



Coqueluche grave: Estado del arte

Alejandro Donoso, Daniela Arriagada, Pablo Cruces y Franco Díaz

Hospital Padre Hurtado,
Santiago, Chile.

Unidad de Gestión Clínica de Niño
Área de Cuidados Críticos
(AD, PC, FD).

Facultad de Medicina Clínica
Alemana-Universidad del
Desarrollo, Santiago, Chile.
Programa de Medicina Intensiva en
Pediatria (AD, DA).

Sin financiamiento externo.
Sin conflictos de interés.

Recibido: 12 de enero de 2012
Aceptado: 2 de abril de 2012

Correspondencia a:
Alejandro Donoso Fuentes
adonoso@hurtadohosp.cl

Severe pertussis: State of the art

Pertussis is a contagious disease that has reappeared in the recent years as a public health problem in our country. The clinical presentation has changed especially in the main risk group, children under one year old, evolving in occasions to a highly lethal course called malignant or severe Pertussis. The present review discusses the epidemiology and the mechanisms of pathogenicity, and also describes the risk factors, clinical features and pathophysiology of this particular form. The current evidence and effectiveness of new treatments are described, and a treatment algorithm is proposed.

Key words: Pertussis, *Bordetella pertussis*, leukocytosis, pulmonary hypertension, treatment.

Palabras claves: Coqueluche, *Bordetella pertussis*, leucocitosis, hipertensión pulmonar, tratamiento.

Introducción

La coqueluche (tos ferina) es una enfermedad infecciosa, altamente contagiosa, cuyo agente etiológico es *Bordetella pertussis*, un cocobacilo gramnegativo de reservorio humano exclusivo, de transmisión respiratoria¹.

En Chile la infección por *B. pertussis* es un problema de salud pública, siendo una enfermedad de notificación obligatoria, definida por el Ministerio de Salud (MINSAL) como “cuadro, habitualmente de comienzo insidioso, con síntomas similares a un resfriado y caracterizado por coriza, tos leve no productiva y fiebre moderada, que dura 1 a 2 semanas, para luego presentar tos severa caracterizada por paroxismos (accesos repetidos y tos violenta) los que pueden ser seguidos de estridor inspiratorio y en ocasiones, de vómito. El cuadro clínico se manifiesta con mayor gravedad en los lactantes y en particular bajo 3 a 6 meses de edad, en quienes la infección cursa frecuentemente con apneas repetidas”².

En la mayoría de los países, la vigilancia de la coqueluche se basa en notificaciones clínicas e informes de laboratorio. Desde la década pasada se ha observado un aumento significativo de los casos, incluso en países desarrollados con buenas coberturas de vacunación³. No obstante, comparar la incidencia de esta enfermedad entre los distintos países es difícil, ya que depende de las diferencias entre la definición de caso, acceso a pruebas diagnósticas, experiencia médica para identificar su cuadro clínico y si la enfermedad es de declaración obligatoria según la normativa de salud pública de cada país.

En ocasiones su forma de presentación varía, especialmente en pacientes bajo seis meses de edad o sin una inmunización completa⁴⁻⁸. En estos pacientes se puede desarrollar una *coqueluche grave* (CG), definida como falla respiratoria, hipoxemia refractaria e hipertensión

pulmonar (HTP), la cual presenta una elevada tasa de morbi-mortalidad asociada.

El objetivo de la presente comunicación es una revisión del estado del arte en coqueluche grave.

Epidemiología mundial

En la era prevacunación, la coqueluche era considerada una enfermedad endémica con picos epidémicos cada 2 a 5 años, siendo una enfermedad obligada de la infancia y esporádica en adultos y senescentes⁹. La introducción de la vacuna DPT en la década del cuarenta fue efectiva y, para los años setenta la tasa de reporte de la infección disminuyó cerca de 150 veces y se mantuvo entre 0,5-1 caso por 100.000 habitantes¹⁰. Sin embargo, en los últimos veinte años hubo un desplazamiento en la edad de los casos susceptibles, reportándose un aumento en adolescentes y adultos jóvenes, siendo este el factor más importante para el resurgimiento de la coqueluche y a su vez el que contribuye significativamente al incremento de casos en lactantes bajo un año de edad^{7,11-15}.

Según datos de la Organización Mundial de la Salud (OMS), la enfermedad producida por *B. pertussis* ocupa el quinto puesto entre las causas de muerte prevenibles por vacuna¹⁶. A pesar de la amplia inmunización se estima que cada año se presentan entre 20 y 50 millones de casos en el mundo con aproximadamente 200.000 a 400.000 muertes anuales, de las cuales 90% ocurre en países en desarrollo, la mayoría en lactantes no vacunados o con vacunación incompleta^{4,10,17}.

Informes de los Centros para el Control y Prevención de Enfermedades de Atlanta (*Centers for Disease Control and Prevention, CDC*), en Estados Unidos de América (E.U.A.) señalan que se registró el triple de casos en el año 2005 con respecto al año 2001¹⁸, hecho que se ha



evidenciado también en otras partes del mundo. En Latinoamérica, hay escasas publicaciones sobre este problema de salud pública, a pesar que contribuye aproximadamente al 90% de las hospitalizaciones, complicaciones y muertes atribuidas a esta enfermedad en el mundo en desarrollo¹⁹. Según estimaciones de la OMS, la región de las Américas fue responsable de aproximadamente 7% de los casos de coqueluche en el mundo durante el año 2005²⁰. Excluyendo Canadá y E.U.A., un total de 6.936 casos fueron notificados en el año 2006, cuya distribución en orden decreciente fue la siguiente: Argentina (1.607), Chile (1.285), Venezuela (1.183), Costa Rica (1.037), Brasil (797), Colombia (233), México (171), Nicaragua (148), Honduras (138) y Panamá (132), entre otros²¹.

La coqueluche es una realidad en Latinoamérica, causando gran morbi-mortalidad en la población más vulnerable. Se requiere una alta sospecha clínica e identificar en forma precoz los casos con el fin de iniciar un tratamiento y seguimiento oportuno.

Es necesario continuar desarrollando estudios que evalúen el real impacto de esta enfermedad y así poder establecer una serie de estrategias destinadas a la prevención y mejoría de sistema de vigilancia epidemiológica como también en los métodos diagnósticos de ésta.

Epidemiología en Chile

Como señala Laval, no existen relatos de epidemias importantes de coqueluche en el país entre los siglos XVI y XVIII, con poca información disponible sobre las sucedidas en el siglo XIX (La Serena en 1851, Valdivia en 1853)²². A fines del siglo XIX, el doctor Carlos Sommers registra que entre los años 1892 y 1895 fallecieron por coqueluche 8.181 enfermos, lo que pudo deberse a la gravedad de las epidemias que ocurrieron a partir de 1890^{23,24}.

Actualmente, a pesar de la introducción de la vacuna anti-pertussis (DP) en el programa nacional de inmunizaciones en el año 1961, y en 1974 como DPT, ésta sigue siendo una enfermedad vigente, siendo potencialmente grave en pacientes bajo seis meses de edad.

En el año 1995 la tasa de incidencia de coqueluche era de 2,5 por cien mil habitantes, cifra que se triplicó el año siguiente, llegando a una tasa máxima en el año 2000 de 23,4 por cien mil habitantes. En la última década se observó una disminución progresiva de las tasas de coqueluche hasta llegar a una de 4,0 por cien mil habitantes²⁵.

No obstante, durante el último trimestre del año 2010 se constató un aumento de las notificaciones, asociado a un aumento de casos aislados y a brotes intrafamiliares e institucionales. Durante el año 2011, la tasa de incidencia acumulada de coqueluche correspondió a 12,6 por cien mil habitantes (2.167 casos), cifra que triplica la cifra del año 2010 durante este mismo período²⁶.

La distribución de casos por grupo etario es un hecho a destacar ya que 51% corresponden a lactantes bajo un año de edad y de éstos, 33% son pacientes con edad igual o menor de un mes. La tasa de incidencia en lactantes bajo un año es de 441,7 por 100.000 niños en comparación con el grupo de 1-4 años que presenta una tasa de incidencia de 41,4 por 100.000 niños²⁶. Otro hecho a enfatizar es que de las notificaciones en lactantes bajo un año de edad, 80% de los casos no presenta inmunización completa (bajo 6 meses).

Históricamente la mortalidad anual es de 6 a 9 lactantes bajo un año de edad²⁵; sin embargo, a la fecha (diciembre de 2011) se han registrado 13 fallecimientos, siendo la totalidad de ellos lactantes bajo 6 meses de edad²⁶.

Mecanismo de patogenicidad

Actualmente, gracias al avance en biología molecular, se ha podido caracterizar, aunque en forma incompleta, los componentes patogénicos de la bacteria²⁷⁻²⁹. Sin embargo, hay que considerar que estos mecanismos han sido estudiados y fundamentados en modelos animales, extrapolándose sus efectos a humanos.

Desde el punto de vista biomolecular, *B. pertussis* comparte con las otras especies de bordetela patógenas para el humano, un sistema prácticamente idéntico de control de virulencia, codificada en su genoma, en el locus *bvgAS*. Este sistema de transducción de señales, denominado *BvgAS*, está compuesto por dos partes *BvgA* y *BvgS*³⁰⁻³². *BvgS* es un "sensor" transmembrana, compuesto por cuatro segmentos³³, el cual se auto-fosforila y modula la activación del *BvgA*, regulador de respuesta de unión a ADN³⁴.

A través de este sistema se controlan, al menos, tres fases fenotípicas de *B. pertussis* en respuesta a los cambios ambientales (temperatura del cultivo, déficit de ciertos nutrientes, etc.) y que permite regular la expresión de sus factores de virulencia³⁵. Lacey³⁶ describió estos modos o fases de la bacteria: X, I y C, según su capacidad de producir enfermedad en modelos animales, siendo X la relacionada con mayor patogenicidad^{27,28}. Básicamente, en la fase X o *Bvg*⁺, la expresión de factores de adhesión y toxinas son indispensables para la colonización e infección de las células hospedera, mientras que en la fase C o *Bvg*⁻, su expresión se inhibe y la expresión de otras proteínas se activa. El rol de estos factores, en la fase C o *Bvg*⁻, es desconocido. Se ha sugerido que ellos pueden ser necesarios para evadir la respuesta inmune basado en la sobrevida intracelular de *B. pertussis*³⁷. Finalmente, estos factores podrían contribuir a la transmisión del microorganismo.

Se ha descrito la coqueluche como una "toxemia", haciendo referencia a que la bacteria produce un gran



daño en el epitelio respiratorio, pero sin invasión a la submucosa como tampoco paso al torrente sanguíneo. Una serie de proteínas estructurales como de secreción están implicadas, las cuales están listadas, junto a su función principal, en la Tabla 1. Un evento crucial en el inicio de la infección es la adhesión y anclaje de la bacteria al epitelio respiratorio, especialmente a las células ciliadas. Al menos siete proteínas bien caracterizadas participan facilitando este proceso, siendo las más importantes fimbria (FIM), toxina pertussis (TP), hemaglutinina filamentosa (HFA) y pertactina (PRN)^{27-29,38-40}. Es importante destacar la redundancia funcional de estas proteínas que permite la pérdida de función o la ausencia de una de ellas sin alterar significativamente la adhesión y anclaje al epitelio, siendo esto una razón hipotética propuesta para explicar que la inmunización activa no sea suficiente para prevenir la colonización^{27,28,39}.

Otro aspecto relevante es la evasión de la respuesta inmune, facilitada especialmente por la toxina adenilatociclase (CyaA), la que es activada por la calmodulina de las células hospederas. Esta toxina ingresa a los neutrófilos, aumentando en forma excesiva la producción de AMP cíclico (cAMP), inhibiendo la fagocitosis y la actividad de las células *natural killer*^{27,28,41}.

La destrucción de las células ciliadas del epitelio respiratorio se debe principalmente a la acción de la citotoxina traqueal (CTT) y en menor grado por CyaA. Los efectos citopáticos son específicos sobre las células ciliadas, produciendo disrupción de *tight junctions*, edema mitocondrial y extrusión de las células ciliadas^{1,27-29}. Apoyados en modelos experimentales animales, se postula que esta gran destrucción epitelial se produce mediante un aumento de la producción de interleuquina 1- α , estimulada directamente por la CTT en células no ciliadas productoras de mucus, que estimularía la expresión de óxido nítrico sintetasa (NOS)^{1,27-29}. El óxido nítrico (NO) difundiría hacia las células vecinas en grandes cantidades, siendo las células ciliadas susceptibles en un mayor grado al daño por éste⁴².

