

CONTRIBUCIONES ORIGINALES

ETIOLOGIA DEL SINDROME COQUELUCHOIDE ESTUDIO DE 50 CASOS

FRANCISCO RODRÍGUEZ,* ROLANDO ZAPATA,*
FERNANDO GARCÍA-TAMAYO * y JESÚS KUMATE † *

Se estudiaron 50 niños con síndrome coqueluchoide y hallazgos hematológicos de leucocitosis con linfocitosis, sin antecedente de vacunación con DPT, a quienes se les efectuó investigación de aglutininas y precipitinas séricas anti-pertussis, así como cultivo e inmunofluorescencia del exudado faríngeo por el método directo. Además, se tomaron dos grupos testigo formados por niños con edades comparables a las del grupo en estudio, aparentemente sanos, 15 sin vacunación y 26 con vacunación con DPT, en quienes se realizaron las dos primeras pruebas mencionadas.

De acuerdo al análisis estadístico de los resultados, podemos concluir que el diagnóstico clínico de tos ferina se puede ratificar si se cuenta con las técnicas de laboratorio adecuadas. Si bien las cuatro técnicas mencionadas son útiles para tal fin, la prueba de aglutinación de Kendrick,

* Laboratorio de Inmunoquímica y Departamento de Infectología.
Hospital Infantil de México.

† Académico numerario.

por su mayor sensibilidad, fácil realización y lectura, y menor costo, es la prueba recomendada en la práctica para el diagnóstico etiológico del síndrome coqueluchoide.

El diagnóstico de tos ferina es difícil de establecer con certeza basándose únicamente en el cuadro clínico, o en los datos epidemiológicos y los hallazgos hematológicos de leucocitosis con linfocitosis. Las técnicas de laboratorio utilizadas para este fin, como el aislamiento e identificación de *Bordetella pertussis* mediante cultivo o inmunofluorescencia del exudado faríngeo¹ obtenido durante la fase paroxística de la enfermedad, así como la investigación de aglutininas² y precipitinas del suero de los pacientes, a menudo son muy laboriosas y no siempre están a la mano de cualquier laboratorio de microbiología.³

Por otro lado, existen informes en que se relaciona a un grupo de virus, especialmente a los adenovirus, como agentes etiológicos del síndrome coqueluchoide. Olson⁴ en 1964, y Colliere⁵ en 1966, aislaron los adenovirus tipos 12 y 15 respectivamente en el exudado faríngeo de niños con síndrome coqueluchoide y leucocitosis. Pereira y Candeias,⁶ en 37 de 136 niños con síndrome coqueluchoide, aislaron varias cepas virales, principalmente adenovirus. Además, Connor⁷ encontró que 11 de 13 niños con síndrome coqueluchoide excretaban adenovirus tipos 1, 2, 3 ó 5, a través de vías respiratorias, intestinal y genitourinaria; siete de estos pacientes tenían evidencia serológica de infección reciente y todos tenían cultivo y aglutininas antipertussis negativos.

En México, Gutiérrez y col.⁸ encontraron que 19 de 70 niños con síndrome coqueluchoide y leucocitosis tenían evidencia serológica de infección por adeno-

virus. En ninguno de ellos pudo cultivarse *Bordetella pertussis*.

Finalmente, es de importancia recordar que diversos procesos patológicos como la traqueobronquitis, la bronquitis alérgica, la bronquiolitis, la neumonía intersticial, la enfermedad fibroquística, las adenopatías paratraqueales, algunas cardiopatías y los cuerpos extraños en vías respiratorias, pueden producir el síndrome coqueluchoide, algunas veces con leucocitosis y linfocitosis.

Todo ello recalca la necesidad de establecer con certeza la etiología del síndrome coqueluchoide, por la gran importancia que existe desde el punto de vista epidemiológico y de salud pública. En efecto, a pesar del notable descenso logrado en cuanto a mortalidad y letalidad en los últimos 30 años, gracias a las campañas de vacunación, la tos ferina continúa siendo una enfermedad de primera magnitud, principalmente durante el primer año de la vida.⁹

El objeto de este trabajo es determinar la variedad de causas del síndrome coqueluchoide y así contribuir al mejor conocimiento de su etiología y epidemiología.

