

Técnicas moleculares en el diagnóstico de *Bordetella pertussis*: una revisión bibliográfica de los avances y desafíos en el laboratorio clínico

*Molecular techniques used in the diagnosis of Bordetella pertussis: a literature
review of developments and challenges in clinical laboratory*

Michael Johana Medina Vargas*
Universidad Nacional de Chimborazo
Riobamba - Ecuador
johana.medina@unach.edu.ec
<https://orcid.org/0009-0004-0559-9312>

Maria del Carmen Cordovéz Martínez
Universidad Nacional de Chimborazo
Riobamba - Ecuador
mcardovez@unach.edu.ec
<https://orcid.org/0000-0001-7155-8499>

*Correspondencia:
johana.medina@unach.edu.ec

Cómo citar este artículo:
Medina, M., & Cordovéz, M. (2025). Técnicas moleculares en el diagnóstico de *Bordetella pertussis*: una revisión bibliográfica de los avances y desafíos en el laboratorio clínico. *Esprint Investigación*, 4(3), 248-262. <https://doi.org/10.61347/ei.v4i3.214>

Recibido: 31 de octubre de 2025
Aceptado: 5 de diciembre de 2025
Publicado: 8 de diciembre de 2025

Resumen: La tos ferina, causada por *Bordetella pertussis*, es una enfermedad respiratoria de relevancia global y especialmente peligrosa para lactantes y niños pequeños. A pesar de los programas de vacunación, la enfermedad permanece endémica y presenta brotes recurrentes, lo que constituye un desafío permanente para la salud pública. Esta revisión bibliográfica tiene como objetivo evaluar la aplicación de técnicas moleculares para el diagnóstico de la enfermedad. Se analizaron 119 estudios recuperados de bases de datos indexadas (MEDLINE, Scopus, ScienceDirect y Google Scholar), de los cuales se seleccionaron 20 publicados entre 2020 y 2025. Los resultados muestran que la PCR en tiempo real es el método predominante, utilizando principalmente los genes IS481 y ptxS1 como dianas moleculares. Técnicas emergentes como LAMP (amplificación isotérmica mediada por bucle) y plataformas basadas en CRISPR han demostrado alta sensibilidad (hasta 97,3 %) y especificidad (hasta 100 %), lo que las convierte en alternativas rápidas y prometedoras. Sin embargo, la implementación generalizada de estas metodologías enfrenta barreras importantes, como los elevados costos, la necesidad de personal capacitado y las limitaciones de infraestructura en entornos con pocos recursos. Además, la falta de estandarización de los protocolos continúa dificultando la comparabilidad entre estudios. Se concluye que, si bien los avances moleculares han transformado el diagnóstico y la vigilancia de *B. pertussis*, es indispensable superar los obstáculos operativos y económicos para garantizar un diagnóstico accesible y confiable, especialmente en las poblaciones más vulnerables.

Palabras clave: *Bordetella pertussis*, diagnóstico molecular, revisión bibliográfica, tosferina.

Abstract: Pertussis, caused by *Bordetella pertussis*, is a globally relevant respiratory disease and particularly dangerous for infants and children. Despite vaccination programs, the disease remains endemic with recurrent outbreaks, posing an ongoing public health challenge. This literature review evaluates the application of molecular techniques for its diagnosis, analysing 119 studies obtained from indexed databases (MEDLINE, Scopus, ScienceDirect, Google Scholar), of which 20 studies published between 2020 and 2025 were selected. The results identify real-time PCR as the predominant method, primarily targeting the IS481 and ptxS1 genes. Emerging techniques such as LAMP (loop-mediated isothermal amplification) and CRISPR-based systems demonstrate high sensitivity (up to 97.3%) and specificity (up to 100%), offering rapid and promising alternatives. However, widespread implementation faces significant barriers, including high costs, the need for specialized personnel, and limited infrastructure in resource-poor settings. The lack of standardized protocols also hinders the comparability of results. It is concluded that, while molecular advances have transformed the diagnosis and surveillance of *B. pertussis*, overcoming these operational and economic obstacles is crucial to ensuring accessible and reliable diagnosis, which is fundamental for disease control in the most vulnerable populations.

Keywords: Bibliographic review, *Bordetella pertussis*, molecular diagnosis, whooping cough.

Copyright: Derechos de autor 2025 Michael Johana Medina Vargas, Maria del Carmen Cordovéz Martínez.



Esta obra está bajo una licencia internacional Creative Commons Atribución-NoComercial 4.0.

1. Introducción

La infección por *Bordetella pertussis* (*B. pertussis*), conocida como tosferina, es una enfermedad respiratoria de relevancia global, particularmente peligrosa en lactantes, niños y personas con inmunidad reducida lo que hace que individuos de todas las edades sean susceptibles a ella. *B. pertussis* es un cocobacilo gramnegativo, aerobio estricto y no fermentador, capaz de oxidar aminoácidos como fuente de energía, y productor de varias toxinas que intervienen en las manifestaciones locales y sistémicas de la enfermedad (Murray et al., 2014). Pese a existir una amplia cobertura de vacunación, la tos ferina es endémica a nivel global, con picos epidémicos cada 2 a 5 años, y continúa siendo altamente contagiosa, representando un desafío para la salud pública (Juscamayta-López et al., 2022).

Globalmente, en la década del 2010, se notificaron aproximadamente 170 000 casos anuales; sin embargo, para el periodo 2020–2023 esta cifra se redujo a 80 227 pacientes por año. En la región de las Américas, durante 2022 se registró el menor número de casos con 3 283, cifra que aumentó a 4 139 en 2023 y a 43 751 en 2024 (OPS/OMS, 2025). En Ecuador se evidenció un aumento notable en los reportes de la infección, pasando de 15 a 593 casos entre 2023 y 2025, lo cual refleja la continuidad del problema y subraya la necesidad de fortalecer las estrategias de diagnóstico y vigilancia epidemiológica (Ministerio de Salud Pública, 2025).

Las estimaciones sugieren que América del Sur presenta la mayor carga de enfermedad, junto con otras regiones como el sudeste asiático y África, debido a métodos diagnósticos inconsistentes, capacidad limitada de laboratorio, sistemas de notificación incompletos y poca concienciación de la población y del personal de salud. Además de las diferencias en la calidad de los datos, la heterogeneidad espacial también puede verse influenciada por la variabilidad en las cepas circulantes, el tamaño de la población susceptible y las políticas nacionales de vacunación, que pueden afectar la diversidad local de cepas y la dinámica de transmisión (Wang et al., 2025).