La principal toxina producida por *B. pertussis* es la TP, también denominada pertusínógeno. Esta es una proteína de secreción con actividad ribosiladora de ADP, compuesta por dos subunidades: A que es enzimáticamente activa y B, una estructura con forma anular que se une a la membrana de las células eucariontes y facilita el ingreso de la unidad A^{1,27}. Una vez en el citosol, escindiéndose de la subunidad B, la subunidad A cataliza la transferencia de NAD (nicotínica adenina dinucleótido) a la subunidad alpha del sistema de transducción de señales llamado proteína G^{27,28}. Los efectos biológicos que se atribuyen a la alteración de estas vías de transducción de señales son diversos. Está bien establecido en modelos animales que la TP es la causa de las alteraciones sistémicas asociado a la infección por *B. pertussis*, tales como leucocitosis, hipoglicemia (hiperinsulinemia)

y sensibilización a histamina⁴³. Asimismo la TP juega un rol importante en la promoción de infección en las vías respiratorias por la supresión y modulación de la respuesta inmune e inflamatoria del hospedero⁴⁴. Se ha descrito que la TP retrasa el reclutamiento temprano de neutrófilos y su flujo a la vía aérea por inhibición de la *up regulation* de los genes que expresan citoquinas (*KC*, *MIP-2* y *LIX*)⁴⁵, inhibe la producción de anticuerpos séricos y a su vez reduce la capacidad de éstos para controlar la infección^{46,47} y suprime la respuesta inmune adaptativa por efecto sobre diferentes células (monocitos, células dendríticas)^{48,49}.

Otros de los efectos de esta toxina es el bloqueo de los receptores α -2 adrenérgicos y los receptores dopaminérgicos (D2), responsable en parte de la resistencia a catecolaminas observada en los casos graves^{50,51}.

La TP, como ya se mencionó, es responsable *in vitro* de la leucocitosis, incrementando el recuento periférico de neutrófilos y linfocitos, siendo el segundo mucho más marcado. Esto no se debe a un aumento de su producción, sino a una mayor migración desde sitios extravasculares, acrecentando su número absoluto en circulación al estar también disminuida la quimiotaxis y migración^{1,52}.

Existen divergencias antigénicas entre las cepas utilizadas en vacunas y las aisladas en clínica en relación a las proteínas de superficie que confieren inmunidad protectora: TP, PRN y FIM⁵³⁻⁵⁶. Recientemente, se encontró evidencia que polimorfismo en el promotor de la TP (*ptxP*) puede ser importante para la adaptación de este patógeno⁵⁷ y así ser un factor más del resurgimiento de esta enfermedad. En los últimos veinte años, dos alelos del *ptxP*, *ptxP1* y *ptxP3* han predominado en estudios efectuados en diversas latitudes, principalmente en Europa. Las cepas con *ptxP3* producen más TP y, según datos epidemiológicos, estas cepas tendrían mayor virulencia. Esto tendría implicancia en la inmunidad generada por las vacunas, ya que las cepas utilizadas en ésta serían diferentes a las aisladas en la población, por lo tanto, la inmunidad adquirida por vacuna no sería protectora. Empero, este fenómeno no puede extrapolarse a nivel mundial, ya los resultados de estas investigaciones han sido variables.

Cuadro clínico

Existen varios factores descritos que modifican las manifestaciones clínicas de la infección por *B. pertussis*, entre ellas la edad del paciente, el estado de vacunación y el antecedente de infección previa^{58,59}.

La coqueluche clásica, su clínica y diagnóstico, han sido revisado en forma exhaustiva en otras publicaciones^{38,60,61}. En neonatos y lactantes con vacunación incompleta (menos de tres dosis), puede ser particularmente grave con una elevada tasa de complicaciones y mortalidad aproximada al 1%⁶²⁻⁶⁴.

Tabla 1. Factores de virulencia de *Bordetella pertussis*

Factor	Regulación BvgAS	Molécula	Función principal	Otras funciones
Toxina pertussis	Sí; fase (+)	Protómero A y múltiples subunidades B	Toxina y factor de adhesión	Causa leucocitosis y linfocitosis
Hemaglutininas	Sí; fase (+)	Proteína filamentosas, 220 kDa	Factor de adhesión; predomina en la traquea	Desconocida
Fimbria 2 y 3	Sí; fase (+)	Proteínas pequeñas, filamentosas (23 kDa)	Factor de adhesión; predomina en la traquea	Aglutinógenos; mantiene la infección
Pertactina	Sí; fase (+)	Proteína de membrana externa (69 kDa)	Factor de adhesión	Antígeno protector (modelo en ratón)
Adenilato ciclasa	Sí; fase (+)	Toxina	Toxina; inhibe la fagocitosis por aumento de AMPc	Inhibe la quimiotaxis e induce apoptosis de los macrófagos
Citotoxina traqueal	No	Derivado de peptidoglicano	Toxina; paraliza el sistema mucociliar	Inhibe la síntesis de ADN y muerte celular
Toxina dermonecrótica	Sí; fase(+)	Toxina termolábil (140 kDa)	Toxina; necrosis cutánea y vasoconstricción	Efecto sólo después de inyección en la piel
Factor de colonización traqueal	Sí; fase (+)	Proteína rica en prolina	Factor de adhesión; predomina en la traquea	Desconocida
Factor de resistencia al complemento	Sí; fase (+)	Proteína de membrana externa	Factor de adhesión	Provee resistencia al complemento
Virulencia activada del gen 8 (vag 8)	Sí; fase (+)	Proteína de membrana externa	Factor de adhesión?	Desconocida
Sistema de secreción tipo III	Sí; fase (+)	Varias proteínas aún no especificadas	Secreta proteínas efectoras en células hospederas	Desconocida

La complicación más frecuente es la neumonía (6-15% de los casos), la cual asociada a falla respiratoria, hiperleucocitosis e HTP conforman el cuadro clínico de CG⁶⁵⁻⁶⁷, el cual conlleva una mortalidad en ~75% de los casos, a pesar de las medidas terapéuticas empleadas.

Hace 25 años se iniciaron los reportes de casos fatales de coqueluche en lactantes pequeños, asociados a altos recuentos leucocitarios, que evolucionan a falla respiratoria y colapso cardiopulmonar^{40,68,69}. En 1993 Goulin y cols.⁷⁰, por primera vez lograron demostrar la presencia de HTP mediante monitoreo hemodinámico invasor en tres lactantes, confirmando de esta forma el ser un evento fisiopatológico crucial en el desarrollo de la CG.

La mayoría de los casos fatales de coqueluche ocurren en pacientes bajo un año de edad, y 90% se produce bajo seis meses de edad, siendo ésta la gran población en riesgo para desarrollar CG. Debido a la edad de los pacientes que desarrollan CG, los síntomas característicos de esta enfermedad pueden estar ausentes, siendo la principal razón para el sub-diagnóstico de esta patología^{7,68,69,71,72}.

Se han descrito varios factores de riesgo de mortalidad, los cuales incluyen: tener menos de un año de edad, vacunación ausente o incompleta, neumonía y convulsiones^{67,71,73,74}. La hiperleucocitosis es otro factor de riesgo, siendo descrito por Pierce y cols.⁷⁵, que un valor mayor a 100.000/mm³ es un factor independiente para resultado fatal. Mikelova y cols.⁷¹, diseñaron un modelo multivariable para predecir la evolución letal, resultando sólo la

presencia de neumonía e hiperleucocitosis asociadas en forma significativa. No encontraron un valor absoluto del recuento leucocitario que lograra predecir una evolución letal. No obstante, la gran mayoría de los casos reportados con resultado ominoso cursaron con cifras muy elevadas de leucocitos durante su evolución^{66,76,77}.

En nuestra experiencia, un signo clínico de gran importancia, muchas veces subvalorado, es la presencia de taquicardia sinusal inexplicada, un evento común que debiera ser considerado como un signo precoz de alarma^{7,78,79}.

La fisiopatología que explica la evolución grave no ha sido posible dilucidar en su totalidad. Cabe resaltar lo estereotipado de la evolución de estos pacientes: hipoxemia grave refractaria a tratamiento, HTP que lleva a colapso cardio-circulatorio, la que finalmente no responde a terapia, ocasionando un desenlace fatal.

Fisiopatología

Se ha sugerido que la neumonía por *B. pertussis* puede gatillar una cascada de eventos que incluyen hipoxia, acidosis, vasoconstricción pulmonar e incremento de la masa leucocitaria, los que condicionarían una reducción del flujo sanguíneo pulmonar. Estos efectos producirían una marcada elevación de la presión de los vasos sanguíneos pulmonares exacerbando la hipoxemia, causando finalmente falla cardíaca, *shock* y síndrome de *distress* respiratorio agudo. Esta condición agravaría la vasocons-



tricción hipóxica generando un círculo vicioso de HTP refractaria⁸⁰, lo que en casos graves puede desencadenar disfunción ventricular derecha y finalmente la muerte.

Modelos teóricos atribuyen un rol protagónico a la TP⁸¹⁻⁸³, la que produce un desbalance en el tono de la vasculatura pulmonar al inhibir una serie de agentes vasodilatadoras del endotelio, disminuyendo la síntesis de óxido nítrico, y en consecuencia favoreciendo la actividad de vasoconstrictores locales como la endotelina-1⁸⁴. También se ha postulado que la TP, por un mecanismo de sensibilización de las células endoteliales de la vasculatura pulmonar, produciría un aumento en los niveles de AMPc resultando en vasoconstricción de estos vasos⁸⁵.

La asociación entre hiperleucocitosis y desarrollo de HTP refractaria es otra de las hipótesis postuladas. La TP es un conocido factor promotor de leucocitosis periférica, y en forma indirecta refleja también la cantidad de bacterias implicadas^{75,79,86}. Esto generaría el desarrollo de trombos microvasculares lo que asociado a un sistema de coagulación y fibrinolítico inmaduro, generaría un síndrome de hiperviscosidad sanguínea y trombosis de las arteriolas pulmonares^{80,81,87}.

Sin embargo, otros autores postulan que tras la HTP existiría un proceso vasculítico local, más que un vasoespasmo, secundario al daño del epitelio respiratorio y progresivamente del endotelio vascular, mediado por citoquinas liberadas desde los linfocitos^{27,28}. No obstante, debemos destacar que aún no es bien comprendida en su totalidad la fisiopatología de la HTP.

Otro hallazgo a considerar es el desarrollo de síndrome de disfunción orgánica múltiple (SDOM) en el contexto de la CG, además de las causas habituales de éste (disoxia originada por *shock*); la TP tiene efectos inmunomoduladores, tanto en la población como en el fenotipo de las células T y en las inmunoglobulinas (IgE, IgA e IgG)⁸⁸⁻⁹¹. Reportes sugieren que hay pérdida de la actividad de la L-selectina, la cual es responsable de la adhesión de linfocitos, neutrófilos y monocitos al endotelio vascular activado por citoquinas en los sitios de inflamación⁹²⁻⁹⁴, generando de esta forma un estado de inmunoparálisis relativo y presencia de SDOM en los pacientes con CG. Además puede originar apoptosis linfocitaria y secundariamente falla orgánica múltiple^{95,96}.

Otros autores sugieren que existe una disrupción en la transducción de señales del ciclo celular en el sistema de la proteína G, alterando la respuesta celular al estrés⁹⁷, generando un punto de “no retorno” o irreversibilidad en la falla orgánica múltiple⁹⁸.

Durante la infancia, la apoptosis de las células epiteliales pulmonares es un mecanismo crucial en el daño pulmonar agudo⁹⁹. En la CG este fenómeno puede verse exacerbado, lo que quedó demostrado en el trabajo de Paddock y cols.⁸⁰, donde los hallazgos de extensa denudación del epitelio bronquiolar y alveolar con células

apoptóticas sugieren que este mecanismo está implicado en la patogenia del curso grave de esta enfermedad.

Hallazgos histopatológicos

Actualmente, existen escasos reportes de las características histopatológicas de la coqueluche fatal y además ninguno de ellos explica a cabalidad las características fisiopatológicas de la HTP secundaria observada.

Desde principio del siglo XX, las descripciones han enfatizado el extenso compromiso de las vías aéreas, desde tráquea hasta alvéolos, demostrando gran cantidad de *B. pertussis* en los cilios de la mucosa traqueal y bronquial, con daño de este epitelio¹⁰⁰. Esto concuerda con los hallazgos de Paddock y cols., quienes en una reciente comunicación identificaron este patógeno, en forma intacta, en el citoplasma de las células ciliadas del epitelio columnar. Tanto en la tráquea como en los bronquios se describe un gran daño de la mucosa, con pérdida ciliar, epitelio denudado y metaplasia escamosa⁸⁰.

Se ha detallado una secuencia de eventos histopatológicos, en el cual la endobronquitis y endobronquiolitis evolucionan a peribronquitis, peribronquiolitis y bronconeumonía difusa^{101,102}. El daño bronquiolar y alveolar se caracteriza por la presencia de necrosis del epitelio, formación de membranas hialinas e infiltrado pulmonar, compuesto principalmente por macrófagos alveolares con *B. pertussis* en su interior, lo cual contribuiría a la formación de secreciones espesas que son características de esta enfermedad.

