infección natural por *B. pertussis*, el incompleto esquema de vacunación y la propia evolución de *B. pertussis* (Wood and McIntyre 2008), además de la disposición de métodos de diagnóstico más sensibles.

En México, en el 2013, la tasa de mortalidad por tosferina en menores de un año fue de 2.4 por cada 100,000 nacimientos estimados, siendo una de las diez primeras causas de defunciones en este mismo grupo de edad (SINAVE 2016). El Boletín Epidemiológico para el año 2018 reportó en México 656 casos (distribuidos en todos los grupos de edad), mientras que el año anterior 2017 se reportaron 517 casos (SINAVE 2018), y en el 2019, suman 791 (SINAVE 2019).

En el caso de Chiapas (Gráfica 2 de anexos), en el año 2015 se reportaron 68 casos (SINAVE 2015), en el 2016, 87, en el 2017, 26 (SINAVE 2017), en el 2018, 23 y, el año 2019, suman 39 casos en todos los grupos de edad (SINAVE 2019). Como puede

observarse, el número de casos reportados para 2017 y 2018 fue muy bajo y discrepa significativamente a los reportados en 2015 y 2016. Una posible explicación de esta discordancia de datos, es la falta de presupuesto en el sector salud a nivel nacional, y especialmente en el estado de Chiapas, lo que ha generado una importante ineficiencia en el diagnóstico de la tosferina, ya que al no haber recursos, se inhabilita el acceso al material requerido para su diagnóstico, generando con esto un subregistro de casos en la región (CONEVAL 2018).

La región de los Altos de Chiapas se caracteriza por sus altos niveles de marginación social y económica (CONEVAL 2015), factores que contribuyen en la aparición y prevalencia de enfermedades infecciosas y prevenibles como la tosferina, tuberculosis y virus del papiloma humano, entre otras enfermedades. El reporte de brotes de tosferina en distintos municipios del estado de Chiapas y en diferentes años (San Juan Cancuc, 2007; y San Lucas, 2014) (Notimex 2015) indica que la situación epidemiológica de la enfermedad está presente hoy como un problema de salud a resolver.

En este sentido, está ampliamente documentado el impacto que tienen las condiciones políticas, económicas y sociales (los denominados “determinantes sociales de la salud”, DSS) en el nivel de salud de la población. Chiapas es uno de los estados con mayor pobreza, desigualdad y exclusión social del país, por lo que no es de extrañar que sea uno de los estados con los menores niveles de salud (SSA, CONBIOÉTICA 2015).

Estos DSS, como la educación, desempleo, condiciones de vida y de trabajo, vivienda, saneamiento de agua, exclusión y apoyo social, alimentos, transportes y los servicios de atención de salud –la gran mayoría en muy malas condiciones en la región de estudio- (WHO 2009), condicionan la alta vulnerabilidad de la población a enfermedades asociadas precisamente a dichos determinantes.

Con el desarrollo de este proyecto se contribuye al conocimiento de la epidemiología de la tosferina y de las otras características clínicas de la enfermedad en niños menores de cinco años que han sido admitidos en el Hospital de Las Culturas de SCLC para aportar beneficios en el diagnóstico, y mejorar la prevención y el control de la enfermedad.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

1.- ¿Cuál es la tasa positividad de infección a *B. pertussis* en niños admitidos con síndrome coqueluchoide, al área de urgencias de pediatría del Hospital de Las Culturas de San Cristóbal de Las Casas?

2.- ¿Qué características clínicas y epidemiológicas están asociadas a la presencia de *B. pertussis* en la población estudiada?

HIPÓTESIS

1.- La tasa de positividad de infección esperada, según datos epidemiológicos de casos de tosferina en México (Ojeda González 2017) es del 20% del total de casos de síndrome coqueluchoide del total de casos incluidos en el estudio.

2.- La positividad de infección a *B. pertussis*, entre los pacientes menores de cinco años de edad estudiados, se asocia a antecedentes de vacunación (incompleta o nula), dificultad respiratoria, baja saturación de O₂, leucocitosis y linfocitosis, así como días de inicio de la aparición de sintomatología respiratoria.

OBJETIVOS

Objetivo General:

Determinar la tasa de positividad a *B. pertussis* y los factores clínicos y epidemiológicos asociados a dicha positividad

Objetivo específico:

- Describir las características clínicas y epidemiológicas en menores de cinco años del Hospital de las Culturas de San Cristóbal de Las Casas asociadas a la presencia de *B. pertussis*

METODOLOGÍA

El estudio efectuado fue de corte transversal, en un censo de pacientes menores de cinco años de edad que fueron admitidos en el servicio de Urgencias del área pediátrica del Hospital de las Culturas de SCLC, para ser internados o por consulta, durante el periodo del 1 de marzo al 25 de octubre de 2019. Esta temporalidad se eligió a partir de los siguientes criterios: 1. El registro del número de consultas del área de urgencias pediátricas del Hospital de las Culturas, en lo que se refiere a pacientes reportados como casos de síndrome coqueluchoide durante todo el año; 2. La variación estacional de la enfermedad. Si bien hay algunos estudios que reportan un mayor número de casos en invierno y verano (Ojeda González 2017), otros estudios reportan que se han presentado mayor número de casos en las estaciones de primavera y verano (Suárez Moreno and Hernández Díaz 2000), lo cual se ajustaba más a los tiempos dados para la elaboración de la tesis de grado en Ecosur, ya que se pudo cubrir estas dos últimas estaciones del año durante la fase de trabajo de campo; y, 3. Los recursos y tiempo disponible para la ejecución del estudio.

Lugar y población de estudio

Hospital de Las Culturas de SCLC, institución que opera como centro de referencia para los casos sospechosos de tosferina y/o síndrome coqueluchoide de menores de cinco años en la región de los Altos de Chiapas.

Criterios de inclusión

Se incluyeron niñas y niños menores de cinco años que ingresaron para ser internados o por consulta al área de urgencias de pediatría del Hospital de las Culturas de SCLC que presentaban sintomatología y signos altamente sugestivos de síndrome coqueluchoide y/o casos probables de tosferina, siguiendo las definiciones operacionales del InDRE.

Criterios de exclusión

Personas mayores de cinco años que ingresaron al área de urgencias de pediatría del Hospital de las Culturas de SCLC, así como a las y los niños cuyos padres no quisieron participar en el estudio.

Procedimiento de recolección de datos

Al padre o tutor de las y los niños incluidos en el estudio, se les aplicó una encuesta, en la que se recopiló la siguiente información relativa a sus hijos/as incluidos/as en el estudio: (i) antecedentes epidemiológicos (esquema de vacunación, edad, sexo, etnia, comunidad y municipio de residencia); y, (ii) datos clínicos compatibles con tosferina. De manera adicional, se revisó el expediente clínico de cada niño/a estudiado, del que se tomaron los siguientes datos: complicaciones clínicas, datos antropométricos, citometría hemática, antecedentes de vacunación. La recopilación del tipo de datos clínicos y epidemiológicos incluidos en el estudio, se determinó con base a la literatura consultada (Kilgore et al. 2016) que describe los síntomas y complicaciones más comunes en niños diagnosticados con tosferina (InDRE 2015).

Asimismo, a los padres o tutores se les solicitó permiso para tomarle dos muestras de exudados nasofaríngeas al niño/a, con el fin de realizar un análisis microbiológico para el aislamiento de *B. pertussis* y un análisis molecular por medio de PCR-TR. Las encuestas y la toma de muestras se realizaron en el Hospital de Las Culturas, y el análisis microbiológico en el Laboratorio de Genética y Biología Molecular de la Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas (UNICACH).

De manera adicional, se recabó información del expediente clínico de las y los niños estudiados, del que se tomaron los resultados de la citometría hemática, peso, talla, frecuencia respiratoria y saturación de oxígeno (Carbonetti 2016) que, de manera rutinaria, se realizan en el hospital a los ingresados al área de urgencias que requieren hospitalización.

Toma de muestra de Exudado Nasofaríngeo (ExNf)

1.- Se rotularon los crioviales con la etiqueta correspondiente; se verificó que el paciente no tuviera obstrucción nasal –como el tabique desviado que no permitiera la correcta toma de muestra, de lo cual no se presentó caso alguno de este tipo- y se le pidió al padre o tutor del niño/a que limpiara la nariz de su hijo/a con un pañuelo para remover el exceso de moco en la cavidad nasal.

2.- Para la recolecta de la muestra se utilizó un hisopo de rayón de mango flexible, marca COPAN, flocket technologies, número de catálogo 503CS01, el cual consta de dos

partes: la cabeza con material de rayón con el que se extrae y se colecta la muestra, y un mango flexible para sostenerlo. Para la colecta de muestra, se introdujo la cabeza del hisopo en una fosa nasal, haciéndolo rotar por lo menos 10 segundos, tiempo necesario para extraer una muestra aceptable. Una vez hecho esto, se retiró el hisopo de la fosa nasal, y la cabeza del hisopo se transfirió a un criovial, el cual contenía 2 ml de solución salina estéril al 0.85%. El excedente del mango del hisopo se cortó y depositó en una bolsa de residuos de RPBI. El criovial fue cerrado y preservado. Esta acción se repitió en la otra fosa nasal; de esta manera se obtuvieron dos muestras, un espécimen sirvió para el diagnóstico microbiológico, y el otro para el molecular. Se colocó un Diurex sobre la etiqueta del criovial, para prevenir que se borrara la etiqueta, y se envolvió en parafilm para su embalaje correcto y prevenir accidentes en el traslado al laboratorio.

3.- Uno de los viales se mantuvo a una temperatura de 4 a 8°C, sin exceder las 24 horas en preservación, para el posterior cultivo en placas de agar carbón, y el otro vial se conservó a -70°C hasta su posterior análisis molecular.

Las tomas de muestras fueron realizadas por personal capacitado y bajo medidas de bioseguridad, en un espacio ventilado, utilizando los elementos de protección personal necesarios (bata, gafas, cubrebocas, zapatos cerrados y guantes de látex).

Diagnóstico microbiológico

El diagnóstico para tosferina se realizó mediante el método de cultivo, el cual busca el aislamiento de la bacteria *B. pertussis* a partir de la muestra de exudado nasofaríngeo. El periodo de la enfermedad para la toma de muestra es en la fase catarral y hasta dos semanas del inicio de la fase paroxística.

Cultivo

El procedimiento para la realización de cultivos se efectuó de acuerdo a los lineamientos establecidos por el InDRE, institución encargada en México de normar este tipo de procedimientos (InDRE 2015)

1.- Los cultivos se realizaron en el Laboratorio de Genética y Biología Molecular de la UNICACH. Primeramente, se rotularon las placas con número de folio y fecha, coincidiendo con la muestra que sería sembrada.

2.- Se retiró el hisopo del medio de transporte con solución salina al 0.85% y se sembró en dos placas de medio con agar carbón conteniendo sangre de carnero desfibrinada al 5%: una placa con y otra sin solución de cefalexina a una concentración de 0.04 mg/ml de cefalexina como agente selectivo para suprimir parcialmente el crecimiento de la flora normal de las vías respiratorias (BD 2009).

3.- Las placas fueron selladas con parafilm y se colocaron en bolsas de plástico, para su posterior incubación a una temperatura de entre 35 y 37°C con alto grado de humedad en un periodo máximo de 10 días y con revisión diaria, reportando en la bitácora si había presencia o no de colonias características a *Bordetella spp.* Posteriormente se realizó la identificación fenotípica a los aislamientos con morfología colonial sospechosa a *Bordetella spp.*

El cultivo microbiológico fue realizado en cabinas de bioseguridad tipo II, por personal capacitado y usando los elementos de protección personal.

Observación por tinción de Gram.

Este procedimiento se llevó a cabo de acuerdo a las recomendaciones del InDRE (2015), para la identificación de *B. pertussis*, la cual se describe a continuación:

1.- En los casos en que hubo aislamiento de colonias presuntivas a *B. pertussis*, se procedió a hacer el frotis correspondiente de la masa microbiana de una colonia del aislamiento de *B. pertussis*, fijando con calor y, posteriormente, se realizó la tinción de Gram.

Tinción de Gram: De acuerdo con la metodología recomendada por López Jácome et al. 2014, para realizar esta tinción, se colocó el colorante cristal violeta por 1 minuto para teñir las bacterias Gram positivas; se lavó con agua destilada y, posteriormente, se añadió yodo como mordiente por 1 minuto; nuevamente se lavó con agua destilada. Como tercer paso se colocó alcohol-acetona por 1 minuto para desteñir toda bacteria que no fuese Gram positiva, se lavó y, por último, se agregó el colorante de contraste safranina por 1 minuto para teñir las bacterias Gram negativas, lavando con agua destilada y su posterior secado.

2.- La bacteria *B. pertussis* es un cocobacilo Gram negativo, es decir, que se tiñe de color rosa tenue (100X con aceite de inmersión). En los casos en que se obtuvo este resultado se sembraron colonias de dicho cultivo en placas de agar carbón sin cefalexina (segundo aislamiento) para utilizarlas en las pruebas bioquímicas y otra resiembra para su conservación en caldo BHI (tercer aislamiento).

Identificación bioquímica de la especie *Bordetella*.

A las colonias sospechosas a *Bordetella*, se les realizó la tinción de Gram y la prueba de catalasa utilizando peróxido de hidrógeno, observando la reacción con una alícuota de colonias bacterianas de los cultivos positivos (InDRE 2015).

Confirmación e identificación de la especie bacteriana por espectrofotometría de masas (MALDI-TOF)

Las colonias aisladas de *B. pertussis* se identificaron por espectrofotometría de masas MALDI TOF (MALDI por sus siglas en inglés *Matrix-Assisted Laser Desorption / Ionization* y TOF por el detector de iones acoplado, por sus siglas en inglés de *Time-Of-Flight*).