La evolución genética de *B. pertussis*, con la aparición de cepas mutantes capaces de evadir la respuesta inmune inducida por las vacunas actuales, añade complejidad al diagnóstico y control de la enfermedad, lo que hace aún más urgente la implementación de técnicas moleculares sensibles y específicas que permitan una vigilancia más precisa de las cepas circulantes (Moraga-Llop et al., 2024; Rodríguez Arranz et al., 2022). Considerando que el aislamiento de esta bacteria requiere cultivos especializados, la detección rutinaria en laboratorios clínicos se basa en pruebas de amplificación de ácidos nucleicos (NAAT) (Zarbock et al., 2025). Los ensayos moleculares pueden estar dirigidos a detectar *B. pertussis* únicamente, a organismos estrechamente relacionados, o formar parte de paneles sindrómicos que incluyen otros patógenos respiratorios. En este contexto, la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) ha emergido como una herramienta diagnóstica fundamental, al ofrecer una sensibilidad superior (79–97 %) y resultados en pocas horas, permitiendo una detección más rápida y precisa del patógeno, incluso en etapas tempranas o con baja carga bacteriana (Pérez-Abeledo et al., 2023; Vásconez et al., 2021). Asimismo, otras técnicas moleculares como LAMP (loop-mediated isothermal amplification) han demostrado ser rápidas, sencillas y sensibles en el diagnóstico de enfermedades respiratorias como la tos ferina (Juscamayta-López et al., 2023).

No obstante, se reconocen desafíos importantes para su implementación generalizada, como el costo elevado de equipos y reactivos, la necesidad de personal especializado, la infraestructura limitada en muchos laboratorios y la falta de estandarización de protocolos, lo que dificulta su acceso en países con recursos limitados (OPS/OMS, 2025; Vásconez et al., 2021). Dentro de este contexto, es fundamental que los laboratorios clínicos superen las barreras técnicas, económicas y operativas para implementar o mejorar el uso de técnicas moleculares, con el fin de garantizar un diagnóstico más

rápido, accesible y confiable frente a los métodos tradicionales, contribuyendo así a un mejor control epidemiológico y a la reducción de la carga de tos ferina en la población vulnerable.

El objetivo del presente estudio es evaluar la aplicación de técnicas moleculares en el diagnóstico de *B. pertussis*, mediante una revisión bibliográfica de 20 artículos de la literatura científica publicados entre enero de 2020 y septiembre de 2025 en bases de datos indexadas (MEDLINE, Scopus, ScienceDirect y Google Scholar), con el fin de identificar los avances tecnológicos y los desafíos operativos que enfrentan los laboratorios clínicos.

Los objetivos específicos planteados fueron analizar las principales técnicas moleculares, así como los marcadores genéticos más utilizados en el diagnóstico de *Bordetella pertussis*, investigar las manifestaciones clínicas más frecuentes de la tosferina y las edades más afectadas, identificar los principales desafíos operativos, técnicos y económicos que enfrentan los laboratorios clínicos para implementar estas técnicas de diagnóstico y revisar las recomendaciones y guías internacionales de los CDC, OMS y ECDC para la estandarización y validación de pruebas moleculares en el diagnóstico de *Bordetella pertussis*.

2. Metodología

El presente estudio se realizó siguiendo las directrices de la declaración PRISMA 2020 (*Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses*) para garantizar la transparencia, reproducibilidad y calidad metodológica del proceso de búsqueda, selección y síntesis de la evidencia científica. El enfoque de este trabajo investigativo fue cualitativo, con alcance descriptivo y diseño no experimental de corte longitudinal. Para esta revisión se definieron los criterios de elegibilidad, las fuentes de información, la estrategia de búsqueda y los métodos de síntesis de datos.

Pregunta de investigación

La pregunta de investigación se estructuró bajo el formato PICO adaptado para estudios diagnósticos:

- **Población:** pacientes con sospecha clínica de tosferina o muestras clínicas y técnicas moleculares aplicadas a su diagnóstico.
- **Intervención/Índice:** Aplicación de técnicas moleculares para el diagnóstico (PCR convencional, PCR en tiempo real, PCR multiplex, LAMP, secuenciación, entre otras).
- **Comparación:** Comparación del rendimiento entre las diferentes técnicas, o cuando esté disponible, con métodos tradicionales (cultivo).
- **Outcomes/Resultados:** Avances en técnicas moleculares, sensibilidad, especificidad, desafíos operativos en laboratorio clínico.
- **Pregunta principal:** ¿Qué técnicas moleculares —como PCR en tiempo real, LAMP y sistemas CRISPR— presentan el mejor rendimiento diagnóstico para *Bordetella pertussis*, y qué barreras limitan su implementación en laboratorios clínicos?

Criterios de elegibilidad

Los criterios de inclusión fueron estudios publicados entre enero de 2020 y septiembre de 2025, en español o inglés que incluyeran: estudios de exactitud/precisión diagnóstica (*diagnostic accuracy studies*), estudios de validación de técnicas moleculares con estándar de referencia definido, estudios comparativos de métodos diagnósticos (*head-to-head comparisons*), estudios observacionales

prospectivos o retrospectivos que evalúen desempeño diagnóstico, estudios metodológicos que reporten desafíos operativos específicos del laboratorio clínico, estudios de implementación con evaluación de factibilidad y barreras.

Asimismo, se incluyeron estudios que presentaran una descripción clara del protocolo de la técnica molecular utilizada, definición del estándar de referencia o método comparador, y reporte de al menos dos parámetros de desempeño diagnóstico (sensibilidad, especificidad, VPP, VPN, LOD u otros). Se consideraron estudios realizados en humanos de cualquier grupo etario (neonatos, niños, adolescentes, adultos), así como estudios *in vitro* o metodológicos que evaluaran técnicas moleculares para el diagnóstico de *B. pertussis*, en los que se aplicara cualquier técnica molecular, incluyendo PCR convencional, PCR en tiempo real (qPCR/RT-PCR), PCR multiplex, LAMP (loop-mediated isothermal amplification), secuenciación genómica (Sanger, NGS, WGS) u otras técnicas de amplificación de ácidos nucleicos.

Por otro lado, los criterios de exclusión establecidos fueron: revisiones sistemáticas, metaanálisis, revisiones narrativas o de literatura, editoriales, cartas al editor, comentarios sin datos originales, resúmenes de congresos sin texto completo disponible, estudios sin estándar de referencia o método comparador definido, estudios que no reporten parámetros de desempeño diagnóstico, estudios que no especifiquen la técnica molecular utilizada, artículos duplicados, estudios publicados en idiomas diferentes al inglés o español, estudios fuera del periodo temporal establecido.