Material y métodos

El material estuvo constituido por 50 niños provenientes de la Consulta Externa de Infectología, del Departamento de Urgencias y del Servicio de Contagiosos II del Hospital Infantil de México, y algunos parientes de los anteriores. El periodo de estudio abarcó de octubre de

1973 a enero de 1974. Todos los casos pertenecían a la clase socioeconómica baja, y en todos ellos existía la sintomatología clásica de síndrome coqueluchoide, así como hallazgos hematológicos de leucitosis y linfocitosis y no tenían antecedentes de vacunación con DPT. Las edades variaron de 26 días a 15 años. Veintidós casos correspondieron al sexo masculino y 28 al femenino.

En todos los pacientes se efectuó cultivo e inmunofluorescencia del exudado faríngeo, por el método directo, y determinación de aglutininas y de precipitinas séricas. Estas dos últimas pruebas se realizaron en 44 pacientes durante los periodos agudo y de convalecencia de la enfermedad. Se integraron dos grupos testigo con edades comparables a las del grupo en estudio; el primero estuvo formado por 26 niños aparentemente sanos, no vacunados y el segundo, por 15 niños aparentemente sanos con vacunación previa con DPT. En ellos se efectuó determinación de aglutininas y precipitinas séricas.

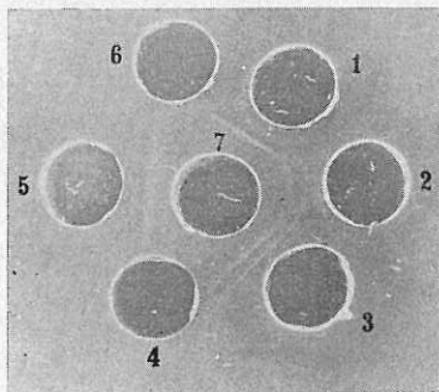
El exudado faríngeo se obtuvo durante una crisis de tos, por medio de un hisopo estéril que de inmediato fue colocado dentro de un tubo que contenía 1 ml. de casaminoácidos al 1 por ciento (Difco) y sembrado en medio de carbón-agar (Difco) adicionado de sangre fresca de caballo y penicilina, en cajas de Petri que fueron incubadas a 35°C por un periodo mínimo de cinco días.

La investigación de anticuerpos contra *Bordetella pertussis* se efectuó mediante el método de Ouchterlony, de inmunodifusión en agar, preconizado por Aftandeliens y Connor,¹⁰ utilizando agarosa al 1 por ciento (Sigma), en amortiguador de borato salino 0.1M, pH 8.0. El antígeno soluble fue preparado por sonica-

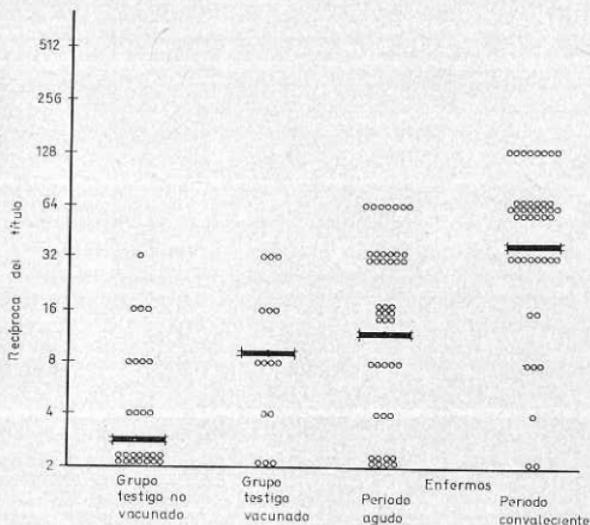
ción de una suspensión concentrada total de *Bordetella pertussis* en fase I, cepa No. 10536, donada por el Instituto de Higiene de la ciudad de México.^{11, 12}

La inmunodifusión se efectuó en un sistema en el cual se practicó un agujero central que contenía el antígeno soluble y seis agujeros periféricos que contenían muestras del suero problema, así como testigos negativos y globulina gamma humana hiperinmune antipertussis comercial (Cutter Labs.). Las laminillas se incubaron en cámara húmeda a temperatura ambiente y la lectura se efectuó en un periodo mínimo de 24 horas y máximo de 15 días. Las bandas de precipitación aparecieron en 1 a 2 días, teniendo su máximo de intensidad a los 5 días. Todos los estudios se realizaron con el mismo lote de antígeno soluble (fig. 1).