En relación a la patogénesis de la HTP aún no está dilucidada. Se ha propuesto que el daño del epitelio alveolar y bronquial mediado por toxinas podría llevar a un aumento de la resistencia de la vasculatura pulmonar y el subsecuente desarrollo de HTP ocasionando finalmente colapso cardio-circulatorio⁷⁶. No obstante, también se ha reconocido la asociación entre la magnitud de la leucocitosis presentada por el paciente y la gravedad de la enfermedad, siendo valores de leucocitosis extremas ($> 100.000/\text{mm}^3$) un factor pronóstico independiente⁷⁵.

Halasa y cols.⁸⁵, describieron la presencia de trombos leucocitarios en arterias pulmonares de un lactante con coqueluche, quien desarrolló leucocitosis extrema y requirió soporte extracorpóreo con ECMO. Pierce y cols.⁷⁵, atribuyen la causa de HTP en cuatro de sus casos a obstrucción vascular, aunque su hipótesis no fue confirmada por biopsia pulmonar. Sawal y cols.⁷⁶, reportaron la presencia de formaciones trombóticas compuestas por linfocitos y neutrófilos en venas y arterias pulmonares de mediano y pequeño calibre. Esto se contrapone a los hallazgos de Paddock y cols.⁸⁰, los cuales observaron agregados leucocitarios en arteriolas y vénulas pero no la presencia de trombosis pulmonar. La exclusiva presencia de leucocitos en el lumen vascular no es suficiente eviden-



cia de trombosis, ya que ésta es una característica común de observar en pacientes con infección fatal⁷⁶.

Se ha propuesto, entonces, que la HTP demostrada en algunos pacientes no es sólo explicable por la presencia de leucostasia, sino que su patogénesis estaría dada por la combinación de leucostasia y daño vascular pulmonar⁷⁶. A favor que sólo la leucocitosis sería el único factor desencadenante de la HTP, recientes reportes han demostrado una mejoría significativa de la hipoxemia luego de la utilización de procedimientos de leucoreducción como exanguino-transfusión o leucoféresis^{87,103}. La buena respuesta a estas terapias podría ser explicada parcialmente por la disminución de la viscosidad sanguínea, la cual puede reducir la formación de microtrombos y la adhesión de leucocitos activados al endotelio vascular con la subsecuente obstrucción. Dado que *B. pertussis* puede permanecer en el interior de los macrófagos más de 40 días⁸⁰, estos procedimientos difícilmente pueden eliminar completamente las toxinas de la bordetela; así, parece probable que la rápida respuesta clínica observada sea el resultado de una disminución de la masa leucocitaria⁶⁵.

Otro hallazgo descrito por Sawal y cols.⁷⁶, es la reducción linfocitaria en bazo, ganglios y timo. De los 10 casos mencionados en su trabajo, ocho presentaron en el timo disminución cortical con reducción del peso, siete mostraban grave reducción linfocitaria sin reacción folicular en ganglios y nueve presentaron intensa disminución de la pulpa blanca esplénica. Sugimoto y cols.¹⁰⁴, reportaron que el factor promotor de linfocitosis actúa directamente sobre las células linfoides del timo causando inmunodepresión, lo cual años más tarde fue comunicado por Smith y Vyas¹⁰⁵ en cuatro casos *post-mortem* de coqueluche. Esta condición junto a la inmunoparálisis provocada por la TP, hace que estos pacientes sean vulnerables a presentar co-infecciones y a su vez sean incapaces de controlar la infección primaria del epitelio bronquial.

En conclusión, *B. pertussis* tiene un efecto devastador en las vías aéreas y tejido pulmonar. A futuro será necesario incluir pruebas de mayor complejidad orientadas a dilucidar los mecanismos inmunopatogénicos que ocasionan el extenso daño del epitelio bronquial y alveolar como también a la documentación de pruebas de función linfocitaria.

Tratamiento antimicrobiano

La susceptibilidad antimicrobiana de *B. pertussis* ha sido extensamente estudiada *in vitro*¹⁰⁶, mostrando una excelente concentración inhibitoria mínima ante los macrólidos, azalidas como también las fluoroquinolonas¹⁰⁷. Entre los macrólidos, eritromicina ha sido estudiada *in vivo* siendo su eficacia para erradicar este patógeno de la nasofaringe demostrada¹⁰⁸. Los nuevos macrólidos y azalidas (claritromicina y azitromicina), han demostrado

una penetración intracelular elevada y sostenida, por lo que son particularmente efectivos contra *B. pertussis*. Ambas son más resistentes al ácido gástrico logrando mayores concentraciones tisulares, tienen mayor vida media por lo que pueden administrarse en forma menos frecuente y en menor número de días, lo que permite mayor adherencia al tratamiento⁵⁹.

Dos observaciones en el campo del tratamiento antimicrobiano de la coqueluche deben destacarse, estas son: a pesar de reportes escasos y más bien anecdóticos de cepas resistentes a eritromicina (Estados Unidos y Taiwán)¹⁰⁹⁻¹¹², las pruebas de sensibilidad antimicrobiana no se realizan con fines asistenciales, ya que es un microorganismo fastidioso y su cultivo es lento y engorroso; debería realizarse sólo en cepas seleccionadas y como parte de un sistema regional de vigilancia. El mecanismo de resistencia propuesto es por mutación en el sitio de unión de eritromicina en el gen 23S de ARNr, y la identificación de éste y otros potenciales mecanismos de resistencia permitiría evaluar el genotipo y facilitar un *screening* más rápido de un gran número de cepas aisladas¹¹³. Desde hace 30 años ha sido recomendado el tratamiento por 14 días; sin embargo, la erradicación bacteriana ocurre dentro de los 5 días de iniciada la terapia, acortando el período de contagio habitual que puede ser hasta 4 semanas^{1,27,38}. Se ha demostrado igual eficacia de eritromicina estolato con una duración de tratamiento de siete días comparado con catorce días¹¹⁴. Actualmente, la recomendación de la Academia Americana de Pediatría es de 14 días en Estados Unidos, pero en otras latitudes como Canadá, Inglaterra, Australia, Nueva Zelanda, se recomienda usar 7 días de eritromicina.

Estudios clásicos mostraron que el beneficio principal de eritromicina para los pacientes es en la fase catarral, reduciendo la gravedad y duración de la enfermedad^{27,60,115,116}. Resultados controversiales se han obtenido cuando el tratamiento se inicia en la fase paroxística. Un único estudio efectuado en Alemania¹¹⁷ reportó disminución de la intensidad de la tos mientras que otras comunicaciones no encontraron efectos¹¹⁸⁻¹²⁰, aunque recomiendan su uso para limitar la diseminación del patógeno¹²¹.

En la Tabla 2 se exponen las recomendaciones de la Academia Americana de Pediatría en relación a tratamiento y profilaxis antimicrobiana de la coqueluche.

Los macrólidos (eritromicina, claritromicina) y azitromicina (estrictamente una azalida) son los antimicrobianos de primera línea para el tratamiento y profilaxis en los pacientes sobre seis meses de edad; en lactantes bajo esta edad la elección del tratamiento antimicrobiano requiere especial atención. La FDA no ha aprobado el uso de azitromicina y claritromicina en estos pacientes, pero desde el año 2006 la Academia Americana de Pediatría recomienda el uso de azitromicina en los lactantes bajo seis meses por el riesgo de estenosis hipertrófica del píloro



Tabla 2. Tratamiento y profilaxis antimicrobiana recomendada en lactantes, niños, adolescentes y adultos según la Academia Americana de Pediatría (2006)

Edad	Antimicrobianos recomendados			Alternativa
	Azitromicina	Eritromicina	Claritromicina	TMP-SMX
< 1 mes	10 mg/kg día por 5 días ^a	40-50 mg/kg/día dividida en 4 dosis por 14 días	No recomendada	Contraindicada bajo 2 meses de edad
1-5 meses	Ver arriba	Ver arriba	15 mg/kg/día dividida en 2 dosis por 7 días	≥ 2 meses: TMP 8 mg/kg/día; SMX 40 mg/kg/día dividida en 2 dosis por 14 días
> 6 meses y niños	10 mg/kg en una dosis el día 1 (máximo 500 mg); luego 5 mg/kg en una dosis del día 2-5 (máximo 250 mg/kg)	Ver arriba (máximo 2 g/día)	Ver arriba (máximo 1 g/día)	Ver arriba
Adolescentes y adultos	500 mg dosis única en el día 1 y luego 250 mg dosis única del día 2-5	2 g/día dividida en 4 dosis por 14 días	1 g/día dividida en 2 dosis por 7 días	TMP 320 mg/día; SMX 1.600 mg/día dividido en 2 dosis por 14 días

TMP: Trimetoprim; SMX: sulfametoxazol. ^aAntimicrobiano recomendado para este grupo etario por el riesgo de estenosis hipertrófica del píloro asociado al uso de eritromicina.

asociada al uso de eritromicina¹²¹ aunque recientemente se han reportado dos casos asociados a azitromicina¹²². En caso de intolerancia a los macrólidos, está indicado el uso de cotrimoxazol¹²¹.

Se estima que la enfermedad se produce en prácticamente 90% de los contactos susceptibles, por lo tanto, es fundamental la profilaxis^{1,38,123,124}. La Academia Americana de Pediatría recomienda la quimioprofilaxis en todos los contactos del grupo familiar directo u otros contactos directos, independiente de su edad y estado de vacunación. El fundamento de esta recomendación es que la administración de la profilaxis a los contactos asintomáticos dentro de los 21 días del inicio de la tos en el paciente índice puede limitar la transmisión secundaria¹²¹; sin embargo, otros países como Australia¹²⁵, Reino Unido¹²⁶ y Canadá¹²⁷ limitan el uso de antimicrobianos profilácticos a los contactos que presentan factores de riesgo para el desarrollo de complicaciones. Actualmente, en nuestro país las indicaciones de quimioprofilaxis son las siguientes¹²⁸:

“Miembros del grupo familiar directo, es decir, a personas que duermen bajo el mismo techo que el enfermo”. De éstos, sólo se considerarán aquellos contactos con riesgo de enfermedad grave o complicada:

- Lactantes bajo un año de edad, independiente de su estado de inmunización.
- Lactantes hasta los dos años de edad con esquema de vacunación menor a tres dosis.
- Mujeres embarazadas en el último trimestre.
- Adultos mayores de 65 años.
- Niños y adultos con afecciones cardiopulmonares crónicas con capacidad funcional limitada.
- Hospitalizados en la misma sala que el caso, que no cumplan con la distancia de un metro entre camas o cunas.
- Personal de salud y profesorado expuesto al riesgo, sólo en caso de brotes.

Enfoque terapéutico del paciente con coqueluche grave

Todo neonato y lactante bajo 3 meses de edad, con sospecha de coqueluche, debe ser hospitalizado y someterse a observación, en caso de confirmarse la presencia de *B. pertussis* en su nasofaringe, por un período de 5 a 7 días hasta descartar una evolución complicada. El paciente con CG o con sospecha de éste, requiere monitorización en una unidad de cuidados intensivos.

Habitualmente los pacientes evolucionan con síndrome de *distress* respiratorio agudo, asociado a signos de falla miocárdica aguda. Las evidencias clínicas de HTP son súbitas e impredecibles, por lo que se debe tener un alto índice de sospecha. Es indispensable establecer una adecuada monitorización invasora y uso de ecocardiografía para confirmar o no la presencia de HTP.

El tratamiento fundamental es de soporte, manteniendo una oxemia y hemodinamia adecuada, con presión arterial media (PAM) sobre el nivel de la presión arterial media pulmonar (PAMP), intentando mantener una resistencia vascular pulmonar baja y, de no ser esto posible, aumentar la resistencia vascular sistémica, manteniendo una presión de perfusión adecuada⁵⁴. En la Figura 1 se muestra un algoritmo terapéutico, el cual es utilizado en nuestra unidad. Los principales tópicos se discuten a continuación:

Hemodinamia

La resucitación con fluidos es la terapia de primera línea en búsqueda de optimizar la hipoperfusión ocasionada por el hipodébito, pues la mantención del *shock* es de muy mal pronóstico, produciéndose una escalada con un mayor deterioro hemodinámico al aumentar la acidosis y la hipoxemia^{8,82,85,87,129}.

Los fármacos vasoactivos a utilizar de preferencia son las catecolaminas con efecto inotrópico como dobutamina



o epinefrina y/o fármacos inodilatadores^{79,130} como los inhibidores de la fosfodiesterasa III, siendo la milrinona la opción a elegir, pues ofrece una opción terapéutica en esta situación de insensibilidad adrenérgica⁴⁰, ya que sus efectos no son inhibidos por la TP¹³¹.

Levosimendan, es un nuevo fármaco inotrópico y vasodilatador que actúa aumentando la respuesta de los cardiomiocitos al calcio, mediante la sensibilización de la troponina C y abre los canales de potasio dependientes de ATP¹³², lo cual lo convierte en una interesante opción terapéutica en *shock* cardiogénico, al mejorar la contractibilidad sin alterar la miorelajación ni aumentar el consumo de oxígeno cardíaco. Si bien aún su uso es muy limitado en niños, resultados experimentales y en adultos son promisorios¹³¹.