Fuentes de información y estrategia de búsqueda

Se realizó una búsqueda sistemática en las siguientes bases de datos electrónicas: PubMed, Scopus, ScienceDirect y Google Scholar. Adicionalmente, se revisaron las listas de referencias de los artículos incluidos para identificar estudios potencialmente relevantes que no hubieran sido recuperados en la búsqueda inicial (búsqueda manual o "snowballing").

Se desarrolló una estrategia de búsqueda sensible y reproducible utilizando términos MeSH (Medical Subject Headings), términos libres y operadores booleanos. .

Proceso de selección de estudios

El proceso de selección se llevó a cabo en tres fases. En la primera fase, cada uno de los registros recuperados de las diferentes bases de datos fue exportado a un gestor de referencias (Mendeley, 2025), y se eliminaron los duplicados de forma automatizada y manual. En la segunda fase, se realizó un cribado mediante la lectura del título y el resumen de cada registro para determinar su elegibilidad preliminar según los criterios establecidos. Finalmente, en la tercera fase, se efectuó una evaluación del texto completo; los artículos que superaron el cribado inicial fueron recuperados en texto completo y evaluados exhaustivamente para confirmar su elegibilidad. Asimismo, se documentaron las razones de exclusión de los estudios rechazados en esta fase. El proceso de selección fue documentado mediante un diagrama de flujo PRISMA 2020 (figura 1), registrándose el número de estudios en cada fase y las razones de exclusión. La tabla 1 presenta las estrategias de búsqueda empleadas en las diferentes bases de datos consultadas durante el proceso de identificación de estudios, siguiendo las directrices del PRISMA 2020.

Proceso de extracción de datos

Para este proceso, se diseñó un protocolo estandarizado de extracción que incluyó las siguientes variables: características generales del estudio, técnicas moleculares evaluadas, marcadores genéticos

utilizados, tipo de muestra, desempeño diagnóstico (sensibilidad, especificidad) y desafíos operativos reportados.

Uso de inteligencia artificial

Con el fin de estructurar la información de forma clara y precisa, se empleó la herramienta de inteligencia artificial Claude AI (Claude, 2025).

Tabla 1

Estrategias de búsqueda y número de estudios identificados en cada base de datos según PRISMA 2020

Base de datos	Estrategia de búsqueda	Estudios
PubMed	((("Bordetella pertussis"[MeSH Terms] OR "Bordetella pertussis"[All Fields] OR "B. pertussis"[All Fields] OR "pertussis"[All Fields] OR "whooping cough"[All Fields])) AND (("Molecular Diagnostic Techniques"[MeSH Terms] OR "molecular diagnosis"[All Fields] OR "PCR"[All Fields] OR "polymerase chain reaction"[All Fields] OR "real-time PCR"[All Fields] OR "qPCR"[All Fields] OR "multiplex PCR"[All Fields] OR "LAMP"[All Fields] OR "loop-mediated isothermal amplification"[All Fields] OR "nucleic acid amplification"[All Fields] OR "NAAT"[All Fields] OR "sequencing"[All Fields] OR "next-generation sequencing"[All Fields] OR "NGS"[All Fields])) AND (("diagnosis"[MeSH Terms] OR "diagnosis"[All Fields] OR "diagnostic"[All Fields] OR "detection"[All Fields] OR "laboratory"[All Fields] OR "clinical laboratory"[All Fields])) AND ((2020/01/01:2025/09/30[Date - Publication])) AND (English[Language] OR Spanish[Language])	4
Scopus	TITLE-ABS-KEY (("Bordetella pertussis" OR "B. pertussis" OR pertussis OR "whooping cough" OR "tos ferina") AND ("molecular diagnosis" OR "molecular diagnostic" OR PCR OR "polymerase chain reaction" OR "real-time PCR" OR qPCR OR "RT-PCR" OR "multiplex PCR" OR LAMP OR "loop-mediated isothermal amplification" OR "nucleic acid amplification" OR NAAT OR sequencing OR "next-generation sequencing" OR NGS OR "whole genome sequencing" OR "molecular detection" OR "molecular methods") AND (diagnosis OR diagnostic OR detection OR laboratory OR "clinical laboratory")) AND PUBYEAR > 2019 AND PUBYEAR < 2026 AND (LIMIT-TO (LANGUAGE, "English") OR LIMIT-TO (LANGUAGE, "Spanish"))	21
ScienceDirect	("Bordetella pertussis" OR "B. pertussis" OR pertussis) AND (PCR OR "molecular diagnosis" OR "molecular diagnostic" OR LAMP OR sequencing OR "nucleic acid amplification")	25
Google Scholar	"Bordetella pertussis" OR pertussis ("molecular diagnosis" OR PCR OR "molecular detection" OR LAMP OR sequencing) (diagnosis OR detection OR laboratory)	69
TOTAL		119