Para el análisis de las cepas, se aplicó una colonia bacteriana usando palillos de dientes estériles en una placa de acero inoxidable de 96 puntos (Bruker Daltonics, Bremen, Alemania). Después del secado de la colonia, se añadió 1 µl de ácido fórmico al 70% directamente sobre la mancha bacteriana seca y se dejó secar al aire una vez más antes de agregar 1 µl de matriz de ácido α-ciano-4-hidroxicinámico 10 mg / ml (Sigma Aldrich, Missouri, United Estados). La placa objetivo fue analizada por el sistema Bruker Microflex LT (Bruker Daltonics, Bremen, Alemania). El análisis se llevó a cabo en el Laboratorio de Diagnóstico Microbiológico de Alta Especialidad (LADIME) del Hospital Universitario Dr. José Eleuterio González de la Universidad Autónoma de Nuevo León (UANL).

Diagnóstico molecular

El diagnóstico molecular se efectuó en el LADIME del Hospital Universitario Dr. José Eleuterio González de la UANL en el mes de septiembre de 2019.

Las muestras obtenidas hasta el 30 de agosto en el Hospital de Las Culturas para PCR, fueron 31, las cuales se congelaron a -70°C para su conservación, hasta inicios del mes de septiembre, fecha en que se pudieron enviar al citado laboratorio. Para el envío se embalaron las muestras con hielo seco para su preservación hasta su destino. Las muestras tomadas después del envío de muestras al laboratorio, es decir, las tomadas durante septiembre y octubre, fueron ocho, las cuales se dejaron pendientes para su posterior análisis por PCR, debido a limitaciones de tiempo relacionadas al proceso de titulación de la maestría en Ecosur.

La extracción de ADN genómico se realizó a partir de un volumen de 200 μl de cada una de las muestras de ExNf recolectadas, utilizando el método de Fenol-Cloroformo, siguiendo el Manual de Procedimientos del Laboratorio en el que se efectuó la extracción de ADN genómico. La técnica se basa en lisar la membrana y pared celular bacteriana, utilizando soluciones amortiguadoras que contienen detergentes y agentes quelantes, con el fin de separar las proteínas asociadas al ADN en la extracción con fenol y SEVAG (Cloroformo: isoamilacohol). Finalmente se precipitó el ADN en un medio acuoso de etanol.

El ensayo de PCR-TR multiplex se realizó siguiendo la metodología de Tatti et al. (2011). Se utilizaron 5 μl de la extracción de ADN, y 20 μl de mezcla de reacción. El volumen final obtenido para cada muestra fue de 25 μl , que se colocaron en uno de los 48 pocillos que contiene la placa óptica. Se integró un control negativo y un control positivo. La placa óptica se introdujo al sistema de PCR en tiempo real PIXO & trade de Helixis y se programó con las siguientes condiciones: 94°C por 2 minutos, 94°C por 15 segundos y 60°C por 1 minuto, esto por 42 ciclos. Para la interpretación de los resultados se tomaron como referencia los valores del cuadro 6 incluido en los anexos de este trabajo (Tatti et al. 2011).

De manera adicional a los objetivos planteados, y en virtud de tener solo cinco casos confirmados de tosferina por cultivo y PCR, se hicieron análisis de positividad a *B. pertussis* a partir del predictor clínico propuesto por Vieira Bellettini et al (2014), el cual se basa en dos indicadores: la presencia de leucocitosis $\geq 21.60 \times 10^3/\mu\text{l}$ y linfocitosis $\geq 11.5/\mu\text{l}$ en sangre periférica (Vieira Bellettini et al. 2014).

En este sentido, algunos estudios han asociado la mortalidad debido a tosferina cuando la concentración de leucocitos es \geq a $100 \times 10^3/\mu\text{l}$ (Pierce et al. 2000) (SurrIDGE et al. 2007). En otro estudio, efectuado a partir de exámenes postmortem de los pulmones de niños infectados por *B. pertussis* y que fallecieron debido a complicaciones, se reveló necrosis tisular generalizada y trombosis arteriolas pulmonares que contienen un gran número de leucocitos (Paddock et al. 2008).

Residuos peligrosos biológicos infecciosos (RPBI)

Los RPBI generados en la toma del exudado nasofaríngeo (como los crioviales con muestra) y en el diagnóstico microbiológico y molecular (como las placas con cultivo de *B. pertussis* y material contaminado) se depositaron en bolsas rojas ad hoc para su tratamiento de esterilización en autoclave y entrega al sistema de recolección de RPBI de la UNICACH y el Laboratorio de Alta Especialidad.

Análisis estadístico de datos

Las variables de estudio descritas en el cuadro 7, que conforman los datos clínicos y epidemiológicos obtenidos de la implementación del cuestionario (anexo 1), fueron registrados en una base de datos en Excel y, posteriormente codificados para su análisis estadístico en el programa SPSS versión 25.

Se describió la proporción de casos positivos por cultivo y PCR, y la proporción de casos que estaban dentro del tiempo de inicio de síntomas idóneo para la toma de muestra en el diagnóstico por cultivo (hasta 4 semanas) y PCR (hasta 6 semanas), recomendado por los Lineamientos para la Vigilancia Epidemiológica de Tosferina y Síndrome Coqueluchoide por Laboratorio (InDRE 2015).

Posteriormente, se determinó la proporción de casos que presentaron el “predictor clínico”, bajo las siguientes categorías de análisis: positivo a tosferina, cuando presentó niveles de leucocitos $\geq 21.6 \times 10^3/\mu\text{l}$ y linfocitos $\geq 11.5/\mu\text{l}$; y, negativo a tosferina, cuando se obtuvieron niveles menores a estas concentraciones. Se realizó un análisis bivariado entre dicho predictor y las variables clínicas y epidemiológicas de interés, utilizando el test exacto de Fisher, a un nivel de confianza del 95%, con el programa estadístico SPSS, versión 25.

RESULTADOS

De un total de 344 pacientes menores de cinco años atendidos por cualquier causa en el área de filtro de Pediatría del Hospital de Las Culturas durante la fase de campo del proyecto (1 de marzo al 25 de octubre de 2019), 38 presentaron los criterios de inclusión de edad y síntomas de caso probable de tosferina y/o Síndrome Coqueluchoide, de acuerdo a las definiciones operacionales del InDRE. De estos, 24 pacientes fueron internados, y 14 fueron atendidos de manera ambulatoria en el hospital, es decir, únicamente recibieron consulta y no fueron hospitalizados. En el Cuadro I se muestran los principales indicadores epidemiológicos de los 38 pacientes incluidos en el estudio.

Cuadro I. Variables epidemiológicas del total del grupo		
VARIABLE	Categorías	Proporción (%)
RESIDENCIA	Urbano	20 (51.30)
	Rural	18 (46.20)
EDAD AGRUPADA	<1 año	23 (59.00)
	<2 años	8 (20.50)
	<5años	7 (17.90)
SEXO	Masculino	21 (53.80)
	Femenino	17 (43.60)
LENGUA INDÍGENA DE LOS PADRES	Indígena	27 (69.20)
	No indígena	11 (28.20)
INMUNIZACIÓN	Completa	8 (21.10)
	Incompleta	9 (23.70)
	Sin vacuna	21 (55.3)
TRATAMIENTO PREVIO (MACRÓLIDOS/CEFALOSPORINAS)	Sí	25 (64.10)
	No	10 (25.60)
TIPO DE EGRESO	Hospitalizado	24 (63.15)
	Consulta	14 (36.84)

Diagnóstico microbiológico

De los 38 pacientes estudiados, se realizaron 37 cultivos en agar carbón. El resultado por cultivo fueron dos muestras positivas confirmadas con tinción Gram, catalasa y MALDI-TOF como *B. pertussis*, lo que representa una tasa de positividad de tosferina de 5.4% (IC 95% = 2.24-13.05). Tomando en cuenta el tiempo idóneo para la toma de muestra en el diagnóstico por cultivo (InDRE 2015) que es hasta 4 semanas del inicio de síntomas, fueron 30 casos, dando una tasa de positividad por cultivo de 6.66% (IC 95% 2.81-16.14) (Tabla II).

Diagnóstico molecular

De las 38 muestras obtenidas de igual número de niños/as, se procesaron 31 por PCR-TR, y 7, debido a limitaciones de tiempo para entrega de la tesis, no se pudieron procesarse [estas muestras están en conservación a -70°C, y serán enviadas en el mes de enero al Laboratorio de la UANL, sitio en el que se llevó a cabo el análisis molecular]. De las 31 muestras procesadas se obtuvieron 5 muestras positivas a *B. pertussis*, lo que representa una tasa de positividad de tosferina del 16.12% (IC 95%= 2.42- 29.84). En estos cinco casos positivos se encuentran las dos muestras positivas por cultivo. De estas 5 muestras positivas por PCR-TR, 4 casos fueron personas hospitalizadas y un caso atendido en consulta. Analizando la tasa de positividad por PCR-TR, únicamente tomando en cuenta el tiempo idóneo para la toma de muestra en el diagnóstico por PCR-TR –de hasta 6 semanas del inicio de síntomas- (InDRE 2015), n= 29 casos, la tasa de positividad obtenida por PCR-TR fue de 17.24% (IC 95% 2.62– 31.86) (Tabla II).

Análisis de la positividad a *B. pertussis*, de acuerdo al predictor clínico.

De los 38 casos encuestados, en 30 participantes se pudieron obtener datos de concentración de leucocitos y linfocitos (24 de niños/as hospitalizados y 6 que llevaban sus resultados de un laboratorio particular). En 8 niños/as no fue posible, debido a que no se tiene datos de la biometría hemática, ya que el hospital realiza este análisis solo a los niños/as que se internan y, estos no se habían realizado la biometría hemática y solo recibieron consulta en el área de urgencias del hospital. El número de positivos bajo el indicador de predictor clínico fue de 11 (36.66%, IC 95%= 18.36-54.97). De estos 11, 4

también fueron positivos a *B. pertussis* tanto por cultivo como por PCR-TR, 5 fueron negativos a dichas pruebas, y 2 casos están pendientes de resultado por PCR-TR. Los 11 casos estuvieron dentro del tiempo óptimo para el diagnóstico por cultivo y PCR-TR (tabla II).

Tabla II. Tasa de positividad por Cultivo y PCR-TR en el tiempo óptimo					
	Casos por cultivo (% IC95%)	Tiempo óptimo* casos por cultivo (%, IC95%)	Casos PCR-TR (%, IC95%)	Tiempo óptimo* casos por PCR- TR (%, IC95%)	Predictor clínico (% IC95%)
Positivo	2 (5.40; 2.24- 13.05).	2 (6.66; 2.81- 16.14)	5 (16.12; 2.42- 29.84)	5 (17.24; 2.62- 31.86)	11 (36.66; 18.36-54.97)
Negativo	35 (94.59)	28 (93.33)	26 (83.87)	24(82.75)	19 (63.33)
Total	37 (100.00)	30 (100.00)	31 (100.00)	29 (100.00)	30 (100.00)

Nota: Del total del grupo de estudio (38 pacientes) hay 7 casos en espera de PCR y 1 caso sin cultivo.

*el tiempo idóneo para el cultivo es hasta 4 semanas del inicio de síntomas y, para PCR es hasta 6 semanas (InDRE 2015).

Factores demográficos y epidemiológicos asociados a la positividad de Tosferina, según el indicador “Predictor clínico” (leucocitosis y linfocitosis)⁶.

Ninguna de las variables analizadas se mostró asociada a la positividad a tosferina, medida bajo el indicador “predictor clínico” (Tabla III):

Edad: En las y los 18 menores de un año, 8 (44.4%) fueron positivos al predictor clínico; entre las y los 7 del grupo de 1 a 2 años, 2 (28.6%) fueron positivos; y, entre los 5 de 2 a 5 años, solo uno (20.0%) lo fue ($p=0.657$).

Sexo del niño: Seis de los 18 varones fueron positivos al predictor (33.3%) y, 5 de las 12 mujeres lo fueron (41.6%) ($p=0.712$).

Pertenencia a un grupo indígena (medido a través de si los padres hablaban o no algún idioma originario de la región). Entre las y los niños cuyos padres hablaban un idioma

⁶ De ocho de las y los niños estudiados, no se tuvieron cifras de leucocitos y linfocitos que incluye el “predictor clínico”, por lo tanto, no se incluyeron en este análisis.

indígena (n=23), 43.47% fueron positivos y, entre los 7 que no lo hablaban, uno lo fue (14.28%) (p=0.215).

Zona de residencia. La proporción de positivos al predictor clínico entre las y los residentes de zona urbana (localidades de 2,500 o más habitantes) (5/14 = 35.7%), fue muy similar a las de zona rural (6/16 = 37.5%) (p=1.00).

Haber o no recibido inmunización contra la tosferina. En 18 de las y los 30 niños estudiados (60%), los padres desconocían si el niño/a había o no recibido el esquema de vacunación contra la tosferina. De estos 18, la mitad (50%), fueron positivos al predictor clínico. De los 12 padres que afirmaron que su hijo/a sí había recibido la vacunación contra la tosferina, 6 afirmaron que tenían todas las vacunas que le correspondían a la edad del niño/a y, 6 señalaron que el número de vacunas que tenía el niño/a, no estaba completo de acuerdo a su edad [Se consideró que un niño/a tenía su esquema completo acorde a su edad, siguiendo el esquema de vacuna pentavalente DPaT+VIP+Hib en México (SSA 2015a) de cuatro dosis a los 2, 4, 6 y 18 meses y un refuerzo de la vacuna DPT a los 4 años (SSA 2015b)].

De las y los 6 niños cuyos padres afirmaron que el niño/a sí tenía el esquema completo, uno (16.6%) fue positivo. Igual situación se dio entre las y los 6 niños cuyos padres contestaron que el niño/a no había recibido el esquema completo de acuerdo a su edad (p=0.248).