La alcalinización sistémica a niveles de pH sanguíneo hasta 7,5 debe instaurarse mediante el aporte de bicarbonato según se requiera, monitorizando los niveles de electrolitos plasmáticos.

Ventilación mecánica (VM)

La conexión debe ser precoz ya que la VM debe ser vista como parte del tratamiento del paciente en *shock* cardiogénico, no esperando la aparición de hipoxemia evidente, ya que la presencia de ésta es un signo ominoso, que asociada a acidosis aumentará el tono de la vasculatura pulmonar. En nuestra experiencia el uso de ventilación de alta frecuencia oscilatoria (VAFO) debe ser instaurado en forma temprana^{86,129} ya sea por hipoxemia grave persistente o bien por hipercapnia refractaria a uso de VM convencional. Es importante recordar que si existe HTP la hiperventilación debe ser moderada manteniendo la PaCO₂ entre 30-35 mmHg, ya que valores inferiores son deletéreos.

Es importante un adecuado nivel de sedoanalgesia y considerar precozmente el inicio de relajantes neuromusculares en este contexto clínico.

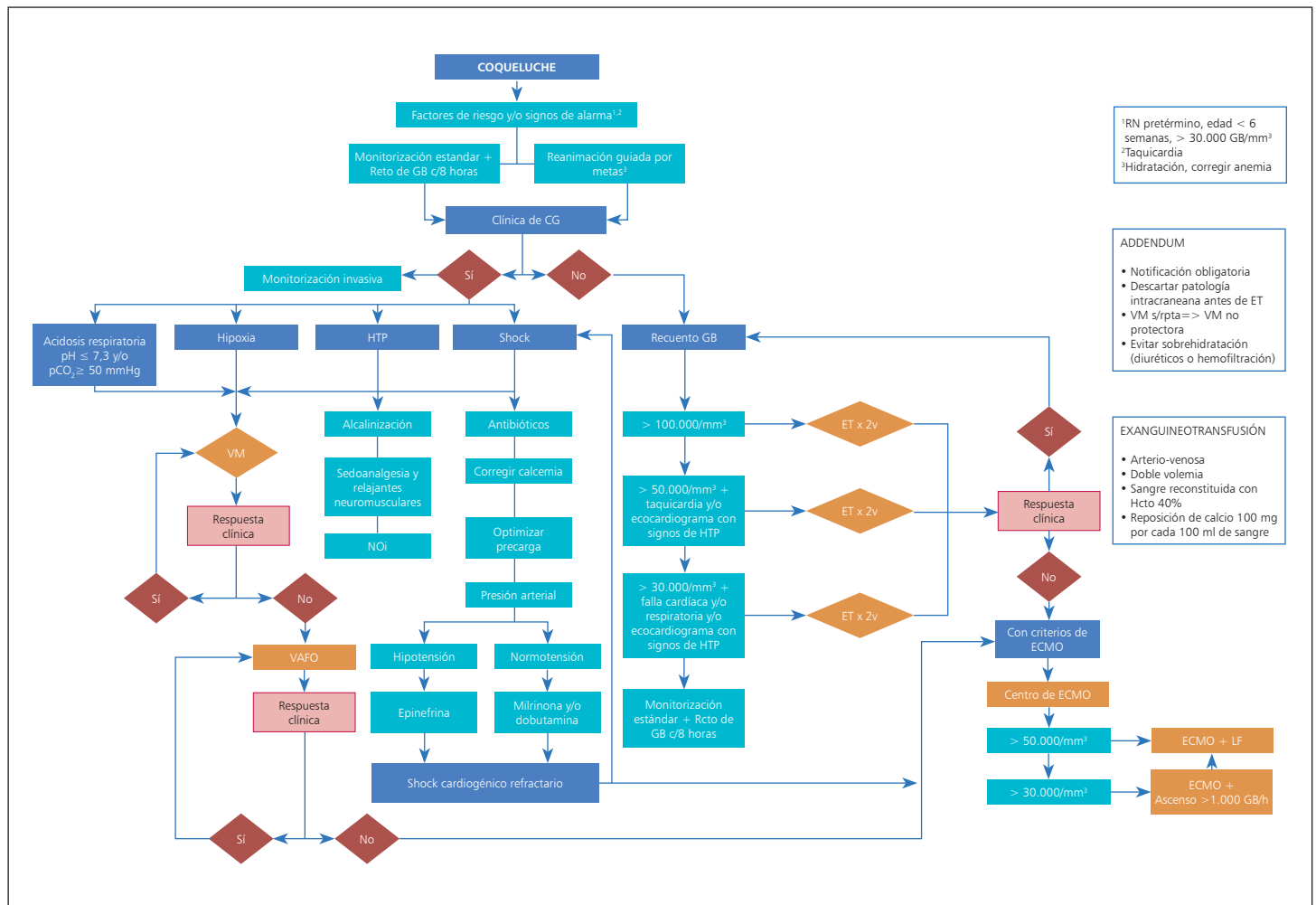


Figura 1. Algoritmo terapéutico para coqueluche grave. Hospital Padre Hurtado 2011 (Donoso, Arriagada, Cruces, Díaz, Ramírez, León).



Tratamiento antimicrobiano de la sobreinfección

La sobreinfección bacteriana es frecuente en estos pacientes. Debido a ello, agregamos a la terapia con macrólidos, esquemas con cobertura para otros patógenos respiratorios propios de la comunidad y eventualmente nosocomiales, recomendando en nuestra institución: ampicilina y cefotaxima en pacientes bajo seis semanas de edad y cefotaxima y cloxacilina sobre esa edad^{7,69,71}.

Óxido nítrico inhalado (NOi)

A diferencia de su indiscutible rol en hipertensión pulmonar persistente neonatal (HTPPN), los resultados en HTP en CG no han sido satisfactorios^{78,81,85,133,134}. El óxido nítrico (NO), o factor relajador derivado del endotelio, se produce por diversos estímulos que activan la enzima NOS^{1,27,133}. El NO junto con el fierro como cofactor, activa la enzima guanilato ciclasa, estimulándola para producir GMP cíclico, que produce la liberación de neurotransmisores que llevan a la relajación del músculo liso y vasodilatación^{27,38,40}.

En la CG una vez establecida la HTP y la hipoxemia grave, las opciones de tratamiento son muy limitadas. El uso de NOi ha sido descrito ocasionalmente^{81,134}; sin embargo, no hay reportes publicados de respuesta hemodinámica satisfactoria o mejoría de la oxigenación clínicamente significativa, e incluso podría empeorar los efectos de la citotoxina traqueal. Heiss y cols.^{135,136} han demostrado que la toxicidad de la citotoxina traqueal se debe a la inducción de las células hospederas para la producción de interleuquina-1 (IL-1), la cual activa la enzima NOS, lo que conduce a altos niveles de radicales libres de NO. Los efectos citotóxicos del NO radican en la capacidad de depletar el hierro intracelular e inhibir a las enzimas dependientes de hierro necesarias para la respiración mitocondrial y síntesis de ADN¹³⁷. Además, considerando que se postula que una de las causas de la hipoxemia y la HTP observada es la formación de trombos leucocitoclásticos en la vasculatura pulmonar, es de esperar que el uso de NOi presente un escaso efecto vasodilatador⁸⁷.

Vasodiladores pulmonares

El sildenafil es un inhibidor de la fosfodiesterasa tipo V que bloquea la degradación del GMPc produciendo un efecto vasodilatador. Su utilidad ha sido reportada en varias patologías asociadas a HTP, principalmente en HTP primaria y en neonatos para el destete del NOi. Como hemos señalado, el efecto vasodilatador del NOi

se produce al aumentar los niveles de GMPc, por lo tanto, la asociación de estos dos fármacos podría tener un efecto sinérgico como vasodilatador pulmonar¹³⁸, lo cual quedó demostrado por Soares y cols.¹³⁹, en un caso de un neonato de seis días de vida que cursó con CG, en el cual se utilizó ambas terapias observando una mejoría en la oxigenación y permitió un destete progresivo del NOi, con sobrevida del paciente. Actualmente, la dosis óptima de sildenafil no está determinada en la población infantil, pero es probable que el rango sea entre 0,3 y 1 mg/kg tres veces al día¹⁴⁰.

Sin embargo, tal como fue discutido previamente, el desbalance que se produce entre vasoconstrictores y vasodilatadores en esta patología, probablemente no es sólo cuantitativo, sino que involucra una alteración a nivel molecular, de segundos mensajeros, recordando que tal vez el exceso de NOi pudiera ser deletéreo^{27,81,87}.

Otros vasodilatadores como los antagonistas de endotelina-1, (bosentan, ambrisentan) análogos de la prostaciclina (iloprost, epoprostenol), péptido natriurético tipo B recombinante (nesiritide) no han sido evaluados en el contexto clínico de una CG.

Finalmente, debemos destacar que luego del desarrollo de hipoxemia refractaria por HTP la respuesta a vasodilatadores pulmonares es excepcional^{18,79,81,87,129,133}.

Soporte vital extracorpóreo (Extra Corporeal Membrane Oxygenation- ECMO)

A diferencia de lo reportado en HTPPN¹⁴¹, los resultados de ECMO en CG han sido decepcionantes. La sobrevida comunicada es sólo cercana a 40%, un porcentaje menor al compararlo con la mortalidad general de los pacientes ingresados a ECMO por otras causas, lo que ha llevado a algunos autores a cuestionar su uso^{78,81,85,133,134}.

Halasa y cols.⁸⁵, realizaron un análisis crítico de los registros de la *Extracorporeal Life Support Organization* (ELSO), entre los años 1986 y 2002, en pacientes con CG, buscando factores de riesgo de mortalidad en ECMO. La mortalidad en lactantes bajo seis semanas de vida fue 84%, mientras que en los mayores fue de 61%.

Hasta el año 2009, este registro tiene 169 casos de CG con una tasa de mortalidad de 69,8%, mucho mayor que otras patologías respiratorias, incluida la neumonía por virus respiratorio sincicial (tasa de 20%). Los lactantes bajo seis semanas de edad tienen la mayor tasa de mortalidad (83,6%)⁷⁷ siendo similar a la reportada hace algunos años.

Inwald y cols.¹⁴², demostraron la utilidad clínica de la realización de biopsia pulmonar a cielo abierto en 15 pacientes sometidos a ECMO. De éstos, tres pacientes cursaron con SDRA secundario a CG y en todos se demostraron hallazgos histológicos de infarto pulmonar. En consecuencia, en aquellos pacientes que cursen con



CG y no se observe mejoría luego de estar 3-4 semanas en ECMO podría considerarse la biopsia pulmonar y así determinar la presencia de tejido viable.

En nuestra opinión, en el caso que sea disponible la terapia con ECMO, debiera ser una opción a considerar, no obstante teniendo una visión de su real utilidad.

Terapias de leucorreducción

Exanguino-transfusión

La presencia de hiperleucocitosis, definida como valores mayores a $10^5/\text{mm}^3$ ha sido descrito como factor de riesgo de muerte en CG^{75,85}, atribuyéndose al síndrome de hiperviscosidad un rol al ocasionar un factor mecánico obstructivo por el desarrollo de trombos leucocitoclásticos en la vasculatura pulmonar, similar a lo que se ha descrito para otras enfermedades¹⁴⁴.

Utilizando esta hipótesis, se ha propuesto a la exanguino-transfusión (ET) como un procedimiento destinado a reducir la cantidad de leucocitos circulantes y de este modo disminuir el probable efecto mecánico en los vasos pulmonares. El resultado que pudiera tener esta terapia en reducir la magnitud de la toxemia por TP no ha sido estudiado, pero llama la atención que los pacientes presentan habitualmente luego de la ET un efecto de rebote en el recuento leucocitario que usualmente condiciona la repetición del procedimiento^{79,86}. Luego de este segundo recambio el ascenso ha sido mucho menor, lo que pudiera ser explicado por el efecto de “arrastré” de la toxina durante los recambios repetitivos.

A la fecha de la presente revisión, hay publicados siete reportes de casos, con un total de 16 pacientes, en quienes se empleó terapia de leucodepleción (Tabla 3).

Romano y cols.⁸⁷, comunicaron el primer caso exitoso de ET en un niño de tres meses de edad, demostrando una mejoría en la oxigenación luego del procedimiento y caída de los signos indirectos de HTP. Recientemente Martínez y cols.⁶⁵, reportaron el caso de una lactante de 8 semanas, quien presentaba todos los factores de riesgo asociados con una elevada mortalidad como eran: edad, calendario de vacunación incompleto, neumonía, convulsiones e hiperleucocitosis de $119.000/\text{mm}^3$ en la cual se utilizó esta terapia con resultados favorables, observando una mejoría clínica asociada a una reducción significativa del recuento leucocitario. Por el contrario, Berthomieu y cols.⁶⁶, publicaron la falla de este tratamiento, utilizado en un lactante de un mes con HTP isosistémica. Esto sugiere que la ET es beneficiosa en pacientes con CG que cursan con hiperleucocitosis pero muy probablemente si esta es utilizada tempranamente en el curso de la enfermedad.