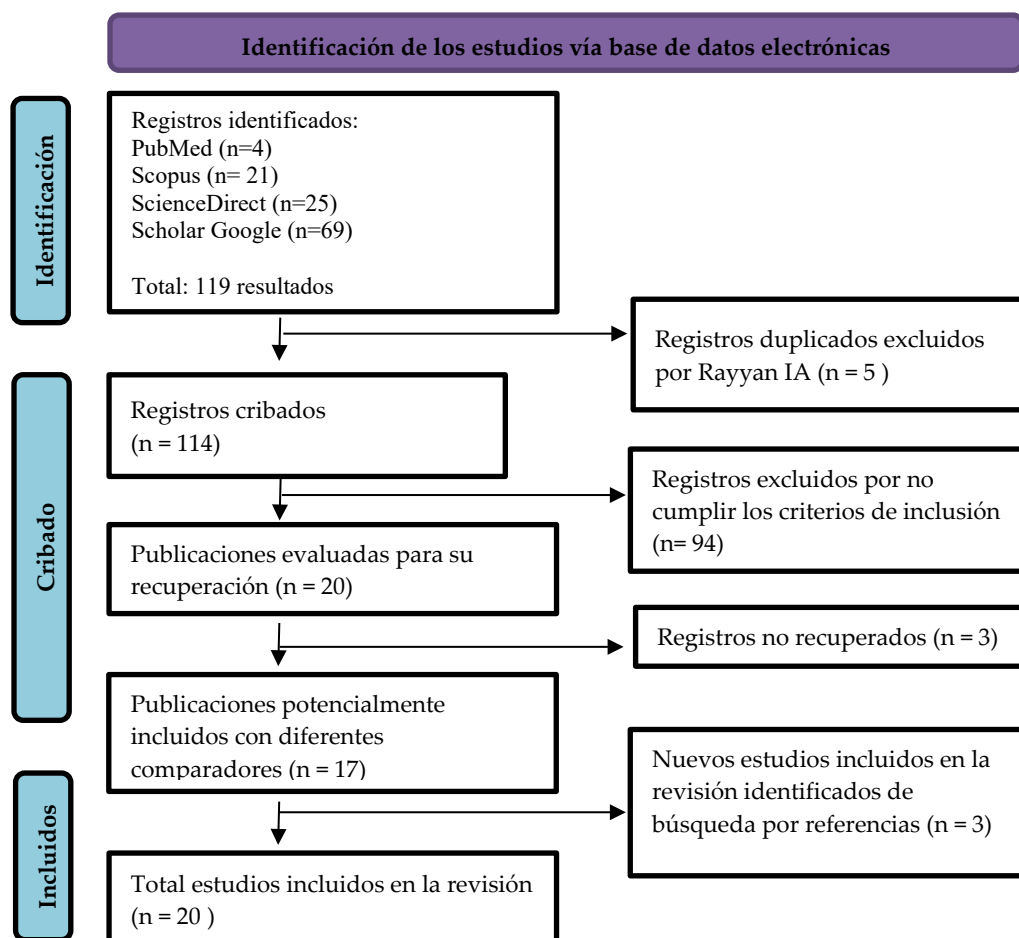
3. Resultados

Búsqueda de estudios

La búsqueda de artículos siguiendo los parámetros de PRISMA 2020 se hizo empleando la inteligencia artificial Rayyan, una IA que ayuda a agilizar la selección inicial de resúmenes y títulos mediante un proceso de semiautomatización que incorpora un alto nivel de usabilidad y sensibilidad (Ouzzani et al., 2016). En base a ello, de las bases de datos se recuperaron un total de 119 artículos, 5 de estos fueron eliminados al ser detectados como estudios duplicados; posteriormente, se excluyeron de la revisión sistemática 94 estudios los cuales no cumplían los criterios de inclusión, finalmente, se excluyeron 3 artículos de los cuales no se logró recuperar el texto completo quedando dentro de la revisión 17 artículos. Con la finalidad de obtener un mínimo de 20 artículos se agregaron 3 nuevos estudios a través de una búsqueda por referencias (Figura 1).

Figura 1

Diagrama de flujo sobre el proceso de selección de acuerdo con PRISMA



Análisis descriptivo y estudios incluidos

Las principales características de estos estudios se presentan en la tabla 2. A partir de los datos disponibles, se observa que en el tipo de prueba molecular destaca el uso de PCR y sus variaciones, como PCR en tiempo real y multiplex (13/20). Además, se emplearon otras técnicas como LAMP (amplificación isotérmica) y sus variantes (LAMP-LFB), MCDA-LFB (amplificación por desplazamiento múltiple), sistemas basados en CRISPR (ORCD) y métodos de secuenciación (WGS, SBE, Oxford Nanopore).

En cuanto a la frecuencia de utilización de los genes diana, destaca el gen IS481, presente en 9/20 estudios y considerado el marcador molecular más empleado debido a su alta sensibilidad. Asimismo, en 5/20 estudios se seleccionó el gen ptxS1 como objetivo para confirmar la presencia de *B. pertussis*, al tratarse de una región promotora de la toxina *pertussis*. Otros marcadores moleculares empleados fueron 16S rRNA, ptxP, ptxA-Pr, IS1663, SNPs y VNTR.

Respecto al tipo de muestra empleada en los estudios, la mayoría corresponde a hisopados nasofaríngeos, aunque también se utilizaron otras como esputo, lavados broncoalveolares y aspirados nasofaríngeos. Es importante señalar que el volumen de muestra y los límites de detección varían entre estudios, lo que determina diferencias en el rendimiento diagnóstico de las técnicas moleculares.

En cuanto a la sensibilidad, esta varió entre 78,9 % y 100 %, con técnicas como LAMP-LFB y ORCD alcanzando valores superiores al 97 %. Por otra parte, la especificidad fue generalmente alta (71,2 %–100 %), especialmente en técnicas que emplean dianas específicas como ptxS1 o IS1663. También es relevante mencionar que la positividad osciló entre el 1 % a nivel global, según lo reportado por Ghez et al. (2022), y hasta el 100 % en lo informado por Vasudevan et al. (2020), lo que refleja diferencias en la prevalencia y en la sensibilidad de las técnicas utilizadas.

Tabla 2

Técnicas moleculares empleadas en los estudios para el diagnóstico de tosferina

Referencia	Técnica molecular	Gen objetivo	Muestra	Total de muestra	Sensibilidad	Especificidad
(Zhu et al., 2025)	PCR Fluorescente Múltiple (SYBR Green)	16S rRNA (Región específica para <i>B. pertussis</i>)	Muestras respiratorias (esputo, hisopos faríngeos, LBA)	22/296	95,7%	99,6%
(Hu et al., 2024)	Quadruplex Real-Time PCR	ptxS1, IS481	Hisopado nasofaríngeo	No especificado	19,8% (tasa de detección de <i>B. pertussis</i>)	No reportada (distingue especies de <i>Bordetella</i>)
(Ding et al., 2023)	qPCR (PCR cuantitativa)	IS481	Hisopados nasofaríngeos	29/111 (Grupo <i>pertussis</i>)	Ct ≤38 (umbral positivo)	100% para <i>B. pertussis</i> (no detectado en grupos RSV y control)
(del Valle-Mendoza et al., 2021)	PCR en tiempo real	IS481	Hisopado nasofaríngeo	33/78 positivos	No reportada	No reportada
(Saedi et al., 2021)	PCR en tiempo real	IS481, ptxP	Aislados clínicos	130/130	No reportada	No reportada
(Lee et al., 2023)	RT-PCR Múltiple (Allplex RP4)	IS481	Hisopado nasofaríngeo	3/271	No reportada	No reportada
(Vásconez et al., 2021)	PCR	IS481 y ptxA-Pr	Hisopado nasofaríngeo	30/86	78,9%	71,2%
(Cabal et al., 2021)	Secuenciación de Genoma Completo (WGS) y cgMLST	Genoma completo (2,983 dianas del genoma central)	Hisopado nasofaríngeo	No especificado	No reportada (estudio de vigilancia)	Alta resolución para distinción de cepas y agrupación en clusters
(Kamachi et al., 2021)	SBE (Extensión de Base Única)	20 SNPs (ej. BP0063, gyrA, etc.)	Aislamientos	237/237	No reportada	No reportada
(Koide et al., 2022)	PCR en tiempo real (duplex Cycleave) y MLVA	Genes de ARNr 23S (para mutación A2047G) y VNTR (para genotipado MLVA)	Hisopado nasofaríngeo, lavado nasal, ADN de aislamientos	283/286	94% (tasa de resultado completo para A2047G)	No reportada para la PCR. Alta especificidad del genotipado MLVA.
(Ghez et al., 2022)	PCR	IS481	Hisopado nasofaríngeo	32/2760	1% (tasa de positividad global)	80%