Tratamiento con antibiótico (macrólidos o cefalosporinas) previo a la toma de muestra. Para operacionalizar esta variable, a los padres de las y los niños estudiados se les preguntó si sus hijos/as habían recibido tratamiento antes de acudir al hospital a consulta. En caso afirmativo, se les preguntó el nombre de los medicamentos para poder identificar, en su caso, el tipo de antibióticos que les habían dado y, poder clasificarlos de acuerdo al grupo de interés (macrólidos y cefalosporinas). En las y los 28 niños de los que se obtuvo información a este respecto, se encontró lo siguiente: 23 niños/as sí habían recibido tratamiento previo, de los que 9 (39.13% IC 95% 17.55- 60.71) fueron positivos al predictor clínico. Por su parte, entre los 5 que no habían recibido tratamiento, 1 fue positivo al predictor clínico (20.0%) (p=0.626).

Tabla III. Variables Epidemiológicas

Variable	Categoría	Total (%)	Predictor n (%)	No Predictor n (%)	Valor p – Test exacto de Fischer
<i>Edad</i>					0.657
	≤ 1 año	18 (60)	8 (44.4)	10 (55.55)	
	≤ 2 años	7 (23.33)	2 (28.57)	5 (71.42)	
	≤ 5 años	5 (16.66)	1 (20)	4 (80)	
<i>Sexo</i>					0.712
	Hombre	18 (60)	6 (33.33)	12 (66.66)	
	Mujer	12 (40)	5 (41.66)	7 (58.33)	
<i>Lengua indígena de los padres</i>					0.215
	Sí	23 (76.66)	10 (43.47)	13 (56.52)	
	No	7 (23.33)	1 (14.28)	6 (85.71)	
<i>Zona de residencia</i>					1.00
	Urbano	14 (46.66)	5 (35.71)	9 (64.28)	
	Rural	16 (53.33)	6 (37.5)	10(62.5)	
<i>Inmunización contra tosferina</i>					0.248
	Sí	6 (20)	1 (16.66)	5 (83.33)	
	Incompleta	6 (20)	1 (16.66)	5 (83.33)	
	No / Desconoce	18 (60)	9 (50)	9 (50)	
<i>Tratamiento</i>					0.626
	Sí	23 (82.14)	9 (39.13)	14 (60.86)	
	No	5 (17.85)	1 (20)	4 (80)	

Factores clínicos asociados a la positividad de Tosferina, según el indicador “Predictor clínico” (leucocitosis y linfocitosis).⁷

Ninguna de las variables analizadas se mostró asociada a la positividad a tosferina, medida bajo el indicador “predictor clínico” (Tabla IV):

Tos paroxística: De las y los 27 con este síntoma, 10 (37.03%) fueron positivos al predictor clínico y, de los 3 que no lo presentaron, solo uno lo fue (p=1.00).

Tos seca: De las y los 28 que presentaban tos seca, 11 fueron positivos al predictor (39.28%) y, de los dos que no tuvieron tos seca, fueron negativos (p=.520).

⁷ De ocho de las y los niños estudiados, no se tuvieron cifras de leucocitos y linfocitos que incluye el “predictor clínico”, por lo tanto, no se incluyeron en este análisis.

Cianosis: En las y los 24 niños que presentaron cianosis, 8 (33.33%) fueron positivos al predictor clínico, y en los 6 casos sin cianosis, la mitad de ellos (50%) lo fueron ($p=0.641$).

Rinorrea: Seis (28.27%) de los 21 niños/as con rinorrea fueron positivos al predictor clínico y, en los 9 niños/as sin rinorrea 5 (55.55%), lo fueron ($p=0.225$).

Estridor: De las y los 17 niños con estridor, 7 (41.17%) fueron positivos al predictor clínico, y de los 13 que no presentaban estridor, 4 (30.76%) lo fueron ($p=0.708$).

Apnea: Tres (23.07%) de los 13 niños/as con apnea, fueron positivos al predictor clínico y, de los 17 sin apnea, 8 (47.05%) lo fueron ($p=0.259$).

Sibilancia: Cinco de los 13 niños/as (38.46%) con presencia de sibilancia fueron positivos al predictor clínico y, de las y los 17 sin sibilancia, 6 (35.29%) fueron positivos ($p=1.00$).

Alta frecuencia respiratoria: Cuatro de los 13 niños/as que presentaron esta característica (30.76%) fueron positivos al predictor clínico y, de las y los 16 niños sin alta frecuencia respiratoria, 6 (37.5%) lo fueron ($p=1.00$).

Baja saturación de O₂: Siete de las y los 18 niños (38.88%) que presentaban baja saturación de O₂ fueron positivos al predictor clínico y, 3 de las y los 11 (27.27%) que no la tuvieron, fueron positivos ($p= 0.694$).

Clasificación nutricional: En las y los 9 niños/as con clasificación nutricional normal, 2 (22.22%) fueron positivos al predictor clínico; entre los 4 casos con desnutrición moderada, la mitad (50%) fue positivo; y, entre los 7 casos con desnutrición grave, 3 (42.84%) fueron positivos ($p=0.612$).

Neumonía: De los 14 niños/as con neumonía, 6 (42.85%) fueron positivos al predictor clínico y, de los 16 sin neumonía, 5 (31.25%) lo fueron ($p=0.707$).

Fiebre: 6 de las y los 19 (31.57%) que tenían fiebre, fueron positivos al predictor clínico y, de los 11 que no tenían fiebre, 5 (45.45%) lo fueron ($p=0.696$).

Dificultad respiratoria: De los 23 niños/as con este síntoma, 9 (39.12%) fueron positivos al predictor clínico y, de los 7 que no la tenían, 2 (11.76%) lo fueron ($p=1.00$).

Crisis convulsiva: De los 3 niños/as con esta complicación, solo 1 fue positivo al predictor clínico y, de los 17 que sí presentaron crisis convulsiva, 8 (47.05%) lo fueron ($p=1.00$).

Hiporexia: De los 13 niños/as con hiporexia, 3 (23.07%) fueron positivos al predictor clínico y, de los 17 que no la presentaron, 8 (47.95%) sí lo fueron ($p=0.259$).

Tiempo de inicio de síntomas: En los 15 niños/as con inicio de síntomas menor a 2 semanas, 4 (26.66%) fueron positivos al predictor clínico; entre las y los 13 del grupo de inicio de síntomas de 2 a menos de 8 semanas, fueron 7 (53.84%) casos positivos ($p=0.278$).

Tipo de Egreso: De las y los 24 internados, 10 (41.66%) fueron positivos al predictor clínico y, de los 6 de consulta, 1 (16.66%) lo fue ($p= 0.372$).

Choque séptico: De las y los 38 niños estudiados, solo uno presentó choque séptico y, fue negativo al predictor.

Adinamia: De las y los 38 niños estudiados, solo uno presentó adinamia y, fue positivo al predictor.

Hemorragia conjuntival: De las y los 38 niños estudiados, solo uno la presentó, y fue negativo al predictor. Esta misma situación se dio con en la epistaxis.

En ningún niño/a se refirió la presencia de hipertensión arterial, neumotórax y encefalopatía.

Tabla IV. Variables Clínicas (inicio)

<i>Variable clínica</i>	Categoría	Total	Predictor n (%)	No Predictor n (%)	Valor p – Test exacto de Fischer
<i>Tos paroxística</i>					1.00
	Sí	27 (90)	10 (37.03)	17 (62.96)	
	No	3 (10)	1 (33.33)	2 (66.66)	
<i>Tos seca</i>					0.520
	Sí	28 (93.3)	11 (39.28)	17 (60.71)	
	No	2 (6.7)	0	2 (100.00)	
<i>Cianosis</i>					0.641
	Sí	24 (80)	8 (33.33)	16 (66.66)	
	No	6 (20)	3 (50)	3 (50)	
<i>Rinorrea</i>					0.225
	Sí	21 (70)	6 (28.57)	15 (71.42)	
	No	9 (30)	5 (55.55)	4 (44.44)	
<i>Estridor</i>					0.708
	Sí	17 (56.66)	7 (41.17)	10 (58.82)	
	No	13 (43.33)	4 (30.76)	9 (69.23)	
<i>Apnea</i>					0.259
	Sí	13 (43.44)	3 (23.07)	10 (76.92)	
	No	17 (56.66)	8 (47.05)	9 (52.94)	
<i>Sibilancia</i>					1.00
	Sí	13 (43.44)	5 (38.46)	8 (61.53)	
	No	17 (56.66)	6 (35.29)	11 (64.70)	
<i>Alta Frecuencia Respiratoria</i>					1.00
	Sí	13 (44.82)	4 (30.76)	9 (69.23)	
	No	16 (55.17)	6 (37.5)	10 (62.5)	
<i>Baja saturación de O₂</i>					0.694
	Sí	18 (62.06)	7 (38.88)	11 (61.11)	
	No	11(37.93)	3 (27.27)	8 (72.72)	
<i>Clasificación Nutricional</i>					0.612
	Normal	9 (40.90)	2 (22.22)	7 (77.77)	
	Nuevo patrón	2 (9.10)	0	2 (100)	
	Desnutrición Moderada	4 (18.20)	2 (50)	2 (50)	
	Desnutrición Grave	7 (31.81)	3 (42.85)	4 (57.14)	
<i>Neumonía</i>					0.707
	Sí	14 (46.66)	6 (42.85)	8 (57.14)	
	No	16 (53.33)	5 (31.25)	11 (68.75)	
<i>Fiebre</i>					0.696
	Sí	19 (63.33)	6 (31.57)	13 (68.42)	
	No	11 (36.66)	5 (45.45)	6 (54.54)	

Tabla IV. Variables Clínicas (continuación)

<i>Variable clínica</i>	Categoría	Total	Predictor n (%)	No Predictor n (%)	Valor p – Test exacto de Fischer
<i>Dificultad respiratoria</i>					1.00
	Sí	23 (76.66)	9 (39.12)	14 (60.86)	
	No	7 (23.33)	2 (11.76)	5 (71.42)	
<i>Crisis convulsiva</i>					1.00
	Sí	3 (10)	1 (33.33)	2 (66.66)	
	No	27 (90)	10 (37.03)	17 (62.96)	
	Sí	13 (43.33)	3 (23.07)	10 (76.92)	
	No	17 (56.66)	8 (47.05)	9 (52.94)	
<i>Choque séptico</i>					0.367
	Sí	1 (3.33)	1 (100)	0	
	No	29 (96.66)	10 (34.48)	19 (65.51)	
<i>Tiempo de inicio de síntomas</i>					0.278
	1 = < 2 semanas	15 (50)	4 (26.66)	11 (73.33)	
	2= 2 semanas a < 8 semanas	13 (43.30)	7 (53.84)	6 (46.15)	
	3= ≥ 8 semanas	2 (6.70)	0	2 (100)	
<i>Tipo de Egreso</i>					0.372
	Hospitalización	24 (80)	10 (41.66)	14 (58.33)	
	Consulta Hospital	6 (20)	1 (16.66)	5 (83.33)	
<i>Caso probable Tosferina InDRE</i>					0.419
	Si	21 (70.00)	9 (42.85)	12 (57.14)	
	No	9 (30.00)	2 (22.22)	7 (77.77)	

Positividad a tosferina bajo el criterio del Predictor Clínico, según definición de caso probable del InDRE.

De acuerdo a la definición de caso probable de tosferina del InDRE, “persona de cualquier edad con tos de 14 o más días de evolución y, dos o más de las siguientes características: tos paroxística, en accesos, espasmódico o estridor laríngeo inspiratorio, y, uno o más de los siguientes datos: tos cianósante, hemorragia (conjuntival, petequias, epistaxis), leucocitos con predominio de linfocitos; o historia de contacto con casos similares en las últimas dos o cuatro semanas previas al inicio del padecimiento. En esta definición se incluyen a los menores de tres meses que pueden manifestar solo episodios de apnea o cianosis con o sin tos” (InDRE 2015).

De las y los 38 niños estudiados, 25 cumplieron con la definición de caso probable del InDRE y, 13 no lo cumplieron. De los 25, 9 (42.9%, IC95% 15.78-56.22) fueron positivos a tosferina bajo el indicador de predictor clínico, en tanto que, de los 13 considerados

como casos no probables según los criterios del InDRE, 2 (22.2%, IC95% 7.31-38.08) fueron positivos bajo el criterio del predictor clínico. En la tabla V de los 11 pacientes con el predictor clínico, 9 de ellos tienen los síntomas equivalentes a la definición de caso probable (InDRE), aunado a la falta de inmunización.

Tabla V. Descripción de síntomas de pacientes con el predictor clínico

Folio (Edad)	Cumple con la definición de caso probable (Síntomas)	Concentración de leucocitos ($\times 10^3/\mu\text{l}$) y / linfocitos ($/\mu\text{l}$)	Inmunización contra tosferina	Resultado PCR
11 (1m)	Sí (Tos paroxística; Estridor; Cianosis)	58.9 / 20.70	No	-
14 (6m)	Sí (>14 días tos seca; Tos paroxística; Estridor)	25.65/ 11.7	No	-
42 (3m)	Sí (>14 días tos seca; Tos paroxística; Estridor; Cianosis; Apnea)	43.69 / 25.5	Si	+
61 (9m)	Sí (>14 días tos seca; Tos paroxística; Cianosis)	40.3 / 29.8	No	+
85 (1m)	Sí (>14 días tos seca; Tos paroxística; Estridor; Cianosis)	55.9 / 23.2	No	-
88 (2m)	Sí (Tos paroxística; Estridor; Cianosis; Apnea)	53.9 / 19.8	No	-
92 (3a)	Sí (>14 días tos seca; Tos paroxística; Cianosis)	24.7 / 17.2	No	+
97 (1ª7m)	No (Tos paroxística; Estridor)	33.2 /21.9	No	-
100 (1ª3m)	No (Tos paroxística)	63.0 / 42.7	No	+
118(1m)	Sí (>14 días tos seca; Tos paroxística; Estridor; Cianosis; Apnea)	41.59 / 22.30	No	Pendiente
130(3m)	Sí (>14 días tos seca; Tos paroxística; Cianosis)	24.30 / 14.50	No	Pendiente

DISCUSIÓN

La tosferina sigue siendo un problema de salud pública que no ha recibido la atención adecuada, al menos en la zona de estudio. A pesar de que se ha sugerido la presencia de casos de tosferina –si bien no confirmados- en diversas comunidades de los Altos de Chiapas, inclusive con reportes de niñas y niños fallecidos por esta enfermedad (La Redacción 2007), oficialmente, desde 2007 a la fecha (diciembre de 2019), solo se ha reportado un caso en la región –ocurrido en 2018. En el presente estudio se confirmó la presencia de infección por *B. pertussis*, con una tasa de positividad de 5.4% (IC 95% = 2.24-13.05) mediante cultivo, de 16.12% (IC 95%= 2.42- 29.84) por diagnóstico de PCR-TR y, de 36.66% (IC 95%= 18.36-54.97) si se toma como predictor clínico la presencia

de leucocitosis $\geq 21.60 \times 10^3/\mu\text{l}$ y linfocitosis $\geq 11.5/\mu\text{l}$ en sangre periférica (Vieira Bellettini et al. 2014).