La técnica de inmunofluorescencia se efectuó a partir de la muestra de exudado faríngeo que se había colocado en el



1 Prueba de inmunodifusión en agar. 1. Suero de un paciente durante la etapa aguda de la enfermedad. 2 y 5. Suero del mismo paciente durante la etapa de convalecencia. 3. IgG humana hiperinmune antipertussis comercial. 4 y 6. Testigos negativos. 7. Antígeno soluble de *Bordetella pertussis*.



$p < 0.001$

2 Etiología del síndrome coqueluchoide. Títulos de aglutinación contra *Bordetella pertussis*.

medio de casaminoácidos. Este tubo se centrifugó a 2 000 r.p.m. durante 15 minutos. Posteriormente, se tomó una asada del sedimento, se efectuó un frotis y luego se siguió la técnica de Whitaker y col.,¹³ utilizando anticuerpos específicos contra *Bordetella pertussis* marcados con fluoresceína comercial (Difco).

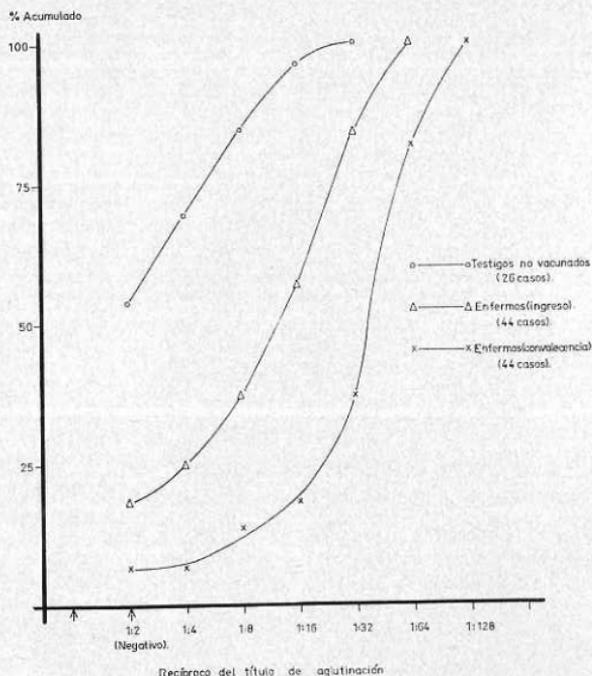
La comparación de las medias geométricas del recíproco de los títulos de aglutinación entre los cuatro grupos de la figura 1 se realizó mediante el análisis de varianza, según Batson.¹⁴ La evidencia de inmunofluorescencia, según hubiera antecedentes de tratamiento antibiótico o no, fue analizada según la prueba de χ^2 corregida por Yates.¹⁵

Resultados

Cultivo. El cultivo de los 50 pacientes fue negativo.

Agglutinación de Kendrick. A los 50 pacientes se les efectuó prueba de aglutinación durante la fase aguda de la enfermedad y a 44 de ellos se les realizó por segunda ocasión durante el periodo convaleciente de la enfermedad. En la figura 2 se pueden observar los títulos de aglutinación de los grupos testigo, vacunados y no vacunados, comparados con los del grupo en estudio, durante la fase aguda y convaleciente de la enfermedad. Obviamente, existe diferencia estadística entre el primer y el tercer grupo, y más aún entre este último y el cuarto lo que se hace evidente por los valores de las medias geométricas de 3, 13 y 38, respectivamente. La comparación estadística mediante la prueba de "t" dio un valor de $p < 0.001$.

En la figura 3 se comparan los tres grupos referidos, observándose un incremento del número de pacientes con títulos



de aglutinación a 1:16, siendo preponderante el título de 1:64 para el tercer grupo.

Precipitación en agar. De los 50 pacientes estudiados, 34 fueron positivos, habiéndose encontrado una o más bandas, y 16 fueron negativos. Doce de los positivos habían resultado negativos a su ingreso. De los pacientes del grupo testigo no vacunado, solamente uno fue positivo y, en los pacientes del grupo testigo vacunado, cuatro fueron positivos.