Referencia	Técnica molecular	Gen objetivo	Muestra	Total de muestra	Sensibilidad	Especificidad
(Vasudevan et al., 2020)	Oxford Nanopore MinION y Ion Torrent secuenciación	Genoma completo	ADN genómico purificado	1/1 (100%)	No reportada	No reportada
(Mathisen et al., 2021)	PCR en tiempo real (TaqMan)	No especificado	Aspirado nasofaríngeo	2/610	No reportada	No reportada
(Cole et al., 2024)	PCR en tiempo real (rt-PCR)	IS481 (200–250 copias) y ptxS1 (gen de la toxina <i>pertussis</i> , diana única)	Muestras clínicas del tracto respiratorio superior	3663/3984	87% concordancia para <i>B. pertussis</i> (3124/3663)	98% concordancia para <i>B. parapertussis</i> ; 1.4% <i>B. holmesii</i> detectado
(Gunning et al., 2023)	PCR en tiempo real (qPCR)	IS481	Hisopado nasofaríngeo	670/8390	No reportada	No reportada
(Li et al., 2020)	MCDA-LFB	Región promotora de la toxina <i>pertussis</i> (PT)	Hisopado nasofaríngeo	31/67	10 fg ADN por reacción (~2 copias)	Alta aplicando como detector objetivo la región promotor PT
(Sun et al., 2022)	LAMP-LFB	Gen promotor de la toxina <i>pertussis</i> (PT)	Hisopado nasofaríngeo	44/108 (LAMP-LFB) 42/108 (qPCR)	50 fg ADN por reacción (~12 copias)	100% (Sin reactividad cruzada con 37 cepas no- <i>B. pertussis</i>)
(Viswanathan et al., 2022)	PCR multiplex en tiempo real	IS481 y ptxS1	Hisopados nasofaríngeos	6/45	No reportada	No reportada
(Juscamayta-López et al., 2022)	LAMP	IS481	Hisopado nasofaríngeo	100/150	89%	98,5%
(Lin et al., 2023)	Sistema ORCD (detección RPA-CRISPR en un solo paso) basado en Cas12a	IS1663	Hisopado nasofaríngeo	36/82	97.30% (vs. PCR)	100% (vs. PCR)

Nota. MCDA-LFB (Amplificación de desplazamiento cruzado múltiple acoplada a biosensor de flujo lateral), LAMP-LFB (amplificación isotérmica mediada por bucle - biosensor de flujo lateral basado en nanopartículas), fg (femtogramos), PCR (reacción en cadena de la polimerasa), RPA-CRISPR (Amplificación de la polimerasa recombinasa - Repeticiones palindrómicas cortas agrupadas y regularmente interespaciadas), rRNA (ARN ribosomal), SNP (polimorfismos de un solo nucleótido), VNTR (repetición en tándem de número variable), LBA (Lavado broncoalveolar), PT (Toxina *pertussis*).

4. Discusión

En base a la revisión bibliográfica realizada sobre las técnicas moleculares usadas en el diagnóstico de *Bordetella pertussis* se identificaron los avances tecnológicos y desafíos operativos que enfrentan los laboratorios clínicos. Los resultados obtenidos a partir de una revisión de 20 estudios publicados entre 2020 y 2025 evidencian un panorama heterogéneo en cuanto a las metodologías empleadas, los marcadores genéticos seleccionados y el desempeño diagnóstico reportado, lo cual refleja tanto los avances significativos en el campo del diagnóstico molecular como las persistentes barreras para su implementación estandarizada.

El análisis de los artículos mostró que la PCR y sus variantes se mantienen como la técnica molecular ampliamente implementada, estando presentes en 13 de las 20 investigaciones analizadas (65%). Zarbock et al. (2025) en su estudio ya destaca la importancia de las pruebas de amplificación de ácidos nucleicos como base en la detección rutinaria de la bacteria causante de tos ferina en los laboratorios clínicos. Hu et al. (2024) por su parte demostraron la utilidad de la PCR en tiempo real (qPCR) gracias a su capacidad de cuantificación y detección simultánea de múltiples dianas. Asimismo, Hu et al. (2024) y Cole et al. (2024) destacan el uso de sistemas multiplex para diferenciar especies de *Bordetella* para evitar falsos positivos y optimizar el flujo de trabajo diagnóstico.

Sin embargo, los hallazgos también destacan la emergencia de procedimientos alternativos como LAMP (amplificación isotérmica mediada por bucle), presente en tres estudios, y técnicas más innovadoras como MCDA-LFB y sistemas basados en CRISPR. Lin et al. (2023), quienes reportan el uso del sistema ORCD demostraron que se logra alcanzar una sensibilidad del 97,30% y especificidad del 100%, valores comparables o superiores a la PCR convencional, lo cual sugiere que estas tecnologías de nueva generación serían alternativas viables, dentro de regiones con recursos limitados. De la misma manera, Juscamayta-López et al. (2022) demostraron que LAMP es capaz de alcanzar una sensibilidad del 89% y una especificidad del 98,5%, además, para este método se destaca la facilidad de manejo al no requerir equipos complejos, lo cual concuerda con estudios previos que resaltan el potencial de las técnicas isotérmicas para descentralizar el diagnóstico (Nörz et al., 2021).

Respecto a los marcadores moleculares, el gen IS481 fue el más frecuentemente utilizado (9/20 estudios, 45%). Lo evidenciado en la presente revisión concuerda con lo planteado por organismos internacionales, dado que este gen al ser específico para *B. pertussis* presenta una alta sensibilidad derivada de la presencia de múltiples copias en el genoma de la bacteria (Tatti et al., 2008). No obstante, es importante mencionar que el uso exclusivo del gen IS481 presenta limitaciones importantes relacionadas con la especificidad, dado que este elemento de inserción también está presente en otras especies de *Bordetella*, incluyendo *B. holmesii* y *B. bronchiseptica* (Pérez-Abeledo et al., 2023). Algo similar se observó en la investigación de Cole et al. (2024) donde el 1,4% de las muestras positivas correspondieron a *B. holmesii*, lo que muestra la necesidad de emplear métodos diagnósticos de confirmación adicionales.