En el estudio no se encontró ninguna asociación estadísticamente significativa de la positividad a *B. pertussis* a partir del predictor clínico con las variables epidemiológicas y clínicas analizadas, muy probablemente por el reducido número de niños/as incluidos en el estudio, conformado por un censo de todas y todos los niños que fueron admitidos/as al servicio de Urgencias Pediátricas del Hospital de Las Culturas de San Cristóbal de Las Casas, Chiapas, con sospecha de tosferina y/o síndrome coqueluchoide durante el periodo del 1 de marzo al 25 de octubre de 2019 (n=38), lo que limitó de manera determinante poder analizar posibles asociaciones entre la positividad a tosferina y las variables estudiadas. Por ende, se requieren estudios de mayores alcances que permitan realizar dichos análisis. Por ejemplo, en lo que se refiere a un mayor tiempo de estudio, mayor número de población estudiada, investigaciones en otros niveles de salud (primer nivel de atención) y en las propias comunidades.

El estudio se efectuó en el Hospital de las Culturas de San Cristóbal de Las Casas, debido a que este hospital es la unidad de salud de referencia de segundo nivel para población que no cuenta con seguridad social formal, así como para aquella inscrita en el Seguro Popular, condiciones en las que se encuentran la mayor parte de la población en Chiapas: en 2016, Chiapas era el estado del país con la mayor proporción de habitantes sin seguridad social: 81.1%, versus 55.8% a nivel nacional (SEDESOL 2018). En la región de los Altos, el 92% no tiene acceso a la seguridad social (SHE 2010). Por lo que se refiere a la proporción de habitantes afiliados al Seguro Popular, alrededor del 68% de la población en Chiapas está afiliada a este programa.⁸ De las y los niños estudiados, según la información proporcionada por sus padres, 36.84% contaba con Seguro Popular y 63.15% no.

⁸ Cálculo efectuado con base al número de población de Chiapas en 2015 [<http://cuentame.inegi.org.mx/monografias/informacion/chis/poblacion/>] y, número de afiliados al Seguro Popular en 2016 [<http://www.transparencia.seguro-popular.gob.mx/contenidos/archivos/transparencia/planesprogramaseinformes/informes/2017/InfdeResdelSPSSEne-Jun2017.pdf>]

Si bien, respondiendo a la hipótesis número 1, la tasa de positividad por tosferina está un poco por debajo de lo que consideran estudios anteriores (Ojeda González 2017), utilizando PCR como método de diagnóstico de Tosferina (de 20% versus 16.12% encontrado en este estudio), también se puede considerar muy alta, tomando en cuenta que, según la propia Secretaría de Salud del Estado de Chiapas, desde el año 2007 solo se ha reportado oficialmente un caso (en 2018) en la región de los Altos de Chiapas. Dicha tasa puede considerarse una cifra basal, debido a las siguientes consideraciones que pudieron afectar el poder diagnosticar mayor número de casos en el estudio: En lo que respecta a los métodos diagnósticos utilizados que pudieron influir en no identificar más casos de tosferina, se encuentran:

1. En el caso del cultivo: la toma previa de antibióticos, principalmente macrólidos y cefalosporinas, ya que estos tipos de antibióticos, inhiben el crecimiento de la *B. pertussis*, interfiriendo negativamente en el resultado cultivo. Otro factor que influye en su sensibilidad, es la demora de los padres en llevar a su hijo/a enfermo/a al hospital: si la toma de muestra se realiza en un tiempo mayor al adecuado para el diagnóstico por cultivo -hasta 2 semanas después de la fase paroxística-, los resultados se ven afectados (InDRE 2015);

2. PCR-TR: De igual manera, la toma de antibióticos (macrólidos y cefalosporinas), así como la demora de los padres en llevar a su hijo/a enfermo/a al hospital, pueden afectar los resultados para esta prueba. En el caso del tiempo de la toma de muestras de exudado nasofaríngeo, si estas se obtienen después del tiempo adecuado para PCR-TR hasta 4 semanas después de la fase paroxística-, los resultados se ven afectados (InDRE 2015).

Otro aspecto importante de tomar en cuenta en la sensibilidad de la PCR-TR, es la forma de extracción y purificación del material genético: en este estudio, la extracción y purificación, a partir de los exudados nasofaríngeos, fueron realizados con un método manual (fenol/cloroformo), el cual tiene el riesgo de contaminación por otro tipo de microorganismos y, dado que se utilizaron reactivos preparados en el laboratorio y no kits comerciales, pudo haber cierto margen de error en la medición de las cantidades

establecidas. Para el control de estos aspectos, se tuvo el mayor cuidado en disminuir al máximo, la posibilidad de cometerlos (van der Zee et al. 2015).

Al respecto puede señalarse que la metodología que se empleó está estandarizada y ha sido utilizada por otros autores que han trabajado con *B. pertussis* (Gutiérrez Ferman et al. 2018) (Tatti et al. 2011). La razón por la que se usó un método manual, fue para reducir los costos del proyecto.

Por otra parte, otra serie de aspectos no incluidos en el presente estudio, deben de alertar a la posibilidad de un mayor número de casos de tosferina que no llegan al ámbito hospitalario en la zona estudiada:

- Las y los niños estudiados, representan un segmento de la población que, de alguna manera, sí tuvo las condiciones de acceso al hospital, aspecto que los grupos de mayor marginación socioeconómica (grupos indígenas y campesinos de zonas rurales alejadas de la cabecera municipal), no tienen. Según la Comisión Nacional para el Desarrollo de los Pueblos Indígenas, en los estados con presencia de municipios indígenas –tal como es el caso de Chiapas- es donde se dan los más altos porcentajes de carencia por acceso a los servicios de salud. En el estado de Chiapas, dicha cifra es del 17.2% (CDI 2018). En la región de los Altos, dicha carencia es de alrededor de 34% (SHE 2010).
- La falta de cobertura de vacunación contra la tosferina en el ámbito comunitario. Destaca que, en el presente estudio, en 4 de los 5 positivos a *B. pertussis*, sus padres declararon desconocer o no tener la vacuna contra tosferina. El otro caso positivo por PCR-TR que sí presentaba inmunización completa de acuerdo a su edad, dado que apenas era una solo dosis (que es el número que corresponde a los tres meses de edad), aun no protege de manera suficiente contra la infección por *B. pertussis*, ya que la mayor eficacia de la vacunación contra la tosferina (de 80-90%), se da hasta después de la tercera dosis (Forsyth et al. 2015). Así también, en el total de las y los 38 niños estudiados, más de la mitad (55.3%) declaró no tener la vacuna y, en otro 23.7% se encontró que el esquema de vacunación contra tosferina estaba incompleto para su edad. Es decir, solo uno de cada cinco (20%) de las y los niños, presentaba su esquema completo.

- La falta de referencia de posibles casos de tosferina por parte de otras instituciones de salud, tanto públicas como privadas, debido a que probablemente esta enfermedad no está en el imaginario del personal de salud. La hipótesis es que, al no considerar a la tosferina dentro de las enfermedades respiratorias como un posible diagnóstico en menores de edad, no se le toma en cuenta al momento de emitir un diagnóstico. De acuerdo a los resultados encontrados en esta investigación, esta situación merecería realizar estudios enfocados a analizar los conocimientos, actitudes y prácticas en relación a la tosferina entre el personal de salud de la región.

Si bien es más que destacable el solo hecho de haber encontrado niños/as positivos/as a tosferina en el estudio (dado que, como ya se mencionó anteriormente, desde el año 2007 solo se tenía el reporte oficial de un caso en 2018), bien sea por cultivo (dos casos) o por PCR-TR (cinco casos –cifra en la que se incluyen los dos de cultivo), el uso del “predictor clínico” de positividad a *B. pertussis* propuesto por Vieira Belleteni et al (2014), el cual se basa en dos indicadores (presencia de leucocitosis $\geq 21.60 \times 10^3/\mu\text{l}$ y linfocitosis $\geq 11.5/\mu\text{l}$ en sangre periférica (Vieira Belletini et al. 2014), permitió captar un aparente mayor número de casos de tosferina. Este “predictor” ha sido fundamentado en diversos estudios donde han utilizado estos dos indicadores, así como a la presencia de algunos síntomas de tosferina, como la tos paroxística (Carbonetti 2016), así como complicaciones desencadenadas por el mecanismo de acción de la PT de la *B. pertussis* (Carbonetti 2015), como la leucocitosis –algunos estudios han asociado la mortalidad debido a tosferina cuando la concentración de leucocitos es $\geq a 100 \times 10^3/\mu\text{l}$ -, y la hipertensión pulmonar (Pierce et al. 2000).

La justificación de haber usado el citado predictor clínico, se basa en que la acción enzimática de la toxina PT de la *B. pertussis*, sobre las proteínas G del huésped, por una parte, alteran señalizaciones y funciones metabólicas (Murray et al. 2013), así como que reducen los receptores LFA-1 en los linfocitos, lo que se traduce en un desequilibrio en la migración de estas células, generando aglomeraciones en la vasculatura (Carbonetti 2016), lo que a su vez desencadena la leucocitosis y linfocitosis. Esta complicación se ha comprobado en estudios efectuados tanto en animales a los que se les ha administrado

PT (Carbonetti 2015), como en humanos, lo que ha conllevado a denominar a la PT como “factor promotor de leucocitosis y linfocitosis” (Carbonetti 2016).

Uno de los estudios reportados en humanos sugiere que la PT es en gran parte responsable de los síntomas respiratorios y de la leucocitosis: al observar un caso clínico de un paciente de 3 meses de edad, infectado con una cepa de *B. pertussis* deficiente a PT, se observó que desarrolló un curso relativamente corto de la enfermedad por tosferina, sin presentar los síntomas respiratorios severos ni leucocitosis (Carbonetti 2015).

En otro de los pocos estudios efectuados en humanos, se utilizaron dos grupos: uno experimental –al que se le administró vía intranasal una cepa de *B. Pertussis* deficiente a PT- y un grupo al que se le administró placebo. En las personas participantes del grupo experimental, se encontró que presentaron un cuadro clínico con pocos síntomas respiratorios de la tosferina, no mayores a los del grupo placebo (Mielcarek et al. 1998). En este contexto, cabe señalar que las cepas de *B. Pertussis* deficientes a PT, se han puesto a prueba en Dinamarca como vacuna, y han mantenido un control de la enfermedad (Thierry Carstensen et al. 2013).

Finalmente, destaca que, si bien no hubo asociación estadística entre la positividad al predictor clínico y la definición de caso probable dada por el InDRE ($p=0.419$), las y los nueve niños positivos al predictor clínico, cubren dicha definición de caso probable (InDRE 2015), por lo cual, hacen falta más investigaciones al respecto, que confirmen o descarten esta posible asociación.

CONCLUSIONES

A pesar de que el presente estudio puede considerarse como de pequeña escala, los resultados obtenidos demuestran que sí hay casos de *B. pertussis* en la región de Los Altos de Chiapas. Preocupa en este sentido que, en términos oficiales, en los hechos, no haya acceso al diagnóstico confirmatorio de esta enfermedad, aspecto más que preocupante, debido a que es una infección que, en el grupo de menores de cinco años de edad, es causa de complicaciones y muerte. De manera adicional, se encontraron

muy bajos índices de vacunación contra esta enfermedad, lo que hace evidente también, la necesidad de garantizar que las y los niños de la región reciban su esquema completo de vacunación.

En consecuencia, es necesario mejorar de manera significativa la prevención y el diagnóstico de casos de tosferina por parte de los servicios de salud de la región, para lo cual se requiere capacitar y sensibilizar al personal, así como dotarlo de los equipos e insumos para la vacunación y detección de casos esta enfermedad.

De igual manera, con el fin de poder hacer análisis de mayor alcance en cuando a la caracterización epidemiológica y clínica de la enfermedad, es menester realizar estudios más amplios en la región de los Altos de Chiapas, no solo en el hospital en el que se realizó la presente investigación, sino también en el resto de servicios de salud que atienden a población infantil en la región.

En este sentido, la baja detección de casos a través del cultivo y de la PCR-TR, es altamente probable que se deba a que la mayoría de las y los niños estudiados ya habían recibido previamente tratamiento antimicrobiano (con macrólidos o cefalosporinas), lo que afectó la sensibilidad de ambas pruebas. Por su parte, el predictor clínico utilizado (concentración de leucocitos y linfocitos) como una aproximación a la detección de casos de tosferina, mostró ser una estrategia útil, por lo que es recomendable que las y los niños que presenten sintomatología compatible con tosferina, independientemente si son o no hospitalizados, se les realicen al menos, una biometría hemática para detectar la presencia –o no- tanto de leucocitosis como de linfocitosis, facilitando el diagnóstico clínico de tosferina y, por ende, estar en mejores posibilidades de controlar esta enfermedad. Investigaciones como la aquí realizada, hacen mucha falta en la región estudiada, con el fin de contribuir a un mayor conocimiento de la epidemiología de la tosferina y de sus características clínicas en niños menores de cinco años de edad. El solo tener indicios de la muerte de niños, probablemente asociadas a la tosferina, justifica su realización.