Leucoféresis

La patogénesis de la HTP descrita en la coqueluche es aún desconocida, pero se postula que la leucocitosis

grave (recuento de leucocitos $> 10^5/\text{mm}^3$) condicionaría la formación de trombos leucocitoclásticos en la vasculatura pulmonar. Esto generaría una hipoxemia grave, progresiva y refractaria al tratamiento de soporte, con una muy pobre respuesta a las diferentes modalidades de ventilación mecánica^{40,87,144}, NOi y terapia de soporte extracorpóreo como ECMO^{85,134}, lo que ha condicionado una alta mortalidad en los pacientes que ingresan a unidades de cuidados intensivos pediátricos (50-70%)¹⁰⁵.

Basándose en la hipótesis que la leucostasia en la vasculatura pulmonar es un factor responsable en el desarrollo de HTP y falla hemodinámica, se ha propuesto el uso de terapias de leucorreducción como una opción terapéutica a considerar.

En relación al uso de este procedimiento en CG, no existen grandes series clínicas como tampoco cohortes descriptivas, sino que sólo casos clínicos con diferentes grados de eficacia. Grzeszczak y cols.¹⁰³, en el año 2006, comunicaron el caso de un lactante de cinco semanas con CG, que rápidamente presentó deterioro clínico, con hallazgos ecocardiográficos de HTP. Se inició ECMO y tres horas después leucoféresis, presentando una notable mejoría clínica, asociada temporalmente a una disminución del recuento leucocitario.

Recientemente, Rowland y cols.⁷⁷, reportaron diecinueve pacientes bajo tres meses de edad, con diagnóstico confirmado de CG, que se hospitalizaron en UCI, donde once de estos pacientes requirieron ECMO, en el período comprendido entre los años 2001 y 2009. Se comparó la reducción del recuento leucocitario y la tasa de mortalidad en dos períodos (2001-2004 y 2005-2009). En el último de éstos, en el cual se utilizó ECMO asociado a leucofiltración, el recuento leucocitario (promedio $75.000/\text{mm}^3$) disminuyó en 83% a las 10 horas de iniciada la terapia y la mortalidad se redujo a 10% en comparación con el primer período, en el cual se empleó exclusivamente ECMO, donde la reducción del recuento leucocitario (promedio $52.000/\text{mm}^3$) disminuyó en 55% a las 10 horas de iniciada la terapia y la mortalidad fue de 45%.

Con estos hallazgos, la utilización de leucoféresis en forma precoz, debe considerarse una opción terapéutica en aquellos pacientes con CG que cursan con leucocitosis extrema.

Uso de inmunoglobulina

Debido al importante papel de la TP en los efectos sistémicos de la enfermedad surgió la idea de instaurar como opción terapéutica el bloquear la acción de esta toxina²⁷. Múltiples ensayos clínicos intentaron demostrar una disminución en la duración e intensidad de los síntomas con el uso de inmunoglobulina humana, pero a diferencia de lo observado *in vitro* y en modelos experimentales



Tabla 3. Series clínicas de pacientes con coqueluche grave sometidos a terapia de leuco-reducción

Autor	Año	Edad (semanas)	Prematurez	Co-infección pulmonar	Leuco-reducción (ET-LF)	Recuento de leucocitos/mm ³		N° de recambios	ECMO	FOM			Resolución	Anatomía patológica
						Ingreso	post ET			CV	Resp	Neuro		
Romano y cols	2004	12	Sí	Sí	ET DV	48.400	104.000	15.200	No	(+)	(+)	(-)	(-)	NC
Grzeszczak y cols	2006	5	No	NS	LF	95.000	72.000	14.400	Sí	(+)	(+)	(-)	(-)	NC
Donoso y cols	2006	8	Sí	No	ET DV	34.500	45.000	20.500	No	(+)	(+)	(-)	(-)	NC
		16	No	No	ET DV	29.500	78.000	29.800	No	(+)	(+)	(-)	(-)	NC
		12	No	No	ET DV	79.100	106.000	17.000	No	(+)	(+)	(-)	(-)	NC
Berthomieu y cols.	2009	4	NS	NS	ET DV	33.000	90.000	40.000	No	(+)	(+)	(-)	(-)	Fallece
Sawal y cols	2009	8	NS	No	ET	132.000	NS	NS	No	(+)	(+)	(-)	renal	Fallece
														Bronco-neumonía necrosante
Rowlands y cols	2010	12	No	No	LF	58.000	58.000	< 15.000	Sí	(+)	(+)	(+)	(+)	Vivo
		4	Sí	No	LF	77.000	77.000	< 15.000	Sí	(+)	(+)	(-)	renal	Fallece
		8	No	No	LF	179.000	179.000	< 15.000	Sí	(+)	(+)	(+)	renal	Vivo
		2	No	No	LF	99.000	99.000	< 15.000	Sí	(+)	(+)	(+)	(-)	Vivo
		8	No	No	LF	99.000	99.000	< 15.000	Sí	(+)	(-)	(+)	(-)	Vivo
		11	Sí	Sí	ET DV	92.500	118.000	< 15.000	No	(+)	(+)	(+)	(-)	NC
		10	No	No	ET DV	81.000	92.000	< 50.000	No	(+)	(+)	(+)	(-)	NC
		3	No	No	ET DV	39.000	78.000	21.000	No	(+)	(+)	(-)	(-)	NC
Martínez y cols	2011	8	No	NS H: + <i>H. influenzae</i>	ET UV	104.700	119.400	36.500	No	(+)	(+)	(+)	(-)	Vivo

ET: exanguíneo-transfusión. LF: leucoféresis. ECMO: extracorporeal membrane oxygenation. FOM: falla orgánica múltiple. CV: cardiovascular. Resp: respiratorio. Neuro: neurológico. H: hemocultivo. DV: doble volemia. UV: una volemia. NS: no señalado. NC: no corresponde.



animales, ninguno logró corroborar tal efecto^{27,145}. En parte apoyado por estos resultados, muchos investigadores plantearon que la toxina se uniría en forma irreversible a su efector, por lo tanto, una vez iniciada la fase de estado de la enfermedad, no se obtendría beneficio del bloqueo de su actividad. Granstrom y cols.¹⁴⁶, y luego Bruss y cols.^{147,148}, lograron demostrar en dos ensayos clínicos independientes un efecto beneficioso con la administración de inmunoglobulina anti-TP. Ambos autores plantean que el problema principal de los estudios anteriores era la baja concentración de anticuerpos específicos anti-TP. Así Bruss y cols.¹⁴⁸, en un modelo experimental murino, logró demostrar una mayor supervivencia y disminución de síntomas sistémicos asociada a un descenso significativo de la leucocitosis en el grupo tratado con gammaglobulina hiperinmune anti-TP.

En el año 2006, Halperin y cols.¹⁴⁹, realizaron un estudio clínico, fase 3, multicéntrico, aleatorio, placebo controlado, en el cual evaluaron la eficacia en la mejoría de síntomas de la inmunoglobulina anti TP intravenosa (P-IGIV). Para tal efecto se ingresaron 25 pacientes bajo 5 años de edad (17 grupo P-IGIV y 8 grupo placebo) durante dos años, con diagnóstico de coqueluche. No se logró demostrar diferencia alguna entre ambos grupos, lo que se contrapone a los resultados obtenidos en los trabajos mencionados anteriormente^{146,147}. Sin embargo, el estudio de Halperin y cols., fue terminado precozmente por el bajo reclutamiento de pacientes. Este sesgo determina que el estudio no pueda confirmar o refutar el beneficio de la inmunoglobulina anti-TP.

En nuestro sentir, el uso empírico de inmunoglobulina humana no específica, no está indicada en estos pacientes, más aún hay que conocer las concentraciones de anticuerpos anti-TP en las preparaciones disponibles como también el incentivar el desarrollo de preparaciones con alta concentración para promover ensayos clínicos que demuestren o descarten su utilidad.

Inmunización en adolescentes y adultos

Como ya se mencionó, desde mediado de la década de los 90 se ha observado un aumento en los números de casos, principalmente en lactantes bajo seis meses de edad, adolescentes y adultos¹⁵⁰. Este fenómeno podría explicarse por mejoría en los métodos diagnósticos disponibles, reconocimiento por los médicos de esta enfermedad en adolescentes y adultos y en la mejoría de las notificaciones. Sin embargo, el incremento real de los casos en este grupo etario ha ocurrido por una pérdida de la inmunidad.

La enfermedad estimula la formación de anticuerpos humorales contra diversos factores de virulencia como también una respuesta de la inmunidad celular. Si bien, no hay marcadores específicos de protección contra la enfermedad, existe cierta correlación entre los niveles

circulantes de anticuerpos contra TP, HF, PRN, FIM y la presencia de inmunidad⁹. Esta correlación fue observada en el estudio realizado por Van der Wielen y cols.¹⁵¹, quienes analizaron suero de personas belgas sanas, describiendo pérdida de inmunidad específica anti *pertussis*, observándose una caída significativa de anticuerpos anti TP-PRN a medida que transcurrían los años, aumentando la susceptibilidad de los adultos a la enfermedad.

La duración de la inmunidad adquirida por infección va desde un rango de 7 a 20 años^{152,153}. Este amplio rango podría ser consecuencia de diferentes niveles circulantes de *B. pertussis*, los sistemas de vigilancia o definición de caso usado. Con respecto a la inmunidad adquirida por vacuna, tanto celular como acelular, ésta empieza a disminuir después de 3 a 5 años, y no existe protección demostrable después de los 10 -12 años¹⁵⁴. Con la vacuna DTP acelular (Tdap) no se ha determinado aún la duración de la protección, pero los valores de anticuerpos post-vacunación sugieren que ésta dura entre 5 y 10 años¹⁵⁴. Recientes estudios epidemiológicos han demostrado que la inmunidad natural después de la infección no es mayor que la adquirida por inmunización¹⁵⁴, y a su vez no existen diferencias entre ambas vacunas¹⁵⁵.

Como consecuencia, los adolescentes y adultos jóvenes se han transformado en una fuente de transmisión entre sus pares y lactantes menores; por ende, la vacunación en este grupo sería una buena estrategia para reducir las tasas de morbilidad y los casos en lactantes, al disminuir la fuente de contagio que representan ambos grupos¹⁵⁰.

En Chile, Perret y cols.¹⁵⁶, realizaron un estudio multicéntrico, donde se determinó la fuente infectante de 10 lactantes hospitalizados por coqueluche. En 80% de los casos ésta fue al interior del grupo familiar y de éstos, 90% correspondió a adolescentes y adultos vacunados, lo cual confirmaría la pérdida de protección de la vacuna con el tiempo.

Desde el año 2005, la FDA aprobó dos vacunas acelulares: Adacel® (aplicable desde los 11 a 64 años) y Boostrix® (10 a 18 años). Ambas vacunas contienen toxoide diftérico y tetánico más antígenos inmunoestimulantes y protectores para *B. pertussis*, como son: TP, hemaglutinina filamentosa (HAF) y PRN, más aglutinógenos de fimbrias en el caso de Adacel®. Sus componentes están en dosis más bajas que en las vacunas acelulares que se usan en niños bajo 7 años^{155,157}. Todos los estudios han demostrado una adecuada inmunogenicidad, perfil de seguridad así como una buena eficacia^{158,159}.

Adacel® y Boostrix® están comercialmente disponibles en Chile y recomendable para usarlas, cualquiera de ellas, especialmente en adolescentes después de 10 años de haber recibido la vacuna del programa nacional de inmunización en 2º año básico (dT) y agregar refuerzos cada 10 años, para mantener una adecuada inmunidad para tétanos, difteria y coqueluche.



Algunas de las estrategias propuestas para disminuir el impacto de esta enfermedad en la población susceptible a complicaciones son la denominada estrategia “capullo” y la inmunización materna, las cuales buscan proteger a neonatos y lactantes menores de posteriores exposiciones a la coqueluche. La primera consiste en la administración de la vacuna Tdap a puérperas antes del alta hospitalaria¹⁶⁰ y a contactos intradomiciliarios mayores 12 años de edad a tres semanas antes del parto, ya que se ha demostrado que aproximadamente en 75% de los lactantes con coqueluche, la fuente de contagio corresponde a contactos en el hogar, identificándose a la madre como fuente infectante en 33% de los casos^{161,162}. Adicionalmente se vacuna al personal de salud asistencial pediátrico en contacto con recién nacidos y lactantes.

En relación a la inmunización materna, la recomendación del Comité Asesor de Prácticas de Inmunización (*Advisory Committee on Immunization Practices-ACIP*) es aplicar la vacuna Tdap a las mujeres embarazadas, preferiblemente después de las 20 semanas de gestación y así optimizar la transferencia de anticuerpos maternos¹⁶³, ya que la protección pasiva por paso transplacentario de anticuerpos maternos¹⁶⁴ es de bajos niveles y rápida disminución en el neonato, haciéndolo vulnerables a la infección grave^{165,166}.