El uso de ptxS1 como gen objetivo en cinco estudios (25%) representa un avance significativo hacia la especificidad diagnóstica, ya que este marcador, asociado a la región promotora de la toxina *pertussis*, es exclusivo de *B. pertussis* (European Centre for Disease Prevention and Control, 2022). Cole et al. (2024) reportaron una concordancia del 87% para *B. pertussis* al emplear un enfoque dual con los genes IS481 y ptxS1, lo cual demostró que la combinación de múltiples genes objetivo ayuda a optimizar la sensibilidad y la especificidad del diagnóstico. Este tipo de combinaciones sigue las directrices del Centro de Control de Enfermedad (CDC), que recomiendan el uso de al menos dos dianas genéticas diferentes para la confirmación de casos (Rubis et al., 2024).

En lo que respecta al análisis comparativo del desempeño diagnóstico se reveló que existe variabilidad en los parámetros reportados. Vásconez et al. (2021) reportaron una sensibilidad de 78,9%, por su parte, Sun et al. (2022) reportó valores cercanos al 100% con la técnica LAMP-LFB y el sistema ORCD reportado por Lin et al. (2023). Esta heterogeneidad se encuentra asociada a múltiples factores, dentro de los cuales se incluyen los estándares de referencia utilizados, la calidad de las muestras procesadas, el momento de recolección en el curso de la enfermedad y las características de diseño de los cebadores empleados (Rubis et al., 2024). En lo que respecta a ello, Zhu et al. (2025) reportaron una sensibilidad del 95,7% y especificidad del 99,6% empleando PCR fluorescente múltiple dirigida al gen 16S rRNA, demostrando un alto rendimiento diagnóstico; sin embargo, si se considera

la positividad global para *B. pertussis*, se observan datos preocupantes respecto a la posibilidad de la presencia de falsos positivos, esto dado que Ghez et al. (2022) reportaron valores de 1%, mientras que Hu et al. (2024) reportó valores de 19,8%; es importante destacar que estos casos se presentan en contextos de baja prevalencia.

La posibilidad de existir falsos positivos está directamente ligada a la prevalencia de la enfermedad en la población estudiada (Leontari et al., 2025). La especificidad reportada fue generalmente alta (71,2%–100%), siendo particularmente elevada en estudios que emplearon genes específicos como *ptxS1* o *IS1663*. No obstante, el trabajo de Vásconez et al. (2021) reportó una precisión del 71,2%, siendo la más baja entre los estudios analizados, dentro de las posibles causas para el valor reportado se destaca el uso único del gen *IS481*, lo cual marcaría limitaciones en el desarrollo experimental del estudio. lo cual podría estar relacionado con el uso de *IS481* como única diana o con limitaciones en el diseño experimental. Estos hallazgos refuerzan la importancia de implementar protocolos diagnósticos precisos en donde se incluyan pasos para confirmar genes objetivo-secundarios, especialmente en contextos epidemiológicos complejos (Bouda et al., 2025).

En lo referente a manifestaciones clínicas y grupos etarios afectados, si bien, el análisis de estos parámetros no fue el objetivo central de los artículos evaluados, estos muestran información relevante al respecto. Por ejemplo, Ding et al. (2023) identificó 29 casos positivos de 111 pacientes con sospecha clínica, encontrando que la presentación típica de tos paroxística fue más frecuente en lactantes y niños menores de 5 años, concordante con los datos epidemiológicos que identifican a este grupo como el de mayor riesgo de enfermedad grave y mortalidad (Leontari et al., 2025). Por su parte, del Valle-Mendoza et al. (2021) reportaron que entre 78 pacientes con síndrome coqueluchoide, 33 fueron positivos para *B. pertussis*, destacando que en adolescentes y adultos la presentación clínica fue frecuentemente atípica, y esta se caracterizaba por la presencia de una tos persistente sin el paroxismo clásico ni el estridor inspiratorio característico de la toserina. Los datos presentados son consistentes con los presentes en la investigación de Xu et al. (2021), donde describen cómo la inmunidad derivada de la vacunación o infecciones previas puede modificar la presentación clínica, resultando en formas más leves, pero potencialmente transmisibles de la enfermedad. Por su parte, Mathisen et al. (2021) identificaron únicamente 2 pacientes positivos de entre 610 aspirados nasofaríngeos analizados, lo cual, si bien representa una baja positividad, subraya la importancia de mantener un alto índice de sospecha clínica y emplear métodos diagnósticos sensibles, especialmente en contextos de brotes epidémicos. La baja tasa de detección también podría reflejar el momento de recolección de la muestra en relación con el inicio de los síntomas, dado que la sensibilidad de la PCR disminuye significativamente después de las tres primeras semanas de tos (Rubis et al., 2024).

Dentro del análisis también se tomó en consideración los desafíos identificados en la implementación de técnicas moleculares para el diagnóstico de *B. pertussis*, mismos que son multifactorialmente complejos e incluyen barreras técnicas, económicas y operativas. Desde una perspectiva técnica, la inexistencia de protocolos estandarizados representa un desafío fundamental, también, se consideran los diferentes volúmenes de muestra, condiciones de amplificación, dianas genéticas y criterios de interpretación de resultados, mismos que dificultan la comparabilidad entre laboratorios y la implementación de programas de control de calidad robustos. OPS/OMS (2025) ya ha resaltado estas inexactitudes como una barrera crítica para la vigilancia epidemiológica global de la toserina.

A esto se une la falta de personal altamente cualificado, dado que para implementar técnicas moleculares como la secuenciación de genoma completo (WGS) es necesario tener una buena preparación sobre el tema. Esta limitación es particularmente relevante en países de ingresos medios

y bajos, donde la formación continua de los profesionales del laboratorio enfrenta restricciones presupuestarias y logísticas (Muloiwa et al., 2020). Desde la perspectiva económica, el costo de equipamiento y reactivos representa una barrera importante. La implementación de estas metodologías aún requiere inversión inicial en equipamiento de amplificación y detección. La infraestructura de laboratorio constituye un desafío adicional. Sin embargo, estas tecnologías requieren no solo equipamiento especializado sino también capacidad de almacenamiento y procesamiento de datos que exceden las posibilidades de muchos laboratorios clínicos de nivel básico.