ANEXOS

Aspectos Éticos

El presente estudio fue aprobado por el Comité de Ética de Investigación de El Colegio de la Frontera Sur (Anexo 2). Este estudio forma parte del proyecto “Análisis epidemiológico y molecular de *B. pertussis* en niños admitidos al Hospital de las Culturas de San Cristóbal de Las Casas, Chiapas”, el cual a su vez fue aprobado por los comités de Ética de Investigación de la Secretaría de Salud del Estado de Chiapas, y de El Colegio de La Frontera Sur (Anexos 3 y 4).

A los padres/tutores de los niños participantes, se les solicitó su consentimiento previamente informado (CPI), a través del cual se les explicaron los objetivos del estudio y el procedimiento que se tenía que realizar, esperando su aprobación antes de proseguir con la toma de la muestra y realización del cuestionario. Después de aceptar su participación, y una vez firmado el CPI, se le proporcionó una copia de éste (Anexo 5).

Con base en el Reglamento de la Ley General de Salud, del Cap. II Art.17, esta investigación en seres humanos es de riesgo mínimo, ya que, a los niños incluidos en el estudio, únicamente se les tomó una extracción de muestra nasofaríngea para su posterior cultivo microbiológico.

Toda la información obtenida en el estudio está resguardada y ha sido tratada de manera absolutamente anónima y confidencial, es decir, se codificó a los participantes de manera que en los resultados del proyecto no se revelase la identidad de los niños participantes.

Si bien no representa un riesgo mayor el procedimiento de la toma de muestra nasofaríngea, se tuvieron previsiones para que, en caso de presentarse alguna excepción de un leve sangrado nasofaríngeo –cosa que afortunadamente no sucedió- se tomaran las medidas necesarias para prevenir cualquier daño, como retirar el hisopo cuidadosamente ejerciendo una presión de cinco minutos sobre la fosa nasal para detener el sangrado. En dado caso, se tenía previsto intentar realizar la toma de muestra en la otra fosa nasal y, de presentarse nuevamente el sangrado, se suspendería definitivamente el procedimiento. Esto no ocurrió durante el desarrollo del estudio.

A las personas que se detectaron positivas a *B. pertussis* se les proporcionó el tratamiento correspondiente de manera gratuita por parte del Hospital de Las Culturas de San Cristóbal de Las Casas. Así también se hizo el reporte al área de epidemiología para que ahí se realizaran los procedimientos de notificación de casos, de acuerdo a los protocolos establecidos en el SINAVE.

A los pacientes que resultaron negativos a *B. pertussis* se continuó con la atención médica requerida por parte de los médicos tratantes del Hospital de Las Culturas de San Cristóbal de Las Casas. Todos los participantes obtuvieron su resultado del estudio en tiempo y forma.

Estos procedimientos requieren de medidas de bioseguridad personal y tratamiento de Residuos Biológicos Infecciosos (RPBI), debido al manejo de muestras de exudado nasofaríngeo y cultivos microbiológicos, por lo que se realizó el procedimiento que se describe a continuación:

(i) La toma de muestra, se realizó en un espacio ventilado, el personal fue capacitado para dicho procedimiento y utilizó la protección personal (guantes, bata, gafas, máscara N95 y vacunación previa contra tosferina).

(ii) Para el cultivo microbiológico de la muestra, se trabajó en cabinas de bioseguridad tipo II en las instalaciones del Laboratorio de Biología Molecular y Genética de la Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas (UNICACH), usando los elementos de protección personal y la capacitación anticipada del procedimiento.

(iii) Los viales del exudado nasofaríngeo, después de su siembra, fueron esterilizados en autoclave y desechados en bolsas rojas de RPBI.

(iv) Las placas con crecimiento de colonias de *B. pertussis* y demás flora nasofaríngea fueron selladas con parafilm y se esterilizaron en autoclave. Posteriormente se depositaron en bolsas rojas de RPBI.

(v) Siguiendo el proceso de descontaminación del Laboratorio de Biología Molecular y Genética de la UNICACH, las bolsas de RPBI se trasladaron al almacén de RPBI de dicha institución para su recolección por parte de la empresa responsable recolectora de RPBI.

Este proceso sigue lo estipulado en la NORMA Oficial Mexicana NOM-087-ECOL-SSA1-2002, Protección ambiental - Salud ambiental - Residuos peligrosos biológico-infecciosos - Clasificación y especificaciones de manejo.

A las personas que son detectadas como positivas a *B. pertussis*, se les proporcionó el medicamento gratuito por parte del Hospital de Las Culturas de la Secretaría de Salud del Estado de Chiapas. Por otra parte, también se hizo la notificación correspondiente al área de epidemiología del hospital, de acuerdo a los protocolos del SINAVE de la Secretaría de Salud federal.

A los pacientes que resultaron negativos a *B. pertussis* se les continuó con la atención médica requerida por parte de los médicos tratantes del Hospital de Las Culturas de SCLC.

Literatura Citada

- Aquino Andrade A, Martínez Leyva G, Mérida Vieyra J, Saltigeral P, Lara A, Domínguez W, García de la Puente S, De Colsa A. 2017. Real-Time Polymerase Chain Reaction–Based Detection of *Bordetella pertussis* in Mexican Infants and Their Contacts: A 3-Year Multicenter Study. *J. Pediatr.*:1–8.
- Bart MJ, Harris SH, Advani A, Arakawa Y, Bottero D, Bouchez V, Cassidy PK, Chiang CS, Dalby T, Fry NK, et al. 2014. Global Population Structure and Evolution of *Bordetella pertussis* and Their Relationship with Vaccination. *MBio* 33(2):220–226.
- Becton Dickinson DS. 2003. BD Bordet Gengou Agar with 15 % Sheep Blood. 2–5 p.
- . 2009. *Manual of Microbiological Culture Media*. 84,85-135,136-470,471.
- Beltrán Silva S, Cervantes Apolinar Y, Conde González C, Gentile A, Gómez Altamirano CM, Macías Parra M, Martínez Aguilar G, Mascareñas de los Santos A, Moreno Espinosa S, Pacheco Ríos A, et al. 2011. Consenso para el diagnóstico clínico y microbiológico y la prevención de la infección por *Bordetella pertussis*. *Salud Publica Mex.* 53(1):57–65.
- Bisgard KM, Rhodes P, Connelly BL, Bi D, Hahn C, Patrick S, Glodé MP, Ehresmann KR. 2005. Pertussis Vaccine Effectiveness Among Children 6 to 59 Months of Age in the United States, 1998-2001. *Pediatrics* 116(2):e285–e294.
- Breña Cantu G, Pacheco Arroyo NA, Kusulas Tejada A, Reyes Veyna L del R, Duran Barragán CE, Rodríguez Gutiérrez R. 2018. Tos ferina. *Boletín Epidemiológico Zacatecas*(19).
- Cano Rangel MA, Durazo Arvizu MDLÁ, Dorame Castillo R, Gómez Rivera N. 2012. Abordaje Diagnóstico del Síndrome Coqueluchoide y Tosferina. *Bol Clin Hosp Infant Edo Son* 29(2):85–87.
- Cantarelli V V, Hoffmann ER, Fitarelli DB, Comerlato L, Baungarten CC. 2013. Pertussis: a re-emerging or under diagnosed infectious disease? *Brazilian J. Infect. Dis.* 17(3):385–386.
- Carbonetti NH. 2015. Contribution of pertussis toxin to the pathogenesis of pertussis disease. *Pathog. Dis.* 73(8):ftv073.
- Carbonetti NH. 2016. Pertussis leukocytosis: mechanisms, clinical relevance and treatment. *Pathog. Dis.* 74(7):1–8.
- Carrado Bravo DT, Gómez Orozco MJ, Luna Martínez MJ, Canales López LG. 1982. La tosferina y la vacunación antitosferina. *Salud Publica Mex.* XXIV.
- Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades. 2017. Tosferina. [accessed 2019 Nov 12]. <https://www.cdc.gov/pertussis/about/signs-symptoms-sp.html>
- Cherry JD. 2016. Pertussis in young infants throughout the world. *Clin. Infect. Dis.* 63(Suppl 4):S119–S122.

- Comisión Nacional para el Desarrollo de los Pueblos Indígenas. 2018. Medición de la Pobreza 2015 en los Municipios con Población Indígena. 1–32 p.
- Consejo Nacional de Evaluación de la Política de Desarrollo Social. 2018. Estudio Diagnóstico del Derecho a la Salud. :21,22,23.
- Diavatopoulos DA, Cummings CA, Schouls LM, Brinig MM, Relman DA, Mooi FR. 2005. Bordetella pertussis , the Causative Agent of Whooping Cough , Evolved from a Distinct , Human-Associated Lineage of B. bronchiseptica. PLoS Pathog. 1(4).
- Domenech de Cellès M, Magpantay FM., King AA, Rohani P. 2016. The pertussis enigma: reconciling epidemiology, immunology and evolution. R. Soc. 283(1822).
- Donoso A, Arriagada D, Cruces P, Franco D. 2012. Coqueluche grave: Estado del arte. Infectología al Día 29(3):290–306.
- Dotres Martínez C, Vega Mendoza D, Toraño Peraza G, Alvarez Carmenate M, Broche Morera A. 2012. Síndrome coqueluchoide y tos ferina Pertussis-like syndrome and whooping cough. 28(4):725–734.
- Dotres Martinez DC, Vega Mendoza DD, Toraño Perez DCG, Álvarez Carmenate DM, Broche Morera DA. 2012. Síndrome coqueluchoide y tos ferina. Rev. Cuba. Med. Gen. Integr. 28(4):725–734.
- Edeleman K, Nikkari S, Ruuskanen O, He Q, Viljanen M, Mertsola J. 1996. Detection of Bordetella pertussis by polymerase chain reaction and culture in the nasopharynx of erythromycin-treated infants with pertussis. Pediatr. Infect. Dis.:54–57. [accessed 2019 Sep 19]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8684877?dopt=Abstract>
- Forsyth K, Plotkin S, Tan T, Von König CHW. 2015. Strategies to decrease pertussis transmission to infants. Pediatrics 135(6):e1475–e1482.
- Franco Esquivel T, De la Paz Leal CA, Siqueiros Ramírez AL. 2018. Outbreak of Bordetella pertussis and Bordetella holmesii in Mexicali, Baja California, México. Vaccines and Immunization 9:7560.
- Gutiérrez Ferman JL, Villarreal Treviño L, Ramírez Aranda JM, Camacho Ortiz A, Ballesteros Elizondo MR, Moreno Juárez MR, Mendoza Olazarán S, de la O Cavazos ME, Villarreal Pérez JZ, Gómez Govea MA, et al. 2018. Emerging of ptxP 3 lineage in Bordetella pertussis strains circulating in a population in northeastern Mexico. Epidemiol. Infect.
- Hernández Porras M, González Saldaña N. 2014. ¿Vacunar contra tos ferina? Rev. Enfermedades Infecc. en Pediatría XXVII(107):428–432.
- Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológica. 2015. Lineamientos Para La Vigilancia Epidemiológica De Tos Ferina Y Síndrome Coqueluchoide Por Laboratorio. 1:1–91.
- Kilgore PE, Salim AM, Zervos MJ, Schmitt H. 2016. Pertussis : Microbiology, Disease, Treatment, and Prevention. Clin. Microbiol. 29(3):449–486.
- Klebs F. 2004. Breve historia de la Bordetella pertussis , una elusiva damisela. 21(3):241–

- Mancebo Hernández A, González Rivera A, Lombardo Aburto E, Chico Aldama P, Serrano Sierra A. 2005. Síndrome coqueluchoide y tos ferina: situación actual de la vigilancia epidemiológica. *Acta Pediátrica México* 26(5):257–269.
- Mattoo S, Cherry JD. 2005. Molecular Pathogenesis, Epidemiology, and Clinical Manifestations of Respiratory Infections Due to *Bordetella pertussis* and Other *Bordetella* Subspecies. *Clin. Microbiol. Rev.* 18(2):326–382.
- Melvin JA, Scheller E V, Miller JF, Cotter PA. 2014. *Bordetella pertussis* pathogenesis: Current and future challenges. *Nat. Rev. Microbiol.* 12(4):274–288.
- Mielcarek N, Riveau G, Remoué F, Antoine R, Capron A, Loch C. 1998. Homologous and heterologous protection after single intranasal administration of live attenuated recombinant *Bordetella pertussis*. *Nat. Biotechnol.* 16(5):454–457.
- Mooi FR. 2010. *Bordetella pertussis* and vaccination: The persistence of a genetically monomorphic pathogen. *Infect. Genet. Evol.* 10(1):36–49.
- Muñoz Hernández O, Santos Preciado JI, Solorzano Santos F, Miranda Novales MG. 2013. *Infectología Clínica Kumate-Gutiérrez*. 17° edicio. Editores M, editor. México, D.F.
- Murray EL, Nieves D, Bradley JS, Gargas J, Mason WH, Lehman D, Harriman K, Cherry JD. 2013. Characteristics of severe *Bordetella pertussis* infection among infants ≤ 90 days of age admitted to pediatric intensive care units - Southern California, September 2009-June 2011. *J. Pediatric Infect. Dis. Soc.* 2(1):1–6.
- Notimex LP. 2015. Confirman presencia de casos de tosferina en Chiapas. Promoc. la salud. [accessed 2018 Dec 5]. <http://www.promocion.salud.gob.mx/cdn/?p=16436>
- Ochoa Perez UR, Hernández Sierra JF, Escalante Padrón FJ, Contreras Vidales S, Berman Puente AM, Noyola DE. 2014. Epidemiology of *Bordetella pertussis* in San Luis Potosí, México. *Pediatr. Infect. Dis.* 33(5):540–542.
- Ojeda González PC. 2017. Comparación del comportamiento epidemiológico de Tos ferina en menores de cinco años , de 1990-1997 ; 1999-2006 y 2008-2015 en México.
- Organizacion Mundia de La Salud, Organizacion Panamericana de la Salud. 2018. Cobertura de Vacunación para los Países y Territorios de las Americas. [accessed 2018 Dec 5]. <http://www.paho.org/data/index.php/es/temas/inmunizaciones/299-cobertura-vacunacion-por-vacuna.html>
- Organizacion Panamericana de la Salud. 2012. Alerta Epidemiológica: Tos ferina (Coqueluche). 3 p.
- Ortega Guillén AE. 2010. Uso de los Macrólidos en infecciones pediátricas. *Enfermedades Infecc. y Microbiológicas* 30(4):134–138.
- Paddock CD, Sanden GN, Cherry JD, Gal AA, Langston C, Tatti KM, Wu K, Goldsmith CS, Greer PW, Montague JL, et al. 2008. Pathology and Pathogenesis of Fatal *Bordetella pertussis* Infection in Infants. *Clin. Infect. Dis.*