Estudio colaborativo pediátrico sobre la CG

Desde el año 2008 la organización *The Collaborative Pediatric Critical Research Network (CPCRN)*¹⁶⁷ comenzó a desarrollar en E.U.A., un estudio de cohorte prospectivo y descriptivo el cual pretende reclutar 200 pacientes con diagnóstico de CG, teniendo como objetivo caracterizar el curso agudo de la enfermedad, evaluar las morbilidades asociadas y características demográficas de estos pacientes y a largo plazo las secuelas en el desarrollo y calidad de vida de los sobrevivientes. Actualmente, participan siete centros de E.U.A., los cuales han ingresado al estudio 96 pacientes en un periodo de dos años.

Asimismo, las cepas de *B. pertussis* aisladas serán enviadas a laboratorios de investigación para el estudio genético de las cepas causantes de CG, lo que permitirá distinguir entre las que causan enfermedad grave en lactantes de otras circulantes en la población, logrando una mayor comprensión de las probables fuentes de infección. De igual forma el aislamiento de estas cepas permitirá el desarrollo de futuras investigaciones sobre los mecanismos de virulencia y parámetros inmunes que participan en el control de la enfermedad. La información obtenida

en este estudio permitirá guiar la toma de decisiones con respecto a la asignación de recursos para la prevención y tratamiento de la coqueluche, como también la generación de nuevas hipótesis sobre su fisiopatología y el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas para la CG¹⁶⁸, con lo que se obtendría potencial beneficio para 500.000 niños que mueren anualmente por CG en el mundo¹⁶⁹.

Conclusión

La CG es una enfermedad poco frecuente, pero altamente letal. Se presenta principalmente en niños bajo seis meses de edad y, en especial, en pacientes con vacunación ausente o incompleta. Los factores que desencadenan una evolución grave y la fisiopatología involucrada en este cuadro aún no están del todo dilucidadas. Por esto es fundamental tener un alto índice de sospecha epidemiológica y clínica, ya que una vez desencadenada la HTP, el tratamiento disponible habitualmente fracasa. Terapias de soporte avanzado no han resultado ser del todo exitosas; sin embargo, se deben considerar como opciones terapéuticas. En ocasiones las terapias de citorreducción han obtenidos resultados beneficiosos en estos pacientes.

Recientemente el Ministerio de Salud de nuestro país modificó el plan nacional de inmunizaciones, incorporando la vacunación con Tdap en primer año de enseñanza básica (6-7 años de edad). Asimismo, como la instauración de una estrategia de “capullo” a los padres y familiares de recién nacidos y también la vacunación del personal de salud pediátrico.

Estas políticas de salud están destinadas a prevenir y, por ende, reducir el impacto de esta patología en la población y así evitar el desarrollo de complicaciones, como la CG, que coloquen en riesgo la vida del paciente.

Resumen

La coqueluche (tos ferina) es una enfermedad infecto-contagiosa, que ha resurgido en los últimos años como problema de salud pública en nuestro país. La presentación clínica no ha cambiado, siendo los lactantes bajo un año el principal grupo de riesgo, evolucionando, en ocasiones hacia un cuadro altamente letal denominada coqueluche maligna o grave. En la presente revisión se discute su epidemiología, mecanismos de patogenicidad como también se describen los factores de riesgo, características clínicas de esta evolución y su fisiopatología. Se presenta la evidencia actual, utilidad de nuevos tratamientos y una propuesta de algoritmo terapéutico.



Referencias bibliográficas

- 1.- Mortimer E, Cherry J. Pertussis (whooping cough). En: Krugman's Infectious Diseases of Children. 11th edition. Mosby, Inc 2004; 443-57.
- 2.- Circular B51 N° 27,2011: "Vigilancia epidemiológica y medidas de control de coqueluche (tos ferina)", Ministerio de Salud, Chile.
- 3.- World Health Organization. Dept of vaccines and other biologicals. Pertussis surveillance: a global meeting: Geneva, 16-18 October 2000.
- 4.- Tan T, Trindade E, Skowronski D. Epidemiology of pertussis. *Pediatr Infect Dis J* 2005; 24: S10-8.
- 5.- Aguas R, Goncalves G, Gomes M. Pertussis: increasing disease as a consequence of reducing transmission. *Lancet Infect Dis* 2006; 6: 112-7.
- 6.- Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Pertussis-United States, 2001-2003. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2005; 23 (54): 1283-6.
- 7.- Donoso A, Wegner A, León J, Ramírez M, Carrasco J. Coqueluche en niños menores de 6 meses de vida. *Rev Chil Pediatr* 2001; 72: 334-9.
- 8.- Donoso A, Ramírez M, León J, Rojas G, Valverde C, Oberpaur W, et al. Coqueluche: una causa de HTP fatal. *Rev Chilena Infectol* 2002; 19: 226-30.
- 9.- Cofré J. Coqueluche en adultos y adolescentes. *Rev Chilena Infectol* 2003; 20: S52-58.
- 10.- Forsyth K. Pertussis, Still a formidable foe. *Clin Infect Dis* 2007; 45: 1487-91.
- 11.- Beiter A, Lewis K, Pineda E F, Cherry J D. Unrecognized maternal peripartum pertussis with subsequent fatal neonatal pertussis. *Obstet Gynecol* 1993; 82 (Suppl): 691-3.
- 12.- Centers for Disease Control and Prevention. Pertussis deaths; United States, 2000. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2002; 51: 616-8.
- 13.- Crowcroft NS, Andrews N, Rooney C, Brisson M, Miller E. Deaths from pertussis are underestimated in England. *Arch Dis Child* 2002; 86: 336-8.
- 14.- Vitek CR, Pascual F B, Baughman AL, Murphy T V. Increase in deaths from pertussis among young infants in the United States in the 1990s. *Pediatr Infect Dis J* 2003; 22: 628-33.
- 15.- Falcon M, Rafael M, García C, Fergie J, Purcell K. Increasing infant pertussis hospitalization and mortality in South Texas, 1996 to 2006. *Pediatr Infect Dis J* 2010; 29: 265-7.
- 16.- World Health Organization. Challenges in global immunization and the global immunization vision and strategy 2006-2015. *Wkly Epidemiol Rec* 2006; 81: 190-5.
- 17.- Crowcroft N S, Stein C, Duclos P, Birmingham M. How best to estimate the global burden of pertussis? *Lancet Infect Dis* 2003; 3: 413-8.
- 18.- CDC Especiales CDC: Tos ferina: lo que debe saber. Disponible en: <http://www.cdc.gov/spanish/especialesCDC/Tosferina>. (Acceso 22 de diciembre de 2011).
- 19.- Ulloa-Gutiérrez R, Ávila-Aguero M. Pertussis in Latin America: current situation and future vaccination challenges. *Expert Rev Vaccines* 2008; 7: 1569-80.
- 20.- World Health Organization. Disponible en: <http://www.who.int/vaccines-documents/GlobalSummary/GlobalSummary.pdf>
- 21.- World Health Organization. Disponible en: http://www.amro.who.int/english/ad/fch/im/Pertussis_NumberCases.pdf. Acceso 22 de diciembre de 2011.
- 22.- Laval E. Contribución a la historia de la coqueluche en Chile. Siglo XIX. *Rev Chilena Infectol* 2010; 27: 351-5.
- 23.- Sommers C. La mortalidad en Chile, durante los años 1892, 1893, 1894 y 1895. *Rev Ch Hig* 1896; 3: 374-95.
- 24.- Crónica. La coqueluche hace estragos. *Rev Med Chile* 1888-89; 17:525.
- 25.- Olea A. Ministerio de Salud de Chile. Departamento de Epidemiología, página web. Tos Ferina. El Vigía N° 24. Página 59. Disponible en: <http://epi.minsal.cl/epi/html/elvigia/Vigia24.pdf>. (Acceso 23 de diciembre de 2011).
- 26.- Ministerio de Salud. Departamento de Epidemiología, página web. Informe de Coqueluche. Semana epidemiológica 1 a 49 (02 de enero al 10 de diciembre) Disponible en <http://epi.minsal.cl/epi/html/bolets/.../Coqueluche/InformeCoqueluche.pdf>. (Acceso el 24 de diciembre de 2011).
- 27.- Mattoo S, Cherry J. Molecular pathogenesis, epidemiology, and clinical manifestations of respiratory infections due to *Bordetella pertussis* and other *Bordetella* subspecies. *Clin Microbiol Rev*. 2005; 18: 326-82.
- 28.- Kerr J, Matthews R. *Bordetella pertussis* infection: pathogenesis, diagnosis, management, and the role of protective immunity. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2000; 19:77-88.
- 29.- Preston A. *Bordetella pertussis*: the intersection of genomics and pathobiology. *Can Med Assoc J* 2005; 173: 55-62.
- 30.- Uhl M, Miller J. Autophosphorylation and phosphotransfer in the *Bordetella pertussis* BvgAS signal transduction cascade. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 1163-7.
- 31.- Uhl M, Miller J. Central role of the BvgS receiver as a phosphorylated intermediate in a complex two-component phosphorelay. *J Biol Chem* 1996;271: 33176-80.
- 32.- Uhl M, Miller J. Integration of multiple domains in a two-component sensor protein: the *Bordetella pertussis* BvgAS phosphorelay. *EMBO J* 1996; 15: 1028-36.
- 33.- Stibitz S, Yang M S. Subcellular localization and immunological detection of proteins encoded by the *vir* locus of *Bordetella pertussis*. *J Bacteriol* 1991;173: 4288-96.
- 34.- Boucher P E, Stibitz S. Synergistic binding of RNA polymerase and BvgA phosphate to the pertussis toxin promoter of *Bordetella pertussis*. *J Bacteriol* 1995; 177: 6486-91.
- 35.- Heininger U. Recent progress in clinical and basic pertussis research. *Eur J Pediatr* 2001; 160: 203-13.
- 36.- Lacey B W. Antigenic modulation of *Bordetella pertussis*. *J Hyg* 1960; 58: 57-93.
- 37.- Friedman R L, Nordensson K, Wilson L, Akporiaye E T, Yocum D E. Uptake and intracellular survival of *Bordetella pertussis* in human macrophages. *Infect Immun* 1992; 60: 4578-85.
- 38.- Tozzi A, Celentano L, Ciofi degli Atti M L, Salmaso S. Diagnosis and management of pertussis. *Can Med Assoc J* 2005; 172: 509-15.
- 39.- Ishibashi Y, Nishikawa A. *Bordetella pertussis* infection of human respiratory epithelial cells up-regulates intercellular adhesion molecule-1 expression: role of filamentous hemagglutinin and pertussis toxin. *Microb Pathog* 2002; 33: 115-25.
- 40.- McEniery J, Delbridge R, Reith D. Infants pertussis deaths and the management of cardiovascular compromise. *J Paediatr Child Health*, 2004; 40: 230-2.
- 41.- Cherry J D, Grimprel E, Guiso N, Heininger U, Mertsola J. Defining pertussis epidemiology: clinical, microbiologic and serologic perspectives. *Pediatr Infect Dis J* 2005; 24: S25-S34.
- 42.- Flak T, Goldman W. Autotoxicity of nitric oxide in airway disease. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 154: S202-S6.
- 43.- Munoz J J, Arai H, Bergman R K, Sadowski P L. Biological activities of crystalline pertussigen from *Bordetella pertussis*. *Infect Immun* 1981; 33: 820-6.
- 44.- Carbonetti N. Pertussis toxin and adenylate cyclase toxin: key virulence factors of *Bordetella pertussis* and cell biology tools. *Future Microbiol* 2010; 5: 455-69.
- 45.- Andreasen C, Carbonetti NH. Pertussis toxin inhibits early chemokine production to delay neutrophil recruitment in response to *Bordetella pertussis* respiratory tract infection in mice. *Infect Immun* 2008; 76: 5139-48.
- 46.- Carbonetti N H, Artamonova G V, Andreasen C, Dudley E, Mays R M, Worthington Z E. Suppression of serum antibody responses by pertussis toxin after respiratory tract colonization by *Bordetella pertussis* and identification of an immunodominant lipoprotein. *Infect Immun* 2004; 72: 3350-8.
- 47.- Kirimanjeswara G S, Agosto L M, Kennett M J, Bjornstad O N, Harvill E T. Pertussis toxin inhibits neutrophil recruitment to delay