Inmunofluorescencia. A 45 de los 50 pacientes estudiados se les efectuó inmunofluorescencia a su ingreso. En el cuadro 1 se muestran los resultados obtenidos en dos grupos, el primero constituido por 30 pacientes sin antecedente de trata-

miento previo con antibióticos, 24 de los cuales fueron positivos y 6 negativos; y el segundo por 15 casos con tratamiento previo con antibióticos, 4 de los cuales

Cuadro 1 Etiología del síndrome coqueluchoide

Grupo estudiado	Número de pacientes	Inmunofluorescencia	
		Positivos	Negativos
Sin tratamiento antibiótico previo	30	24 (80%)	6 (20%)
Con tratamiento antibiótico previo	15	4 (27%)	11 (73%)
Total	45	28 (62%)	17 (38%)

$$X^2 = 9.89 \quad p < 0.001 \quad gl = 1$$

Cuadro 2 Etiología del síndrome coqueluchoide

Prueba	Ingreso	Convalecencia	Total
Precipitación en gel	22/50* (44%)	34/50 (68%)	34/50 (68%)
Aglutinación (\geq 1:16)	28/44 (64%)	38/44 (86%)	41/44 (86%)
Inmunofluorescencia	28/45 (62%)	—	28/45 (62%)

* Relación casos positivos/número de pacientes estudiados.

fueron positivos y 11 negativos, lo que da un total de 28 positivos (62 por ciento) y 17 negativos (38 por ciento), que hace manifiesta la importancia de tomar la muestra del exudado faríngeo de preferencia antes de iniciar terapéutica alguna.

En el cuadro 2 se comparan los resultados de las pruebas de precipitación en agar, aglutinación e inmunofluorescencia durante el periodo agudo y convaleciente de la enfermedad, observándose una positividad total de 68, 86, y 62 por ciento,

Cuadro 3 Etiología del síndrome coqueluchoide

Pruebas realizadas al ingreso	
Aglutinación \geq 1:16	12/45*
Precipitación	
Inmunofluorescencia	(27%)
Aglutinación \geq 1:16	16/45
Precipitación	(35%)
Aglutinación \geq 1:16	20/45
Inmunofluorescencia	(44%)

* Relación casos positivos/número de pacientes estudiados.

respectivamente. Finalmente, en el cuadro 3 se comparan las pruebas realizadas al ingreso en forma conjunta: la prueba de aglutinación con títulos de 1:16, la técnica de precipitación en agar y la inmunofluorescencia fueron positivas en 12 de 45 pacientes (26 por ciento). Comparando aglutinación y precipitación, 16 de 45 fueron positivos (35 por ciento) y, finalmente, aglutinación e inmunofluorescencia, 20 de 45 fueron positivos (44 por ciento).

Conclusiones

El diagnóstico clínico, epidemiológico y hematológico de tos ferina se puede ratificar si se cuenta con técnicas de laboratorio adecuadas. Ya se ha mencionado la importancia epidemiológica y de salud pública de llegar a un diagnóstico etiológico adecuado, para poder de esa manera combatir en forma eficiente la propagación de esta enfermedad, principalmente durante el primer año de la vida y en poblaciones de situación socioeconómica baja, mediante medidas profilácticas de salud pública y campañas de vacunación.

Si bien la prueba de aglutinación cuando se efectúa durante la etapa aguda y convaleciente de la enfermedad, da el porcentaje más elevado de positividad, las técnicas de precipitación en agar e inmunofluorescencia son muy sensibles y aunadas a la primera disminuyen las posibilidades de error, siempre y cuando se cuente con los medios y el personal capacitado para efectuarlas. Cuando no se pueda contar en forma conjunta con las tres, la aglutinación y precipitación o inmunofluorescencia dan porcentajes de positividad semejantes.

Los resultados del análisis de variancia señalan que hay diferencias estadísticamente significativas en las medias geométricas del recíproco de los títulos de aglutinación entre el grupo de niños con síndrome coqueluchoide durante la convalecencia y el mismo grupo en el momento del ingreso, así como con los grupos testigos.

Los títulos de aglutinación encontrados al ingreso en los niños enfermos fueron significativamente diferentes de los obtenidos en los testigos normales y de los testigos que recibieron vacuna DPT cuando se aplicó el criterio de la prueba para "una cola".¹⁶

La aplicación de vacuna DPT hizo diferentes a los dos grupos de testigos cuando se comparó su actividad aglutinante.

La información que proporciona la prueba de aglutinación concuerda con las diferentes experiencias inmunológicas de los cuatro grupos analizados y como su sensibilidad es mayor que la encontrada en las otras pruebas serológicas, además de su menor complejidad técnica, es por ahora la técnica recomendada en la práctica para el diagnóstico etiológico del síndrome coqueluchoide.