- Pardo Dominguez C, Ceballos LT, Quezel Guerraz NM, Álvarez Aldean J. 2018. Bacteriemia por *Bordetella holmesii* en un paciente con drepanocitosis. *Acta Pediatr. Española* 76:47–49.
- Pérez Pérez GF, Rojas Mendoza T, Cabrera Gaytán DA, Grajales Muñiz C. 2015. Panorama epidemiológico de la tos ferina 19 años de estudio epidemiológico en el Instituto Mexicano del Seguro Social. *Rev. Med. Inst. Mex. Seguro Soc.* 53(2):164–70.
- Pescador Vargas B, Roa Culma LA. 2017. Pertussis: Enfermedad Reemergente. *Rev. Med* 25(2):78–95.
- Pierce C, Klein N, Peters M. 2000. Is leukocytosis a predictor of mortality in severe pertussis infection? *Intensive Care Med.* 26(10):1512–1514.
- Pittet LF, Emonet S, Schrenzel J, Siegrist CA, Posfay-Barbe KM. 2014. *Bordetella holmesii*: An under-recognised *Bordetella* species. *Lancet Infect. Dis.* 14(6):510–519.
- La Redacción. 2007. Catorce muertos por epidemia de tosferina en comunidades de Chiapas. *Rev. Proceso.* [accessed 2018 Dec 5]. <https://www.proceso.com.mx/208904/catorce-muertos-por-epidemia-de-tosferina-en-comunidades-de-chiapas>
- Sanchez Pardo S, Alexander Jacome G, Alfonso Garcia G, Muñoz Ceron J, Ponce N. 2013. *Bordetellas*, más que solo Pertussis : Genética, genómica, evolución y nuevos patógenos para la especie humana. 22(3):177–185.
- Sapián López LA, Valdespino JL, Salvatierra B, Tapia Conyer R, Gutiérrez G, Macedo J, Sepúlveda J. 1992. Seroepidemiología de la tosferina en México. 34(2).
- Scanlon K, Skerry C, Carbonetti N. 2019. Association of pertussis toxin with severe pertussis disease. *Toxins (Basel).* 11(7).
- Secretaría de Desarrollo Social. 2018. Informe anual sobre la situación de pobreza y rezago social 2018. 1–5 p.
- Secretaría de Hacienda Estatal. 2010. Programa Regional de Desarrollo. Región V Altos Tsotsil- Tseltal. 0–67 p.
- Secretaría de Salud. 2010. Vacunación en la Embarazada. Catálogo Maest. guías práctica clínica IMSS-580-12.
- . 2015a. Vacuna Pentavalente Acelular. [accessed 2018 Dec 3]. <https://www.gob.mx/salud/articulos/vacuna-pentavalente-acelular?state=published>
- . 2015b. Vacuna DPT protege contra difteria, tosferina y tétanos. [accessed 2019 Sep 10]. <https://www.gob.mx/salud/censia/articulos/vacuna-dpt-protege-contradifteria-tos-ferina-y-tetanos-131352?state=published>
- . 2018. Manual de Procedimientos Estandarizados para la Vigilancia Epidemiológica de las Enfermedades Prevenibles por Vacunación. 220 p.
- Secretaría de Salud, Comisión Nacional de Bioética. 2015. Determinantes Sociales de la

Salud. Gaceta IV(15).

Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica. 2019. Boletín Epidemiológico Seana 52. 8–11 p.

Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica. 2015. Boletín Epidemiológico Semana 52.

———. 2016. Panorama Epidemiológico y Estadístico de la Mortalidad por Causas Sujetas a Vigilancia Epidemiológica en México 2013. 32 p.

———. 2017. Boletín Epidemiológico Semana 52. 34(52).

———. 2018. Boletín Epidemiológico Semana 52.

Suárez Moreno V, Hernández Díaz HR. 2000. Pertussis. 1–43 p.

SurrIDGE J, SegEDIN ER, GRANT CC. 2007. Pertussis requiring intensive care. Arch. Dis. Child. 92(11):970–975.

TATTI KM, SPARKS KN, BONEY KO, TONDELLA ML. 2011. Novel Multitarget Real-Time PCR Assay for Rapid Detection of Bordetella Species in Clinical Specimens. J. Clin. Microbiol. 49(12):4059–4066.

THIERRY CARSTENSEN B, DALBY T, STEVNER MA, ROBBINS JB, SCHNEERSON R, TROLLFORS B. 2013. Experience with monocomponent acellular pertussis combination vaccines for infants, children, adolescents and adults-A review of safety, immunogenicity, efficacy and effectiveness studies and 15 years of field experience. Vaccine 31(45):5178–5191.

TING YEUNG KH, DUCLOS P, S. NELSON EA, W. HUTUBESSY RC. 2017. An update of the global burden of pertussis in children younger than 5 years: a modelling study. Lancet Infect. Dis. 17(9).

TOMÉ SANDOVAL P, TORRES ARREOLA L del P, ROMERO QUECHOL G, GUISCAFRÉ GALLARDO H. 2008. Bordetella pertussis en estudiantes adolescentes de la Ciudad de México. Salud Pública 42(4):679–683.

TOZZI AE, CELENTANO LP, CIOFI DEGLI ATTI ML, SALMASO S. 2005. Diagnosis and management of pertussis. Can. Med. Assoc. or its Licens.

VIEIRA BELLETTINI C, WELTER DE OLIVEIRA A, TUSSET C, FIOREZZANO BAETHGEN L, AMANTÉA SL, MOTTA F, GASPAROTTO A, ANDREOLLA HF, PASQUALOTTO AC. 2014. Clinical, laboratorial and radiographic predictors of Bordetella pertussis infection. Rev. Paul. Pediatr. 32(4):292–298.

VILLALOBOS PINTO E, MARTÍNEZ VILLANUEVA J, CANO FERNÁNDEZ J, FLORES PÉREZ P, SÁNCHEZ BAYLE M. 2012. Factores de riesgo de complicaciones y duración del ingreso hospitalario en pacientes con tos ferina. Pediatr. Aten. Primaria 14(55):207–215.

VILLARREAL PÉREZ JZ, RAMÍREZ ARANDA JM, RODRÍGUEZ RODRÍGUEZ I, PERALES DÁVILA J, GARCÍA ELIZONDO FJ, GÓMEZ GÓMEZ C, GALINDO GALINDO E, RODRÍGUEZ MORENO MA, BALLESTEROS ELIZONDO R. 2014. Absence of antibodies against Bordetella pertussis in

pregnant women and newborns in the state of Nuevo León. *J. Perinat. Med.* 42(5):649–654.

Wood N, McIntyre P. 2008. Pertussis: review of epidemiology, diagnosis, management and prevention. *Paediatr. Respir. Rev.* 9(3):201–212.

World Health Organization. 2009. Social determinants of health. The Solid Facts. *Can. J. Nurs. Res.* 41(3):19–22.

———. 2015. Pertussis vaccines: WHO position paper- August 2015. *Wkly. Epidemiol. Rec.* 90(35):433–60.

———. 2018. Global and regional immunization profile. 1 p.

———. 2019a. Immunization, Vaccines and Biologicals. Pertussis. [accessed 2019 Nov 14].
https://www.who.int/immunization/monitoring_surveillance/burden/vpd/surveillance_type/passive/pertussis/en/

———. 2019b. Covertura Vacunal.

van der Zee A, Schellekens JFP, Mooi FR. 2015. Laboratory diagnosis of pertussis. *Clin. Microbiol. Rev.* 28(4):1005–1026.

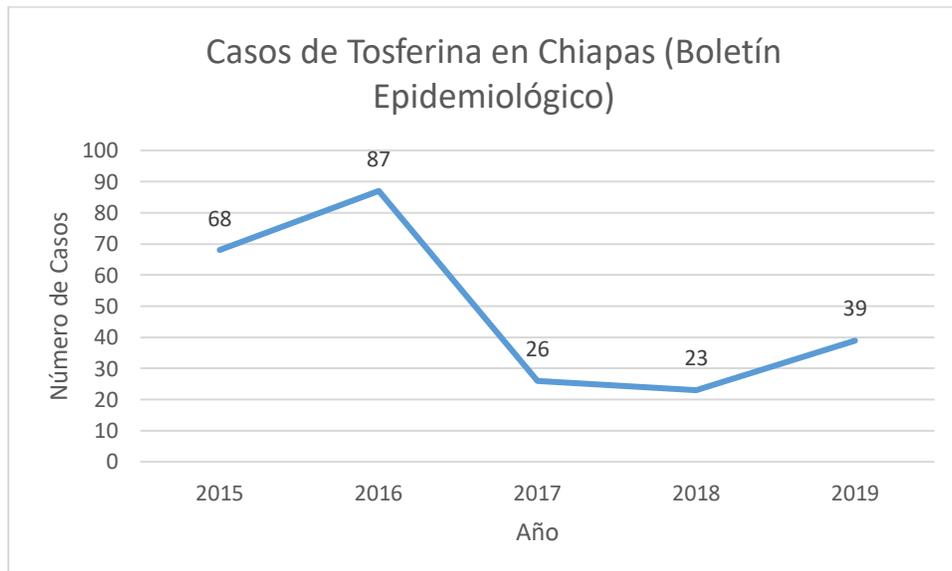
Cuadros y Figuras

Figura 1. Casos de tosferina registrados en México durante el periodo 2008- 2019



Datos tomados de: (SSA 2018) y (SINAVE 2019)

Figura 2. Casos de Tosferina registrados en Chiapas durante el periodo 2015-2019.



Datos tomados de (SINAVE 2015) (SINAVE 2017) (SINAVE 2019)

Cuadro 1. Número de defunciones y mortalidad por Tosferina en México durante el periodo 1922- 1975

Año	No. defunciones	Tasa de mortalidad*	Año	No. defunciones	Tasa de mortalidad*
1922	14383	98.9	1949	11246	44.7
1923	17497	118.6	1950	11888	46.1
1924	11117	74.3	1951	8738	32.9
1925	11035	72.6	1952	9104	33.4
1926	13643	88.4	1953	9015	32.1
1927	9992	63.7	1954	9519	33
1928	16325	102.5	1955	7462	25.1
1929	18688	115.3	1956	6494	21.3
1930	18585	112.3	1957	7121	22.7
1931	10645	63.1	1958	7127	22
1932	9745	56.7	1959	8538	25.6
1933	13970	79.9	1960	4741	13.6
1934	20199	113.6	1961	5452	15.1
1935	11787	65.1	1962	4738	12.7
1936	9390	51	1963	5299	13.8
1937	12365	66	1964	6627	16.7
1938	15755	82.6	1965	3596	8.7
1939	14596	75.2	1966	3411	8
1940	8336	42.4	1967	5178	11.7
1941	10912	53.7	1968	5266	11.5
1942	14866	71.2	1969	3865	8.2
1943	11686	54.6	1970	3458	7
1944	9909	45.1	1971	5654	11.1
1945	10504	46.5	1972	4202	8
1946	15083	65.1	1973	3584	6.6
1947	11117	46.7	1974	3032	5.2
1948	11290	46.2	1975	1638	2.7

*Tasa por 100,000 habitantes.

Datos tomados de : (Carrado Bravo et al. 1982)

Cuadro 2. Casos y Morbilidad por Tosferina en México 1941-1979

Año	No. casos	Tasa*	Año	No. casos	Tasa*
1941	30441	151.6	1960	24116	68.9
1942	33825	165.9	1961	46089	127.2
1943	26145	126.2	1962	30363	78.94
1944	22139	105.3	1963	42884	111.5
1945	28015	131.3	1964	39119	97.8
1946	35550	145.7	1965	22981	55.6
1947	27578	125.5	1966	22256	50.4
1948	26715	119.8	1967	40697	89.1
1949	31088	137.5	1968	24014	50.8
1950	31654	123.6	1969	15444	32.5
1951	23204	92.8	1970	17354	35.4
1952	32734	117.8	1971	29772	58.6
1953	24946	87.3	1972	21902	41.6
1954	36245	108.7	1973	17212	31.6
1955	23623	70.6	1974	9020	16
1956	34023	108.8	1975	3450	5.7
1957	27813	88.9	1976	4580	7.3
1958	38826	120.3	1977	7472	11.6
1959	39168	123.3	1978	3100	4.6
			1979	2501	3.6

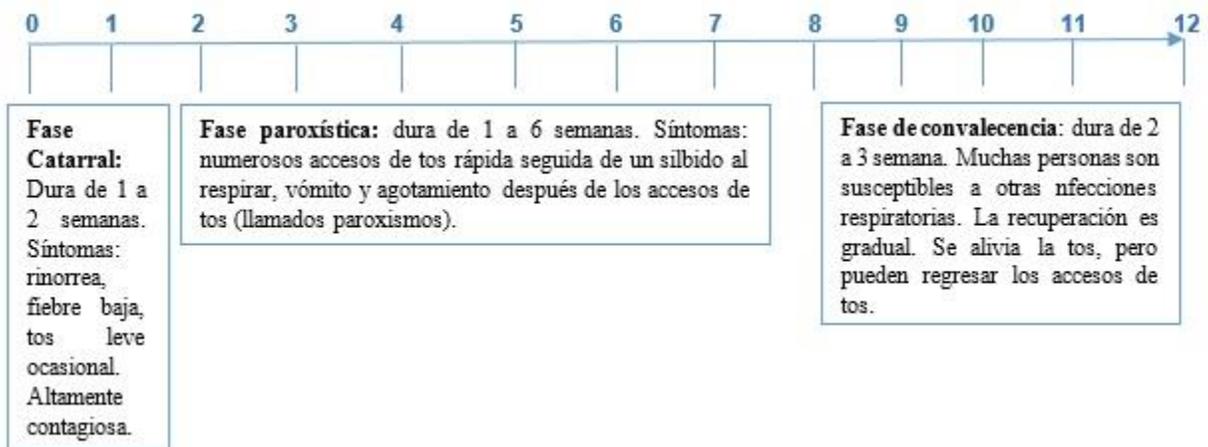
Datos tomados de: (Carrado Bravo et al. 1982)

Cuadro 3. Tabla de las especies de *Bordetella* y huéspedes asociados

Especies de <i>Bordetella</i>	Huésped
<i>B. pertussis</i>	Humanos
<i>B. parapertussis</i>	Humanos, ovejas, cabras, cerdos
<i>B. parapertussis</i>	Ganado
<i>B. bronchiseptica</i>	Humanos, cerdos, gatos, perros, conejos
<i>B. avium</i>	Humanos, aves
<i>B. hinzii</i>	Humanos
<i>B. holmesii</i>	Humanos
<i>B. trematum</i>	Humanos
<i>B. petrii</i>	Humanos
<i>B. ansorpii</i>	Humanos

Datos tomados de: (Kilgore et al. 2016)

Cuadro 4. Evolución (semanas) de la enfermedad: Tosferina



Datos tomados de (CDC 2017) (Mattoo and Cherry 2005).