- antibody-mediated clearance of *Bordetella pertussis*. *J Clin Invest* 2005; 115: 3594-601.
- 48.- Shumilla J A, Lacaille V, Hornell T M, Huang J, Narasimhan S, Relman DA, et al. *Bordetella pertussis* infection of primary human monocytes alters HLA-DR expression. *Infect Immun* 2004; 72: 1450-62.
- 49.- Martino A, Volpe E, Auricchio G, Colizzi V, Baldini P M. Influence of pertussis toxin on CD1a isoform expression in human dendritic cells. *J Clin Immunol* 2006; 26: 153-9.
- 50.- Aantaa R, Marjamaki A, Scheinin M. Molecular pharmacology of alpha 2-adrenoreceptor subtypes. *Ann Med* 1995; 27: 439-49.
- 51.- Huff R M. Signal transduction pathways modulated by the D2 subfamily of dopamine receptors. *Cell Signal* 1996; 8: 453-9.
- 52.- Higgins S C, Lavelle E C, McCann C, Keogh B, McNeela E, Byrne P, et al. Toll-like receptor 4-mediated innate IL-10 activates antigen-specific regulatory T cells and confers resistance to *Bordetella pertussis* by inhibiting inflammatory pathology. *J Immunol* 2003; 171: 3119-27.
- 53.- Moci F R. *Bordetella pertussis* and vaccination: the persistence of genetically monomorphic pathogen. *Infect Genet Evol* 2010; 10: 36-49.
- 54.- Mooi F R, van Oirschot H, Heuvelman K, van der Heide H G, Gaastra W, Willems R J. Polymorphism in the *Bordetella pertussis* virulence factors P.69/pertactin and pertussis toxin in The Netherlands: temporal trends and evidence for vaccine-driven evolution. *Infect Immun* 1998; 66: 670-5.
- 55.- Kallonen T, He Q. *Bordetella pertussis* strain variation and evolution postvaccination. *Expert Rev Vaccines* 2009; 8: 863-75.
- 56.- Hozbor D, Mooi F, Flores D, Weltman G, Bottero D, Fossati S, et al. Pertussis epidemiology in Argentina: trends over 2004-2007. *J Infect* 2009; 59: 225-31.
- 57.- Mooi F R, van Loo I H M, van Gent M, He Q, Heuvelman C J, Bart M, et al. *Bordetella pertussis* strains with increased toxin production associated with pertussis resurgence. *Emerg Infect Dis* 2009; 15: 1206-13.
- 58.- Cherry J D, Brunnell P A, Golden G S, Karzon D T. Report of the task force on pertussis and pertussis immunization. *Pediatrics* 1988; 81: 939-84.
- 59.- Wood N, McIntyre P. Pertussis: review of epidemiology, diagnosis, management and prevention. *Paediatr Respir Rev* 2008; 9: 201-11.
- 60.- Muñoz F. Pertussis in infants, children, and adolescents: diagnosis, treatment, and prevention. *Semin Pediatr Infect Dis* 2006; 17: 14-9.
- 61.- von König C H, Halperin S, Riffelmann M, Guiso N. Pertussis of adults and infants. *Lancet Infect Dis* 2002; 2: 744-50.
- 62.- Heininger U, Klich K, Stehr K, Cherry J D. Clinical findings in *Bordetella pertussis* infections: results of a prospective multicenter surveillance study. *Pediatrics* 1997; 100: E10.
- 63.- Romanus V, Jonsell R, Bergquist S O. Pertussis in Sweden after the cessation of general immunization in 1979. *Pediatr Infect Dis J* 1987; 6: 364-71.
- 64.- Effect of a low pertussis vaccination uptake on a large community. Report from the Swansea Research Unit of The Royal College of General Practitioners. *Br Med J (Clin Res Ed)* 1981; 282: 23-6.
- 65.- Martínez M, Rochant I, Corbelli R, Tissères P, Rimensberger P. Early blood exchange transfusion in malignant pertussis: A case report. *Pediatr Crit Care Med* 2011; 12: 1-3.
- 66.- Berthomieu L, Boumahni B, Jamal Bey K, Peslagesb P, Rayetb I, Teyssierb G. La coqueluche maligne: à propos de 3 observations. *Arch Pédiatr* 2010; 17: 144-8.
- 67.- Namachivayam P, Shimizu K, Butt W. Pertussis: severe clinical presentation in pediatric intensive care and its relation to outcome. *Pediatr Crit Care Med* 2007; 8: 207-11.
- 68.- Stojanov S, Liese J, Belohradsky B. Hospitalization and complications in children under 2 years of age with *Bordetella pertussis* infection. *Infection* 2000; 28: 106-10.
- 69.- Heininger U, Stehr K, Cherry J. Serious pertussis overlooked in infants. *Eur J Pediatr* 1992; 151: 342-3.
- 70.- Goulin G, Kaya K, Bradley J. Severe pulmonary hypertension associated with shock and death in infants infected with *Bordetella pertussis*. *Crit Care Med* 1993; 21: 1791-4.
- 71.- Mikelova L, Halperin S, Scheifele D, Smith B, Ford-Jones E, Vaudry W et al. Predictors of death in infants hospitalized with pertussis: a case-control study of 16 pertussis deaths in Canada. *J Pediatr* 2003; 143: 576-81.
- 72.- Crowcroft NS, Booy R, Harrison T, Spicer L, Britto J, Mok Q et al. Severe and unrecognised: pertussis in UK infants. *Arch Dis Child* 2003; 88: 802-6.
- 73.- Briand V, Bonmarin I, Lévy Bruhl D. Study of the risk factors for severe childhood pertussis based on hospital surveillance data. *Vaccine* 2007; 25: 7224-32.
- 74.- Surridge J, Segedin E R, Grant CC. Pertussis requiring intensive care. *Arch Dis Child* 2007; 92: 970-5.
- 75.- Pierce C, Klein N, Peters M. Is leukocytosis a predictor of mortality in severe pertussis infection? *Intensive Care Med* 2000; 26: 1512-4.
- 76.- Sawal M, Cohen M, Irazuzta J, Kumar R, Kirton C, Brundler M A. Fulminant pertussis: A multi-center study with insights into the clinic-pathological mechanism. *Pediatr Pulmonol* 2009; 44: 970-80.
- 77.- Rowlands H, Goldman A, Harrington K, Karimova A, Brierley J, Cross N. et al. Impact of rapid leukodepletion on the outcome of severe clinical pertussis in young infants. *Pediatrics* 2010; 126: e816-e27.
- 78.- Sreenan CD, Osiovich H. Neonatal pertussis requiring extracorporeal membrane oxygenation. *Pediatr Surg Int* 2001; 17: 201-3.
- 79.- Cruces P, González M, Maldonado B, Cruces K. Coqueluche grave con hipertensión pulmonar tratado con exanguineotransfusión. *Rev Chil Pediatr* 2005; 76: 513-7.
- 80.- Paddock C, Sanden G, Cherry J, Gal A, Langston C, Tatti K, et al. Pathology and pathogenesis of fatal *Bordetella pertussis* infection in infants. *Clin Infect Dis* 2008; 47: 328-38.
- 81.- Williams G D, Numa A, Sokol J, Tobias V, Duffy B J. ECLS in pertussis: does it have a role? *Intensive Care Med* 1998; 24: 1089-92.
- 82.- Casano P, Odena MP, Cambra F, Martin J, Palomeque A. *Bordetella pertussis* infection causing pulmonary hypertension. *Arch Dis Child* 2002; 86: 453.
- 83.- De Berry B, Lynch J, Chung D, Zwischenberger J. Pertussis with severe pulmonary hypertension and leukocytosis treated with extracorporeal membrane oxygenation. *Pediatr Surg Int* 2005; 21: 692-4.
- 84.- Jiang B, Morimoto S, Fukuo K, Hirotani A, Tamatani M, Nakahashi T, et al. Parathyroid hormone-related protein inhibits endothelin-1. *Hypertension* 1996; 27: 360-3.
- 85.- Halasa N, Barr F, Johnson J, Edwards K. Fatal pulmonary hypertension associated with pertussis in infants: does extracorporeal membrane oxygenation have a role? *Pediatrics* 2003; 112: 1274-8.
- 86.- Donoso A, Cruces P, Camacho J, León J, Kong J. Exchange transfusion to reverse severe pertussis-induced cardiogenic shock. *Pediatr Infect Dis J* 2006; 25: 846-8.
- 87.- Romano M J, Weber M D, Weisse M E, Siu B. Pertussis pneumonia, hypoxemia, hyperleukocytosis, and pulmonary hypertension: improvement in oxygenation after a double volume exchange transfusion. *Pediatrics* 2004; 114: e264-6.
- 88.- Ryan M, McCarthy L, Rappuoli R, Mahon B P, Mills KH. Pertussis toxin potentiates Th1 and Th2 responses to co-injected antigen: Adjuvant action is associated with enhanced regulatory cytokine production and expression of the co-stimulatory molecules B7-1, B7-2 and CD28. *Int Immunol* 1998; 10: 651-62.
- 89.- Fujimoto C, Yu C R, Shi G, Vistica B P, Wawrousek E F, Klinman D M, et al. Pertussis toxin is superior to TLR ligands in enhancing pathogenic autoimmunity, targeted at a neoself antigen, by triggering robust expansion of Th1 cells and their cytokine production. *J Immunol* 2006; 177: 6896-903.