REFERENCIAS

- Whitaker, J.; Donaldson, P. y Nelson, J.: *Diagnosis of pertussis by the fluorescent antibody method*. New Engl. J. Med. 263: 850, 1960.
- Gutiérrez, G.; Kumate, J. y Mendía, A. M.: *Encuesta inmunológica en la población infantil de México, D. F. II. Investigación de anticuerpos contra Haemophilus pertussis*. Bol. Méd. Hosp. Infant. (Méx.). 22:833, 1965.
- Holwerda, J.: *Symposium on pertussis immunization in honor of Dr. Pearl Kendrick in her eightieth year: Current diagnostic procedures in whooping cough*. Health Lab. Sci. 8:206, 1971.
- Olson, L. C.; Miller, G. y Hanshan, J. B.: *Acute infectious lymphocytosis presenting as a pertussis-like illness: its association with adenovirus type 12*. Lancet 1:200, 1964.
- Collier, A. M.; Connor, J. D. e Irving, W. R.: *Generalized type 5 adenovirus infection associated with the pertussis syndrome*. J. Pediat. 69:1073, 1966.
- Pereira, M. S. y Cadeias, J. A. N.: *The association of viruses with clinical pertussis*. J. Hyg. (Camb.) 69:399, 1971.
- Connor, J. D.: *Evidence for an etiological role of adenovirus viral infection associated with the pertussis syndrome*. J. Pediat. 69: 1073, 1966.
- Sánchez, R.; Ruiz, G. y Gutiérrez, G.: *Evidencia serológica de infecciones por adenovirus en casos con síndrome coqueluchoide*. Jornada Pediátrica, 1968, Hospital de Pediatría, Centro Médico Nacional. México, IMSS, p. 263.
- Instituto Mexicano del Seguro Social, Subdirección General Médica, Departamento de Medicina Preventiva: *Nuevos datos bioestadísticos y demográficos de la República Mexicana*. México, 1969, p. 10.
- Aftandeliants, R. y Connor, J. D.: *Immunologic studies of pertussis*. J. Pediat. 83:206, 1973.
- Flosdorf, E. W.; Kinball, A. y Chambers, L.: *Studies on H. pertussis. I. Liberation by sonic vibration of a soluble component that absorbs phase I agglutinins*. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 41:122, 1939.
- Shuchardt, L. F.; Muñoz, J.; Verwey, W. F. y Sagin, J. F.: *The relationship of agglutino-gen to other antigens of Bordetella pertussis*. J. Immunol. 91:107, 1963.
- Donaldson, P. y Whitaker, J. A.: *Diagnosis of pertussis by fluorescent antibody staining of nasopharyngeal smears*. J. Dis. Child. 99:423, 1960.
- Batson, H. C.: *Analysis of variance. An introduction to statistics in the medical sciences*. Minneapolis, Burgess Publ. Co. 1958, p. 22.
- Croxtton, F. E.: *Elementary statistics, with applications in medicine and the biological sciences*. Nueva York, Dover Publ. Inc. 1953, p. 267.
- Siegel, S.: *Estadística no paramétrica, aplicada a las ciencias de la conducta*. México, Ed. Trillas, 1972, p. 308.

CONTAMINACION AMBIENTAL EN 1888

Para dar cumplimiento a una prescripción reglamentaria de esta H. Academia, me ocuparé en mi turno de lectura de un asunto que interesa tanto a la higiene pública como a la privada: los peligros del uso de papeles tapiz o de adorno y de algunas telas cuando están coloridas con substancias arsenicales.

Ultimamente se ha observado que no sólo el color verde produce conjuntivitis, catarro crónico del estómago, eczema, anemia y otros síntomas; también el color blanco, el rojo, el azul, el gris, sobre todo cuando son brillantes, pueden ocasionar esos accidentes.

Así la coralina, substancia empleada para dar el color rojo, ha producido la intoxicación por el arsenito de alúmina con que se fija a los objetos pintados. El amarillo de tul, compuesto de cinco parte de ácido félico y tres partes de arsénico seco es igualmente tóxico.

Las anilinas cuando son puras son inofensivas pero comunmente se emplea para fijarlas arsenito de sosa, que las hace más vivas y brillantes, por lo que debe desconfiarse de ellas.

Parece a primera vista una minuciosidad suponer casos de envenenamiento con cantidades tan pequeñas de arsénico; pero si se atiende a la acumulación que, por el uso constante, se verifica en la economía no puede dejar de admitirse como causa de intoxicación. Y quiero llamar la atención a los miembros de la Academia de Medicina de México para que recomienden las medidas profilácticas necesarias al Consejo Superior de Salubridad. A. Reyes, GACETA MÉDICA DE MÉXICO, vol. 23:321, 1988.