Cuadro 5. Características bioquímicas para la identificación de especies de *Bordetella*.

Prueba	<i>B. pertussis</i>	<i>B. parapertussis</i>	<i>B. holmessi</i>	<i>B. bronchiseptica</i>
Catalasa	+	+	V(W)	+
Oxidasa	+	-	-	+
Movilidad	-	-	-	+
Reducción de nitratos	-	-	-	+
Ureasa	-	+(24 h)	-	+(4 h)
Desarrollo de citrato	-	+	ND	+
Pigmento marrón en TSA o MH	-	+	+	-
Crecimiento en MAC	-	+	+	+
Crecimiento en Gelosa Sangre	-	+	+	+(raro) beta

Fuente: (InDRE 2015)

Cuadro 6. Algoritmo del resultado del ensayo PCR-TR multiplex

Especies	<i>IS481</i>	<i>His1001</i>	<i>pIS1001</i>
<i>B. pertussis</i>	+	-	-
<i>B. parapertussis</i>	-	-	+
<i>B. holmessi</i>	+	+	-
<i>B. pertussis</i> y <i>B. parapertussis</i>	+	-	+
<i>B. pertussis</i> y <i>B. holmesii</i>	+	+	-

Datos tomados de (Tatti et al. 2011)

Anexo 1. Formato de cuestionario utilizado para recolección de datos epidemiológicos y clínicos de posibles casos índice y/o primarios de tosferina.

Número de expediente del hospital _____ Número de identificación para el estudio: _____
 o de seguro popular: _____

Datos Sociodemográficos	
Nombre del paciente:	Edad: Sexo: F () M ()
Lugar de residencia:	Domicilio
Fecha de nacimiento (dd-mm-aa):	Etnia: Escolaridad:
Fecha de ingreso:	Fecha de egreso:
Número de contactos:	Nombre del padre o tutor: Teléfono:
Datos Clínicos	
Tos seca: Si () Duración (días): Fecha de inicio de síntomas: No ()	
Tos Paroxística: Si () Duración (días): Fecha de inicio de síntomas: No ()	
Tos emetizante: Si () Duración (días): Fecha de inicio de síntomas: No ()	
Tos disneizante: Si () Duración (días): Fecha de inicio de síntomas: No ()	
Cianosis: Si () No ()	Complicaciones
Rinorrea: Si () No ()	Neumonía: Si () No ()
Estridor: Si () No ()	Fiebre: Si () T°: __ No ()
Apnea: Si () No ()	Dificultad respiratoria: Si () No ()
Sibilancia: Si () No ()	Crisis convulsiva: Si () No ()
Hemorragia conjuntival: Si () No ()	Hiporexia: Si () No ()
Epistaxis: Si () No ()	Choque séptico: Si () No ()
Frecuencia Respiratoria:	Hipertensión arterial: Si () No ()
SPO ₂ :	Adinamia: Si () No ()
Peso:	Neumotórax: Si () No ()
Talla:	Encefalopatía: Si () No ()

Vacunación:	Muestra Cartilla:	Fecha de última dosis:
Si () No () Ignora () Dosis () Si () No ()		
Tipo de vacuna: () Seleccione el número del panel de abajo		
1=DPT 2=PENTAVALENTE 3=HEXAVALENTE 4=TDaP 5= OTRA		
Biometría Hemática		
Hemoglobina:	Linfocitos %:	Neutrófilos%:
Leucocitos:	Linfocitos (totales):	Plaquetas: Glicemia:
Exudado Nasofaríngeo para determinar Bordetella		
() PCR	Fecha de toma:	Fecha de envío:
Resultado: () Positivo () Negativo () Muestra inadecuada		
() Cultivo	Fecha de toma:	Fecha de envío:
Resultado: () Positivo () Negativo () Muestra inadecuada		
Tratamiento con antibióticos		
1.-	Fecha de inicio:	Duración (días):
2.-	Fecha de inicio:	Duración (días):
3.-	Fecha de inicio:	Duración (días):

Observaciones: _____

Cuadro 7. Descripción y operacionalización de variables clínicas y epidemiológicas

<i>Descripción de Variables</i>		
<i>Variable</i>	Descripción	Operacionalización
Variable Principal: Presencia de <i>B. pertussis</i> / Positividad a <i>B. pertussis</i> a partir del predictor clínico	Confirmación por PCR-TR positivo a <i>B. pertussis</i>	Positivo =1 Negativo= 2
	Variable “Predictor clínico” Leucocitosis= $\geq 21.6 \times 10^3/\mu\text{l}$ y Linfocitosis $\geq 11.5 /\mu\text{l}$	1=Positivo 2=Negativo 3= sin datos
Variables Independientes: Clínico: Síntomas; Tos paroxística Tos seca	Tos violenta o exagerada en accesos	Si =1 No= 2
	Irritativa, improductiva, nerviosa, sin expectoración	Si =1 No= 2
Tos emetizante	Tos acompañada de vómito	Si =1 No= 2
Tos disneizante	Tos persistente que provoca dificultad para respirar	Si =1 No= 2
Apnea	Suspensión de la respiración	Si =1 No= 2
Cianosis	Coloración azul en piel y mucosas por falta de oxigenación	Si =1 No= 2
Rinorrea	Congestión nasal	Si =1 No= 2
Estridor	Sonido agudo producido en la inspiración	Si =1 No= 2
Hemorragia conjuntival	Hemorragia en el ojo	Si =1 No= 2
Sibilancia	Sonido sibilante en el paso del aire a los pulmones	Si =1 No= 2
Epistaxis	Sangrado nasal	Si =1 No= 2
Frecuencia Respiratoria alta	Respiraciones por minuto elevado según la edad	Si =1 No= 2
Saturación de O ₂ bajo	Saturación de O ₂ < 95%	Si =1 No= 2
Adinamia	Ausencia total de fuerza física	Si=1 No=2
Dificultad Respiratoria	Dificultad para respirar	Si=1 No=2
Fiebre	Temperatura corporal (oral) > 37.5°C	Si =1 No= 2
Citometría hemática: Leucocitos	Concentración de leucocitos $\times 10^3/\mu\text{l}$	Numérico
Linfocitos %	Porcentaje de linfocitos	Numérico
Linfocitos Totales	Concentración de linfocitos /ul	Numérico
Clasificación Nutricional:	Según el Peso/Talla/Edad	1=Normal 2=Nuevo patrón 3=Desnutrición Moderada (DM) 4=Desnutrición Grave (DG) 5=Sin datos (S/D)
Neumonía	Inflamación de pulmón por Infección	Si =1 No= 2
Crisis convulsiva	Trastorno neurológico con susceptibilidad de generar convulsiones	Si =1 No= 2
Hiporexia	Pérdida parcial del apetito	Si =1 No= 2
Hipertensión arterial	Aumento de la presión arterial	Si =1 No= 2
Choque séptico	Hipotensión por disminución de perfusión tisular y suministro de O ₂	Si =1 No= 2
Neumotórax	Escape del aire pulmonar	Si =1 No= 2
Encefalopatía	Enfermedad del encéfalo	Si =1 No= 2
Epidemiológicos: Esquema de vacunación	Tipo de esquema de vacunación según la edad en meses (m): 2-3 m=1 dosis (DPaT+VP+Hib) 4-5 m=2 dosis (DPaT+VP+Hib) 6-17 m= 3 dosis (DPaT+VP+Hib) 18-47 m=4 dosis (DPaT+VP+Hib) ≥ 48 m = 4 dosis (DPaT+VP+Hib) y 1 dosis DPT	Completo= 1 Incompleto/ignora dosis= 2 Sin Vacuna=3
Vacunación materna	Vacunación capullo (de la madre o tutor)	Si =2 No= 1
Lugar de residencia	Urbano o Rural	Urbano =1 Rural= 2

Municipio de residencia

Edad

Sexo

Etnia

Tiempo vivido desde el nacimiento en meses	numérico
Condición biológica de ser hombre o mujer	F= 1 M =2
Pertenencia a un pueblo indígena	Ambos padres tseltal= 1 Ambos padres tsotsil=2 Padre tseltal=3 Madre tseltal=4 Padre tsotil= 5 Madre tsotsil=6 No indígena=7

Anexo 2. Carta de aprobación del Comité de Ética e Investigación para la realización del proyecto “Análisis de la infección por *Bordetella pertussis* en menores de cinco años del Hospital de las Culturas de San Cristóbal de Las Casas”.



Villahermosa, Tabasco, 18 de agosto de 2019
Folio: CEI-005-2019

Jazmin Guadalupe Castañón Ortiz
Estudiante de la Maestría en Ciencias en
Recursos Naturales y Desarrollo Rural
ECOSUR San Cristóbal de las Casas
Presente

Posterior a la revisión por parte del Comité de Ética para la Investigación (CEI) de su protocolo de investigación con título “Análisis de la infección por *Bordetella pertussis* en menores de cinco años del Hospital de las Culturas de San Cristóbal de Las Casas, Chiapas” el Comité en pleno dictaminó lo siguiente:

SE APRUEBA

Se extiende la presente para los fines académicos que requiere la solicitante.

Atentamente

Dra. María Azahara Mesa
Presidente del CEI
El Colegio de la Frontera Sur



Ccp. Dr. Antonio Saldivar Moreno, Coordinador General del Posgrado,
Dr. Héctor Javier Sánchez Pérez, Director de tesis.

Archivo
EL COLEGIO DE LA FRONTERA SUR

UNIDAD SAN CRISTOBAL Carretera Panamericana y Palmar Sur en C.R. 28209 Bosch de Mado Acahualtun San Cristóbal de las Casas, Chiapas, Méx. Tel. (987) 676 1987 Fax. (987) 676 2322	UNIDAD TAPACHULA Car. Antigua-Acahualtun 2.ª P. C.R. 28700, A.P. 88 Tapachula, Chiapas, México Tel. (987) 503 11 33; 503 11 34 808 12 77 Fax. (987) 503 12 12	UNIDAD CHETUMAL Av. Gobernación, S.S. Chetumal, Q. Roo. C.P. 24314 A.P. 428 Tel. (982) 525940 Fax. (982) 525349	UNIDAD CAMPECHE Av. Venustiano Carranza S.4. De. Sur del Instituto Jama, Campeche, Campeche C.P. 24000 Tel. (981) 527 5120	UNIDAD VILLAHERMOSA Carretera Villahermosa Km. 11.5 P. de San Mateo Sur C.P. Villahermosa, Tabasco, México Tel. (991) 353 23 30 Fax. 3533
--	---	---	--	---

www.ecosur.mx

Anexo 3. Carta de aprobación de la Comisión de Bioética del Estado de Chiapas para la realización del proyecto “Análisis Epidemiológico y molecular de *Bordetella pertussis* en niños admitidos al Hospital de las Culturas de San Cristóbal de Las Casas”, del que este trabajo de tesis forma parte.



**SECRETARÍA DE SALUD
INSTITUTO DE SALUD
DIRECCIÓN DE ATENCIÓN MÉDICA
SUBDIRECCIÓN DE EDUCACIÓN Y ENSEÑANZA EN SALUD
DEPARTAMENTO DE ENLACE CIENTÍFICO Y ACADÉMICO**

Oficio Número 5003/098

Asunto: Evaluación Bioética de Proyecto de Investigación.

Tuxtla Gutiérrez, Chiapas a 16 de enero de 2019.

Dr. Anaximandro Gómez Velasco.
ECOSUR, Red GRAAL.
Presente.

Hemos recibido el proyecto “Análisis Epidemiológico y molecular de *Bordetella pertussis* en niños admitidos al Hospital de las Culturas de San Cristóbal de Las Casas Chiapas” con la finalidad de ser revisado desde el punto de vista bioético.

Es un proyecto importante dado la frecuencia de este padecimiento en infantes, le recomendamos obtener la Carta de Consentimiento Informado con los padres de los infantes que vaya a estudiar y le recomendamos también la confidencialidad de toda la información al respecto.

No habiendo más comentarios, se le otorga la **APROBACIÓN** al proyecto deseándole el mayor de los éxitos, con la recomendación de que cualquier incidente que se presente deberá de informarlo a esta oficina.

Atentamente.

Dr. Luis Ángel Terán Ortiz.
Secretario Técnico de la Comisión de Bioética
Del Estado de Chiapas.

Ccp. MenC. María de Lourdes Martínez Arellano. Subdirectora de Educación y Enseñanza en Salud.
Ccp. Minutario.