Las directrices internacionales de organismos como los CDC, la OMS y el ECDC enfatizan la necesidad de protocolos diagnósticos estandarizados que combinen múltiples marcadores moleculares para optimizar tanto la sensibilidad como la especificidad del diagnóstico (European Centre for Disease Prevention and Control, 2022). El ECDC publicó en 2022 guías actualizadas que incluyen recomendaciones sobre el tipo de muestra (aspirado o hisopado nasofaríngeo), momento óptimo de recolección (durante las primeras tres semanas de tos), condiciones de transporte y almacenamiento, y criterios de interpretación de resultados.

Estas directrices también abordan la importancia de la vigilancia molecular mediante técnicas de caracterización genética como MLVA (*multilocus variable-number tandem-repeat analysis*) y WGS para el monitoreo de cepas circulantes y la detección de cambios antigénicos (European Centre for Disease Prevention and Control, 2022). Los estudios de Kamachi et al. (2021) y Cabal et al. (2021) demostraron la utilidad de la caracterización molecular mediante SBE y cgMLST respectivamente, para la vigilancia epidemiológica y la identificación de clusters de transmisión. Estas tecnologías, alineadas con las recomendaciones internacionales, permiten no solo el diagnóstico sino también el seguimiento de la evolución genética del microorganismo, incluyendo la identificación de cepas con mutaciones en genes de antígenos vacunales como ptxP3, que se asocian con el resurgimiento de la tosferina en poblaciones altamente vacunadas (Macina & Evans, 2021).

5. Conclusiones

Las técnicas moleculares han revolucionado el diagnóstico de *B. pertussis*, ofreciendo alta sensibilidad y rapidez. Sin embargo, su implementación generalizada sigue enfrentando desafíos económicos, técnicos y logísticos, especialmente en regiones con menos recursos. La adopción de técnicas alternativas como LAMP y CRISPR, junto con la estandarización de protocolos, podría facilitar el acceso a diagnósticos precisos y contribuir a un mejor control de la tos ferina a nivel global. Es importante destacar que, aunque la PCR no se mostró en todas las investigaciones como el procedimiento más sensible y eficiente, es la técnica más fácil de implementar, y su sensibilidad mejora cuando se emplean marcadores moleculares combinados.

Referencias

- Bouda, E., Peng, Y., Williams, M., Cassiday, P., Skoff, T., Ju, H., Fueston, H., Kurien, D., Morales, D., Cole, M., Travanty, E., Santoro, D., Snippes, P., Mitchell, K., Martinez, M., Unoarumhi, Y., Bentz, M., Nobles, S., Heuser, J., ... Weigand, M. (2025). *Bordetella pertussis* exhibits genomic diversity within patients and laboratory culture. *MSystems*, 10(7). <https://doi.org/10.1128/MSYSTEMS.01717-24>
- Cabal, A., Schmid, D., Hell, M., Chakeri, A., Mustafa-Korning, E., Wojna, A., Stöger, A., Möst, J., Leitner, E., & Hyden, P. (2021). Isolate-based surveillance of *Bordetella pertussis*, Austria, 2018–2020. *Emerging Infectious Diseases*, 27(3), 862–871. <https://doi.org/10.3201/eid2703.202314>
- Cole, M., Simon, A., Faulkner, A., Skoff, T., Tondella, M., Montero, C., & Nye, M. (2024). *Comparison of Bordetella species identification among differing rt-PCR assays in the United States*. 12(8), 1–12. <https://doi.org/10.1128/spectrum.00783-24>
- del Valle-Mendoza, J., del Valle-Vargas, C., Aquino-Ortega, R., del Valle, L., Cieza-Mora, E., Silva-Caso, W., Bazán-Mayra, J., Zavaleta-Gavidia, V., Aguilar-Luis, M., Cornejo-Pacherres, H., Martins-Luna, J., & Cornejo-Tapia, A. (2021). Clinical characteristics and molecular detection of *Bordetella pertussis* in hospitalized children with a clinical diagnosis of whooping cough in Peru. *Iranian Journal of Microbiology*, 13(1), 23–30. <https://doi.org/10.18502/IJM.V13I1.5488>
- Ding, Y., Wang, Q., Li, D., Li, Y., Yao, K., & Wang, T. (2023). Differences in the effects of *Bordetella pertussis* and respiratory syncytial virus infection on the composition of nasopharyngeal flora in neonates. *Frontiers in Pediatrics*, 11, 1034147. <https://doi.org/10.3389/FPED.2023.1034147>
- European Centre for Disease Prevention and Control. (2022). *Laboratory diagnosis and molecular surveillance of Bordetella pertussis*. <https://doi.org/10.2900/35054>
- Ghez, N., Mazenq, J., Bosdure, E., Dubourg, G., Morand, A., & Dubus, J. (2022). Real-life requests for *Bordetella* polymerase chain reaction testing in children presenting to hospital. *Archives de Pédiatrie*, 29(1), 72–74. <https://doi.org/10.1016/j.arcped.2021.11.003>
- Gunning, C., Rohani, P., Mwananyanda, L., Kwenda, G., Mupila, Z., & Gill, C. (2023). Young Zambian infants with symptomatic RSV and *pertussis* infections are frequently prescribed inappropriate antibiotics: a retrospective analysis. *PeerJ*, 11, 1–18. <https://doi.org/10.7717/PEERJ.15175>
- Hu, Y., Shi, W., Meng, Q., Yuan, L., Gao, W., Wang, L., & Yao, K. (2024). Detection of *Bordetella* spp. in children with *pertussis*-like illness from 2018 to 2024 in China. *Journal of Infection*, 89(3), 106222. <https://doi.org/10.1016/J.JINF.2024.106222>
- Juscamayta-López, E., Valdivia, F., Soto, M., Horna, H., & Nureña, B. (2022). Direct amplification of *Bordetella pertussis* DNA purified from nasopharyngeal swabs by a low-cost, fast (60-second), and equipment-free method. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica*, 39(3), 312–320. <https://doi.org/10.17843/rpmesp.2022.393.10865>
- Kamachi, K., Yao, S., Chiang, C., Koide, K., Otsuka, N., & Shibayama, K. (2021). Rapid and simple SNP genotyping for *Bordetella pertussis* epidemic strain MT27 based on a multiplexed single-base extension assay. *Scientific Reports*, 11(1), 4823. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-84409-0>