- 90.- Cassan C, Piaggio E, Zappulla J P, Mars L T, Couturier N, Bucciarelli F, et al. Pertussis toxin reduces the number of splenic Foxp3+ regulatory T cells. *J Immunol* 2006; 177: 1552-60.
- 91.- Tonon S, Badran B, Benghiat F S, Goriely S, Flamand V, Willard-Gallo K, et al. Pertussis toxin activates adult and neonatal naïve lymphocytes. *Eur J Immunol* 2006; 36: 1794-804.
- 92.- Jutila M, Rott L, Berg E, Butcher E. Function and regulation of the neutrophil MEL-14 antigen *in vivo*. Comparison with LFA-1 and MAC-1. *J Immunol* 1989; 143: 3318-24
- 93.- Lewinsohn D, Bargatzke R, Butcher E. Leukocyte-endothelial cell mechanism shared by neutrophils, lymphocytes and other leukocytes. *J Immunol* 1987; 138: 4313-21.
- 94.- Smith C, Kishimoto T, Abbas O, Huges B, Rothlein R, McIntire L, et al. Chemotactic factors regulate lectin adhesion molecule 1 (LECAM-1) development neutrophil adhesion to cytokine-stimulated endothelial cells *in vitro*. *J Clin Invest* 1991; 87: 609-18.
- 95.- Felmet K A, Hall M W, Clark R S B, Jaffe R, Carcillo J A. Prolonged lymphopenia, lymphoid depletion, and hypoprolactinaemia in children with nosocomial sepsis and multiple organ failure. *J Immunol* 2005; 174: 3765-72.
- 96.- Hotchkiss R S, Swanson P E, Freeman B D, Tinsley K W, Cobb J P, Matuschak G M, et al. Apoptotic cell death in patients with sepsis, shock, and multiple organ dysfunction. *Crit Care Med* 1999; 27: 1230-51.
- 97.- Forse R A. Biology of heterotrimeric G protein signaling: Signal transduction in critical care medicine. *Crit Care Med* 2000; 28 (Suppl): N53-9.
- 98.- Sodhi A, Montaner S, Gutkind J S. Viral hijacking of G-protein-coupled-receptor signaling networks. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2004; 5: 998-1012.
- 99.- Bem R A, Bos A P, Matute-Bello G, van Tuyt M, van Woensel JBM. Lung epithelial cell apoptosis during acute lung injury in infancy. *Pediatr Crit Care Med* 2007; 8: 132-7.
- 100.- Mallory F B, Hornor A A. Pertussis: the histological lesion in the respiratory tract. *J Med Res* 1912; 27: 115-23.
- 101.-Lapin J H. Whooping cough. Springfield I L: Charles C. Thomas, 1943.
- 102.-Smith L W. The pathological anatomy of pertussis with especial refence to pneumonia caused by the pertussis bacillus. *Arch Pathol Lab Med* 1927; 4: 732-42.
- 103.-Grzeszczak M, Churchwell K, Edwards K, Pietsch J. Leukopheresis therapy for severe infantile pertussis with myocardial and pulmonary failure. *Pediatr Crit Care Med* 2006; 7: 580-2.
- 104.-Sugimoto M, Nakanishi Y, Otokawa M, Uchida N, Yasuda T, Sato H, et al. Effect of *Bordetella pertussis* leucocytosis (lymphocytosis)- promoting factor (LPF) on the physical lymphoepithelial-cell association studied with the use of an *in vitro* model of mouse thymus. *J Immunol* 1983; 130: 2767-74.
- 105.-Smith C, Vyas H. Early infantile pertussis: increasingly prevalent and potentially fatal. *Eur J Pediatr* 2000; 59: 898-900.
- 106.-Hoppe J E. State of art in antibacterial susceptibility of *Bordetella pertussis* and antibiotic treatment of pertussis. *Infection* 1998; 26: 242-6.
- 107.-Kurzynski T A, Boehm D M, Rott-Petri J A, Schell R F, Allison P E. Antimicrobial susceptibilities of *Bordetella* species isolated in a Multicenter Pertussis Surveillance Project. *Antimicrob Agents Chemother* 1988; 32: 137-40.
- 108.-Bass J W. Erythromycin for treatment and prevention of pertussis. *Pediatr Infect Dis J* 1986; 5: 154-7.
- 109.-Centers for Disease Control. Erythromycin-resistant *Bordetella pertussis*, Yuma County, Arizona, May-October 1994. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 43: 807-10.
- 110.-Lewis K, Saubolle M A, Tenover F C, Rudinsky M F, Barbour S D, Cherry J D. Pertussis caused by an erythromycin-resistant strain of *Bordetella pertussis*. *Pediatr Infect Dis J* 1995; 14: 388-91.
- 111.-Korgenski E K, Daly J A. Surveillance and detection of erythromycin resistance in *Bordetella pertussis* isolates recovered from a pediatric population in the Intermountain West region of the United States. *J Clin Microbiol* 1997; 35: 2989-91.
- 112.-Yao S-M, Liaw G-J, Chen Y-Y, Yen M-H, Chen Y-H, Mu J-J, et al. Antimicrobial susceptibility testing of *Bordetella pertussis* in Taiwan prompted by a case of pertussis in a paediatric patient. *J Med Microbiol* 57: 1577-80.
- 113.-Fry N, Duncan J, Vaghji L, George R, Harrison T. Antimicrobial susceptibility testing of historical and recent clinical isolates of *Bordetella pertussis* in the United Kingdom using the Etest method. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2010; 29: 1183-5.
- 114.-Halperin S A, Bortolussi R, Langley J M, Miller B, Eastwood B J. Seven day of erythromycin estolate is as effective as fourteen days for treatment of *Bordetella pertussis* infections. *Pediatrics* 1997; 100: 65-70.
- 115.-Tozzi A E, Rava L, Ciofi degli Atti M L, Salmaso S. Clinical presentation of pertussis in unvaccinated and vaccinated children in the first six years of life. *Pediatrics* 2003; 112: 1069-75.
- 116.-Bergquist S, Bernander S, Dahnsjo H, Sundelof B. Erythromycin in the treatment of pertussis: a study of bacteriologic and clinical effects. *Pediatr Infect Dis J* 1987; 6: 458-61.
- 117.-Hoppe J E. The Erythromycin Study Group. Comparison of erythromycin estolate and erythromycin ethylsuccinate for treatment of pertussis. *Pediatr Infect Dis J* 1992; 11: 189-93.
- 118.-Kerr J R, Preston N W. Current pharmacotherapy of pertussis. *Expert Opin Pharmacother* 2001; 2: 1275-82.
- 119.-Steinberg J M, Srugo I. Reoccurrence of culture-positive pertussis in an infant initially treated with azithromycin and steroids. *Arch Pediatr Adolesc Med* 2002; 156: 1057-8.
- 120.-von König C H, Schmitt H J, Bogaerts H, et al. Factors influencing the spread of pertussis in households. *Eur J Pediatr* 1998; 157: 391-4.
- 121.-Committe on Infectious Diseases, American Academy of Pediatrics (2006) Pertussis. In: Pickering L K, Baker C J, Long S S, McMillan J A (eds) Red book: Report of the Committee on Infectious Diseases, 27th edn. Elk Grove Village, IL, pp 498-520.
- 122.-Morrison W. Infantile hypertrophic pyloric stenosis in infants treated with azithromycin. *Pediatr Infect Dis J* 2007; 26: 186-8.
- 123.-Cofré J. Quimioprofilaxis en coqueluche: ¿Sacar agua a canastos? *Rev Chilena Infectol* 2006; 23: 60-8.
- 124.-Altunajji S, Kukuruzovic R, Curtis N, Massie J. Antibiotics for whooping cough (pertussis). *Cochrane Database Syst Rev* 2005; 25 (1). Acceso 17 de noviembre de 2011.
- 125.-NHMRC-National Health and Medical Research Council. Pertussis en: The Australian Immunisation Handbook 8th ed.2003. <http://www.nhmrc.gov.au/publications/subjects/communicable.htm>. (Acceso 17 de noviembre de 2011).
- 126.-Dodhia H, Crowcroft NS, Bramley JC, Miller E. UK guidelines for use of erythromycin chemoprophylaxis in persons exposed to pertussis. *J Public Health Med* 2002; 24: 200-6.
- 127.-National Consensus Conference on Pertussis. Canada Communicable Disease Report. 2003. Volume 2953. <http://www.hc-sc.gc.ca/pphb-dgspsp>. (Acceso 17 de noviembre de 2011).
- 128.-Vigilancia epidemiológica y medidas de control de coqueluche (tos ferina). Disponible en: <http://epi.minsal.cl/epi/html/normas/circul/Circular-Coqueluche.pdf>. (Acceso 17 de noviembre de 2011).
- 129.-Donoso A, León J, Ramírez M, Rojas G, Oberpaar B. Pertussis and fatal pulmonary hypertension: a discouraged entity. *Scand J Infect Dis* 2005; 37: 145-8.
- 130.-Egan J, Clarke A, Williams S, Cole AD, Ayer J, Jacobs S, et al. Levosimendan for low cardiac output: a pediatric experience. *J Intensive Care Med* 2006; 21: 183-7.
- 131.-Verrijck R, De Wildt D J, Van Rooij H H, Wemer J, Porsius A J. Cardiovascular responses to milrinone in pertussis toxin-pretreated pithed rats. *Eur J Pharmacol* 1990; 191: 197-204.



- 132.-Hollenberg S. Vasoactive drugs in circulatory shock. *Am J Respir Crit Care Med* 2011; 183: 847-55.
- 133.-von Rosenstiel I, Plotz F. ECLS in pertussis: does it have a role? *Intensive Care Med* 1999; 25: 1341-2.
- 134.-Pooboni S, Roberts N, Westrope C, Jenkins D R, Killer H, Pandya H C, et al. Extracorporeal life support in pertussis. *Pediatr Pulmonol* 2003; 36: 310-5.
- 135.-Heiss L N, Lancaster J R Jr, Corbett J A, Goldman W E. Epithelial autotoxicity of nitric oxide: role in the respiratory cytopathology of pertussis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 269-70.
- 136.-Heiss L N, Moser S A, Unanue E R, Goldman W E. Interleukin-1 is linked to the respiratory epithelial cytopathology of pertussis. *Infect Immun*. 1993; 61: 3123-8.
- 137.-Hibbs J Jr, Taintor R, Vavrin Z, Granger D, Drapier, J, Amber I, et al. In nitric oxide from L-arginine: A bioregulatory system. *Moncada S & Higgs E A, eds. (Elsevier, Amsterdam), pp. 189-223.*
- 138.-Petros A, Pierce C. The management of pulmonary hypertension. *Pediatr Anaesth* 2006; 16: 816-21.
- 139.-Soares S, Rocha G, Pissarra S, Carriço A, Azevedo I, Sobrinho Simões J. Pertussis with severe pulmonary hypertension in a newborn with good outcome-case report. *Rev Port Pneumol* 2008; XIV: 687-92.
- 140.-Fraisse A, Wessel D. Acute pulmonary hypertension in infants and children: cGMP-related drugs. *Pediatr Crit Care Med* 2010; 11 (suppl): s37-s40.
- 141.-Farrow K, Fliman P, Steinhorn R H. The diseases treated with ECMO: focus on PPHN. *Semin Perinatol* 2005; 29: 8-14.
- 142.-Inwald D, Brown F, Gensini F, Malone M, Goldman A. Open lung biopsy in neonatal and paediatric patients referred for extracorporeal membrane oxygenation (ECMO). *Thorax* 2004; 59: 328-33.
- 143.-Bunin N J, Kunke L K, Callihan T R. Cytoreductive procedures in the early management in cases of leukemia and hyperleukocytosis in children. *Med Pediatr Oncol* 1987; 15: 232-5.
- 144.-Ulloa-Gutiérrez R, Boza R, Carvajal-Riggioni D, Baltodano A. Pertussis: should we improve intensive care management or vaccination strategies? *Expert Rev Vaccines* 2011; 10: 49-53.
- 145.-Ichimaru T, Ohara Y, Hojo M, Miyazaki S, Harano K, Totoki T. Treatment of severe pertussis by administration of specific gamma globulin with high titers anti-toxin antibody. *Acta Paediatr* 1993; 82: 1076-8.
- 146.-Granstrom M, Olinder-Nielsen A M, Holmblad P, Mark A, Hanngren K. Specific immunoglobulin for treatment of whooping cough. *Lancet* 1991; 338: 1230-3.
- 147.-Bruss J, Malley R, Halperin S, et al. Treatment of severe pertussis: a study of the safety and pharmacology of intravenous pertussis immunoglobulin. *Pediatr Infect Dis J* 1999; 18: 505-11.
- 148.-Bruss J, Siber G. Protective effects of pertussis immunoglobulin (P-IGIV) in the aerosol challenge model. *Clin Diagn Lab Immunol* 1999; 464-70.
- 149.-Halperin S, Vaudry W, Boucher F, Mackintosh K, Waggener T, Smith B. Is pertussis immune globulin efficacious for the treatment of hospitalized infants with pertussis? No answer yet. *Pediatr Infect Dis J* 2007; 26: 79-81.
- 150.-Perret C. Vacuna anti-pertussis para adolescentes y adultos. *Rev Chilena Infectol* 2006; 23: 257-60.
- 151.-Van der Wielen M, Van Damme P, Van ERC K, Schleger-Haueter S, Siegrist C A. Seroprevalence of *Bordetella pertussis* antibodies in Flandes (Belgium). *Vaccine* 2003; 21: 2412-7.
- 152.-Miller E, Gay N J. Epidemiological determinants of pertussis. *Dev Biol Stand* 1997; 89: 15-23.
- 153.-Wirsing von Köning C H, Postels-Multani S, Bock H L, Schmitt H J. Pertussis in adults: frequency of transmission after household exposure. *Lancet* 1995; 36: 1326-9.
- 154.-Halperin S A. The control of pertussis-2007 and beyond. *N Engl J Med* 2007; 356: 110-13.
- 155.-Wendelboe A, Van Rie A, Salmaso S, Englund J. Duration of immunity against pertussis after natural infection of vaccination. *Pediatr Infect Dis J* 2005; 24: S58-S61.
- 156.-Perret C, Viviani T, Peña A, Abarca K, Ferres M. Fuente de infección de *Bordetella pertussis* en lactantes hospitalizados por coqueluche. *Rev Med Chile* 2011; 139: 448-54.
- 157.-C.D.C. Preventing Tetanus, Diphtheria, and Pertussis among adolescents: Use of Tetanus Toxoid, Reduced Diphtheria Toxoid and Acellular Pertussis Vaccine *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2006; 55: 1-34.
- 158.-ADACEL™: Tdap Vaccine: Tetanus Toxoid, Reduced Diphtheria Toxoid and Acellular Pertussis Vaccine Absorbed. *VRBPAC Briefing: Document 2005 Sanofi Pasteur Limited. Pag 1-102.*
- 159.-FDA Approval Boostrix® 2009 *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 58 (14); 374-5.
- 160.-Libster R, Edwards K. How can we best prevent pertussis in infants? *Clin Infect Dis* 2012; 54: 85-7.
- 161.-Bisgard K, Pascual F, Ehresmann K, et al. Infant pertussis: who was the source? *Pediatr Infect Dis J* 2004; 23: 985-9.
- 162.-Castagnini L A, Muñoz F M. Clinical characteristics and outcomes of neonatal pertussis: a comparative study. *J Pediatr* 2010; 156: 498-500.
- 163.-Centers for Disease Control and Prevention. Updated Recommendations for Use of Tetanus Toxoid, Reduced Diphtheria Toxoid and Acellular Pertussis Vaccine (Tdap) in Pregnant Women and Persons Who Have or Anticipate Having Close Contact with an Infant Aged < 12 Months-Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2011; 60: 1424-6.
- 164.-J W, Zacher L L. Do newborns have passive immunity to pertussis? *Pediatr Infect Dis J* 1989; 8: 352-3.
- 165.-Forsyth K, Tan T, von König C H, Caro J J, Plotkin S. Potential strategies to reduce the burden of pertussis. *Pediatr Infect Dis J* 2005; 24: S69-74.
- 166.-Healy C M, Muñoz F M, Rensch M A, Halasa N B, Edwards K M, Baker C J. Prevalence of pertussis antibodies in maternal delivery cord and infant serum. *J Infect Dis* 2004; 190: 335-40.
- 167.-Burr J, Jenkins T, Harrison R, Meert K, Anand K, Berger J. The Collaborative Pediatric Critical Research Network Critical Pertussis Study: Collaborative research in pediatric care medicine. *Pediatr Crit Care Med* 2011; 12: 387-92.
- 168.-Jouvet P, Emeriaud G. Critical pertussis: an example of pediatric disease that necessitates a large collaborative network. *Pediatr Crit Care Med* 2011; 12: 467-8.
- 169.-Long S S. Pertussis (*Bordetella pertussis* and *Bordetella parapertussis*). In: *Nelson Textbook of Pediatrics. Eighteenth Edition. Kliegman R, Nelson WE (Eds). Philadelphia, Saunders, 2007, pp 1178-82.*