Anexo 4. Carta de aprobación del Comité de Ética e Investigación para la realización del proyecto “Análisis Epidemiológico y molecular de *Bordetella pertussis* en niños admitidos al Hospital de las Culturas de San Cristóbal de Las Casas”, del que este trabajo de tesis forma parte.



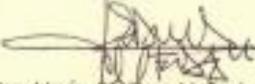
Villahermosa, Tabasco, 19 de febrero de 2018
Folio: CEI-001-2019

Dr. Héctor Javier Sánchez Pérez
Grupo Salud
Departamento de Salud
ECOSUR San Cristóbal de las Casas
Presente

El Comité de Ética para la Investigación avala que el proyecto de investigación “Análisis epidemiológico y molecular de *Bordetella pertussis* en niños admitidos al Hospital de las culturas de San Cristóbal de Las Casas, Chiapas” para el período enero 2018 – diciembre 2019, cumple con los aspectos éticos correspondientes al desarrollo de la investigación según los requisitos establecidos por este Comité y la normativa vigente aplicable.

• Se extiende la presente para los fines académicos que requiere el solicitante.

Atentamente



Dra. María Azahara Mesa Jurado
Presidente del CEI
El Colegio de la Frontera Sur



EL COLEGIO DE LA FRONTERA SUR

<p>UNIDAD SAN CRISTÓBAL Carretera Panamericana y Paralela Sur s/n C.P. 25000 San Cristóbal de las Casas, Chiapas, México Tel. (987) 678 1403 Fax: (987) 678 2302</p>	<p>UNIDAD TAPACHULA Carretera Antigua-Ayacuahuá s/n 23 C.P. 91700, A.P. 30 Tapachula, Chiapas, México Tel. (985) 502 11 52, 502 11 04 502 15 17 Fax: (985) 502 11 19</p>	<p>UNIDAD CHIETUMAL Av. Cominternación, 117 Chetumal, Quintana Roo C.P. 24014 A.P. 204 Tel. (987) 666666 Fax: (987) 666 66 50</p>	<p>UNIDAD CAMPECHE Dr. Ricardo Chávez S.S. 139, Ciudad Universitaria Centro Universitario Campeche C.A. 24000 Tel. (981) 127 21 00</p>	<p>UNIDAD VILLAHERMOSA Carretera a Villahermosa Km 10.9 con Rectoría y Químico 2da. Sección, C.P. 91000 Villahermosa, Tabasco, México Tel. (921) 212 21 30 Fax: 2000</p>
---	---	--	---	---

WWW.ECOSUR.TX

Anexo 5. Carta de Consentimiento Previo Informado para el padre o tutor de los niños menores de 5 años

La carta deberá ser leída y/o explicada al padre y/o tutor del niño (a).

A continuación, como parte del estudio que estamos haciendo, le queremos pedir su permiso para hacerle algunas preguntas sobre el estado de salud de su hijo (a) o tutelado (a). Así mismo, le explicaremos porque estamos realizando este estudio y de la importancia de tomar muestras para diagnosticar correctamente la enfermedad.

Información.

La tosferina (en Tsotsil: Jiq'uiç'ul obol; Tselal: Jik' oval) es una enfermedad infecciosa, causada por la bacteria *Bordetella pertussis*. Pero también existen otras bacterias que pueden producir una enfermedad similar llamada síndrome de coqueluchoide. La enfermedad producida por *B. pertussis* es la más grave y produce las mayores tasas de incidencia y mortalidad en niños menores de cinco años.

En estudios recientes que se han hecho México y en otras partes del mundo, se ha observado un aumento en el número de casos de la enfermedad. En la región de los Altos de Chiapas desconocemos cuantos casos hay. La re-emergencia de la enfermedad se ha asociado a las diferentes formas de la bacteria. El que haya otra vez muchos más casos de esta enfermedad se ha asociado a las diferentes formas de la bacteria.

Para poder analizar cuánto sigue creciendo la enfermedad y qué se puede hacer para que ya no haya más casos, es necesario estudiar a la bacteria que la provoca. Para esto hay que analizar algunas secreciones de la nariz y también muestras sanguíneas en niños que son hospitalizados para ver si tienen o no tosferina.

Es por esta razón que le estamos solicitando su permiso para que a su hijo/a (niño/a bajo su tutela): _____

1. Le podamos tomar una muestra de un poco de tejido de dentro de su nariz (se le conoce como "exudado nasofaríngeo", que consiste en introducir un hisopo de rayón para obtener muestra);
2. Una pequeña muestra de sangre (biometría hemática). La toma de muestras de sangre se llevará a cabo en este hospital por el personal de salud de esta institución, coincidiendo con otras revisiones clínicas, de forma similar a otros análisis que hayan hecho a su hijo (a) o tutelado (a).

También le pedimos a Usted si por favor nos puede dar algunos datos personales y sociodemográficos de su hijo/a y de su familia, así como datos de la enfermedad de su hijo/a, con lo que tendremos completo su expediente.

Las muestras de su hijo/a, tanto de su nariz, como de su sangre, serán guardadas y, en caso de que usted nos de su permiso, serán utilizadas en el proyecto de tesis "Estudio clínico-epidemiológico de la infección por *Bordetella pertussis* en niños menores de cinco años admitidos al Hospital de Las Culturas de San Cristóbal de Las Casas" que servirá para saber cuántos casos hay y la manera en que se está presentando la enfermedad. Este proyecto es parte de un proyecto más grande "Análisis epidemiológico y molecular de *Bordetella pertussis* en niños admitidos al hospital de las culturas de San Cristóbal de Las Casas, Chiapas" complementándose con la presente investigación para buscar las distintas formas de la bacteria que causa la enfermedad) el cual ha sido previamente aprobado por los Comités de Ética de Investigación de las siguientes instituciones: Secretaría de Salud del Estado de Chiapas, Universidad Autónoma de Nuevo León, y El Colegio de la Frontera Sur (ECOSUR).

Si decide dar su consentimiento, a su hijo (a) o tutelado (a) se le extraerá sangre y secreciones respiratorias para su almacenamiento y posterior análisis.

La toma de muestras de secreciones respiratorias se llevará a cabo en este hospital y para ello se aspiran las secreciones respiratorias del menor, previo lavado nasal con suero salino fisiológico. Esta práctica puede ocasionar un atragantamiento leve y/o un ligero sangrado nasal.

Por otra parte, y con relación a la información de su hijo/a o tutelado/a _____, si usted está de acuerdo con su participación, los datos y toda información (personal, clínica y de laboratorio), conjuntamente con el resto de las personas participantes en el estudio, serán manejados de manera absolutamente confidencial, utilizada y analizada ya sin el nombre de su hijo/a o tutelado/a, codificados, ello con el fin de garantizar la confidencialidad y privacidad de toda la información de su hijo/a o tutelado/a. De esta manera, con excepción de los coordinadores del estudio, nadie del equipo de investigación conocerá la identidad o dato alguno que pudiera identificar a su hijo/a o tutelado/a. Sin embargo, si podrán acceder a otros datos como su sexo o edad, pero siempre manteniendo la debida confidencialidad conforme a la legislación vigente. Los datos recopilados se tratarán de acuerdo al Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud (2014), NORMA Oficial Mexicana NOM-012-SSA3-2012, la cual establece los criterios para la ejecución de proyectos de investigación para la salud en seres humanos (2014), así como lo establecido en la Declaración de Helsinki (2013).

Si usted decide que su hijo/a participe en el estudio, estará contribuyendo a que se pueda hacer investigación para ver cómo se puede hacer para que los niños ya no se enfermen ni mueran por tosferina. El que Usted decida que participe o no, no va a afectar para nada la atención médica que se le brinda en el hospital, esto no va a influir ni en recibir más o menos atención. Tampoco Usted o su hijo o tutelado obtendrán ningún beneficio económico. Los conocimientos obtenidos gracias a los estudios llevados a cabo a partir de las muestras de sangre y secreciones como la que le estamos pidiendo de su hijo/a o tutelado/a y de las de muchas otras personas participantes en este estudio, serán muy importantes para tratar de encontrar la forma de prevenir y curar la tosferina.

Su participación es voluntaria y usted es libre de autorizar o no, en este momento o en un futuro próximo, que tanto la información que nos dé, como las muestras de su hijo/a o tutelado/a se utilicen o no en el estudio que estamos haciendo sobre tosferina aquí en el Hospital de las Culturas. Para que Usted solicite que la información y los resultados de laboratorio de su hijo/a o tutelado/a no sea utilizada, solo basta con que usted lo pida y ya no se utilizarán. El que así lo pida, tampoco va a afectar para nada la atención actual, ni futura que se le brinde a su hijo/a o tutelado/a aquí en el hospital.

Para solicitar que ya no se utilicen las muestras y la destrucción de las mismas, así como si desea que ya no se utilicen los datos de su hijo (tanto personales, como clínicos y de laboratorio) puede comunicarse con cualquiera de los encargados del proyecto citados al final. En este caso, se procedería a la destrucción de las muestras y a la exclusión de la información clínica de su hijo o tutelado. Sin embargo, esta destrucción no se hará extensible a los datos que ya se hayan analizado previamente con las muestras de su hijo (a) o tutelado (a) o con su información clínica.

Esta Hoja de Información y Consentimiento Informado se expedirá en dos ejemplares firmados: uno para usted, y otro para la investigación.

En caso de quedarle alguna duda sobre este estudio, por favor hágamelo saber para resolverlas. También puede acudir con los coordinadores del proyecto, ya sea en este momento, o cuando usted así lo considere pertinente.

Lista de contactos:

Titular de este proyecto “Estudio clínico- epidemiológico de la infección por *Bordetella pertussis* en niños menores de cinco años admitidos al Hospital de Las Culturas de San Cristóbal de Las Casas”: Q.F.B Jazmin Guadalupe Castañon Ortiz (Teléfono: 961 109 18 81; Correo electrónico: jazmin.castanon@estudianteposgrado.ecosur.mx), estudiante de la Maestría en Ciencias en Recursos Naturales y Desarrollo Rural

Director de tesis: Dr. Héctor Javier Sánchez Pérez (Teléfono 967 125 91 56; Correo electrónico: hectorjaviersanchez@hotmail.com)

Asesores: Dra. Alíed Bencomo Alerm (Teléfono: 967 106 19 49) Dr. Anaximandro Gómez Velasco (Teléfono: 967 130 36 37; Correo electrónico: agv23@yahoo.com), y Dr. Jorge Leonel León Cortes.

Pediatra del Hospital de Las Culturas que forma parte del proyecto “Análisis epidemiológico y molecular de *Bordetella pertussis* en niños admitidos al hospital de las culturas de San Cristóbal de Las Casas, Chiapas”: Dra. Mercedes Flores López (Teléfono: 967 138 0899; Correo electrónico: mercedes.flores@gmail.com).

Certificado de consentimiento informado.

Por medio de la presente hago constar que mi hijo/a o tutelado/a:

_____ ha sido invitado/a a participar en este estudio para saber su estado de salud respecto a la tosferina (en Tsotsil: Jiq’uic’ul obol; Tseltal: Jik’ oval).

A mi hijo/a o tutelado/a se le tomarán muestras de sangre necesarias para diagnosticar su estado de salud y muestra de la nariz para aislar la bacteria causante de la tosferina.

Estoy consciente de que si mi hijo/a o tutelado/a: _____ participa en el estudio, no tendrá compensación económica alguna y que, en caso de tener tosferina, la Secretaría de Salud del Estado de Chiapas, a través del personal de salud del Hospital de Las Culturas, le proporcionará gratuitamente el tratamiento correspondiente. También quedo en el entendido de que toda la información relativa a mi hijo/a o tutelado/a, tanto la que di verbalmente, como la que se obtenga en las pruebas de laboratorio y durante su atención médica, será manejada de manera estrictamente confidencial y solo para los fines del estudio.

Me han proporcionado el nombre de los investigadores a cargo del proyecto: Q.F.B. Jazmin Guadalupe Castañon Ortiz (teléfono: 961 109 18 81; Correo electrónico: jazmin.castanon@estudianteposgrado.ecosur.mx), Dr. Anaximandro Gómez Velasco (Teléfono: 967 130 36 37; Correo electrónico: agv23@yahoo.com); Dr. Héctor Javier Sánchez Pérez (Teléfono: 967 125 91 56; Correo electrónico: hectorjaviersanchez@hotmail.com) y Dra. Mercedes Flores López (teléfono: 967 138 0899; Correo electrónico: mercedes.flores@gmail.com), y a quienes podré contactar en caso de dudas o de información adicional que necesite con respecto a este estudio.

He leído –o me fue leída- la información que me fue proporcionada acerca del estudio. Tuve la oportunidad de realizar preguntas acerca del mismo, y estas fueron respondidas satisfactoriamente. De esta manera doy mi consentimiento para que mi hijo/a o tutelado/a pueda para participar en este estudio y entiendo que tengo el derecho a solicitar en cualquier momento,

que él/ella ya no participe más en el estudio, ni que tampoco sus datos (personales, clínicos y de laboratorio) sigan siendo utilizados, sin que ello afecte su derecho a recibir atención médica por parte de la Secretaría de Salud del Estado de Chiapas.

Nombre y firma o huella dactilar del participante _____

Fecha _____ Día/ Mes/ Año

Para Testigos (en caso de que el/la participante no sepa leer y escribir):

He sido testigo de que, a la persona participante, padre/madre/tutor/a del niño (a):

se le ha leído en su totalidad el documento de consentimiento informado y que la persona ha tenido la oportunidad de hacer preguntas y, en su caso, éstas fueron contestadas satisfactoriamente, por lo que confirmo que la persona ha dado su consentimiento a participar libremente en el estudio.

Nombre y firma del testigo _____

Fecha _____ (día/mes/año)

He leído en su totalidad el documento de consentimiento informado al padre/madre/tutor/a del niño (a): _____, quien tuvo la oportunidad de hacer preguntas y, en su caso, éstas fueron contestadas satisfactoriamente, por lo que confirmo que el padre o tutor ha dado el consentimiento para que su hijo (a) o tutelado participe en el estudio.

Nombre y firma del Investigador: _____

Fecha: _____ (día/mes/año)