- Koide, K., Yao, S., Chiang, C., Thuy, P., Nga, D., Huong, D., Dien, T., Vichit, O., Vutthikol, Y., & Sovannara, S. (2022). Genotyping and macrolide-resistant mutation of *Bordetella pertussis* in East and South-East Asia. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 31, 263–269. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2022.10.007>
- Lee, D., Choi, Y., Kim, J., Han, E., & Bae, M. (2023). Pre-Pandemic Distribution of Bacterial Species in Nasopharyngeal Swab Specimens from Pediatric and Adult Patients Detected via RT-PCR Using the Allplex Respiratory Panel. *Life* 2023, Vol. 13, Page 1840, 13(9), 1840. <https://doi.org/10.3390/LIFE13091840>
- Leontari, K., Lianou, A., Tsantes, A., Filippatos, F., Iliodromiti, Z., Boutsikou, T., Paliatsou, S., Chaldoupis, A., Ioannou, P., Mpakosi, A., Iacovidou, N., & Sokou, R. (2025). *Pertussis* in Early Infancy: Diagnostic Challenges, Disease Burden, and Public Health Implications Amidst the 2024 Resurgence, with Emphasis on Maternal Vaccination Strategies. *Vaccines* 2025, Vol. 13, Page 276, 13(3), 276. <https://doi.org/10.3390/VACCINES13030276>
- Li, S., Liu, C., Liu, Y., Ma, Q., Wang, Y., & Wang, Y. (2020). Establishment and application of a multiple cross displacement amplification combined with nanoparticles-based biosensor method for the detection of *Bordetella pertussis*. *BMC Microbiology*, 20(1). <https://doi.org/10.1186/S12866-020-01945-X>
- Lin, K., Guo, J., Guo, X., Li, Q., Li, X., Sun, Z., Zhao, Z., Weng, J., Wu, J., Zhang, R., & Li, B. (2023). Fast and visual detection of nucleic acids using a one-step RPA-CRISPR detection (ORCD) system unrestricted by the PAM. *Analytica Chimica Acta*, 1248, 340938. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2023.340938>
- Macina, D., & Evans, K. (2021). *Bordetella pertussis* in School-Age Children, Adolescents, and Adults: A Systematic Review of Epidemiology, Burden, and Mortality in the Middle East. *Infectious Diseases and Therapy*, 10(2), 719–738. <https://doi.org/10.1007/S40121-021-00440-8>
- Mathisen, M., Basnet, S., Christensen, A., Sharma, A., Tylden, G., Krokstad, S., Valentiner-Branth, P., & Strand, T. (2021). Viral and Atypical Bacterial Detection in Young Nepalese Children Hospitalized with Severe Pneumonia. *Microbiology Spectrum*, 9(2). <https://doi.org/10.1128/Spectrum.00551-21>
- Ministerio de Salud Pública. (2025). A370-A379 Tsoferina SE 01-19 Ecuador 2025. <https://www.salud.gob.ec/wp-content/uploads/2025/05/Tosferina-SE-19-1.pdf>
- Moraga-Llop, F., Garcés-Sánchez, M., & González-López, J. (2024). Reemergence of *pertussis*: Strategies and challenges in its control in Spain. *Anales de Pediatría (English Edition)*, 101(4), 227–229. <https://doi.org/10.1016/J.ANPEDE.2024.07.017>
- Muloiwa, R., Kagina, B., Engel, M., & Hussey, G. (2020). The burden of laboratory-confirmed *pertussis* in low- and middle-income countries since the inception of the Expanded Programme on Immunisation (EPI) in 1974: a systematic review and meta-analysis. *BMC Medicine*, 18(1). <https://doi.org/10.1186/S12916-020-01699-3>
- Murray, P. R., Rosenthal, K. S., & Pfaller, M. A. (2014). *Bordetella*. In *Microbiología médica* (7th ed., pp. 304–309). Elsevier. <https://n9.cl/hn12sd>
- Nörz, D., Hoffmann, A., Aepfelbacher, M., Pfefferle, S., & Lütgehetmann, M. (2021). Clinical evaluation of a fully automated, laboratory-developed multiplex RT-PCR assay integrating dual-target SARS-CoV-2 and influenza A/B detection on a high-throughput platform. *Journal of Medical Microbiology*, 70(2). <https://doi.org/10.1099/JMM.0.001295>

- Organización Panamericana de la Salud & Organización Mundial de la Salud (OPS/OMS). (2025). *Alerta epidemiológica: Aumento de tos ferina (coqueluche) en la Región de las Américas*. <https://is.gd/M2Hq0D>
- Ouzzani, M., Hammady, H., Fedorowicz, Z., & Elmagarmid, A. (2016). Rayyan—a web and mobile app for systematic reviews. *Systematic Reviews*, 5(1), 210-. <https://doi.org/10.1186/S13643-016-0384-4>
- Pérez-Abeledo, M., Barrioluengo, V., Maeso, E., & Sanz, J. (2023). Performance of 2 automated real time PCR methods for the detection of *Bordetella pertussis* and *Bordetella parapertussis*. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (English Edition)*, 41(10), 640–641. <https://doi.org/10.1016/J.EIMCE.2023.07.004>
- Rodríguez, C., Albañil, M., García, C., Blasco, M., & Gil, M. (2022). Estudio diagnóstico de tos ferina mediante técnica de PCR en consultas de Atención Primaria. *Anales de Pediatría*, 97(4), 262–269. <https://doi.org/10.1016/J.ANPEDI.2022.02.005>
- Rubis, A., Skoff, T., Hong, J., & Honeywood, M. (2024). Chapter 10: Pertussis. Manual for the Surveillance of Vaccine-Preventable Diseases. <https://n9.cl/1u0j4>
- Saedi, S., Safarchi, A., Moghadam, F., Heidarzadeh, S., Nikbin, V., & Shahcheraghi, F. (2021). Fha Deficient *Bordetella pertussis* Isolates in Iran with 50 Years Whole Cell Pertussis Vaccination. *Iranian Journal of Public Health*, 50(7), 1454–1462. <https://doi.org/10.18502/IJPH.V50I7.6636>
- Sun, C., Xiao, F., Fu, J., Huang, X., Jia, N., Xu, Z., Wang, Y., & Cui, X. (2022). Loop-Mediated Isothermal Amplification Coupled With Nanoparticle-Based Lateral Biosensor for Rapid, Sensitive, and Specific Detection of *Bordetella pertussis*. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 9, 797957. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.797957>
- Tatti, K., Wu, K., Tondella, M., Cassiday, P., Cortese, M., Wilkins, P., & Sanden, G. (2008). Development and evaluation of dual-target real-time polymerase chain reaction assays to detect *Bordetella* spp. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 61(3), 264–272. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2008.02.017>
- Vásconez, S., Jaramillo, K., Zabala, A., & Villacís, J. (2021). *Bordetella pertussis*, a reemerging pathogen in pediatric respiratory infections. A study in Quito, Ecuador. *Revista Argentina de Microbiología*, 53(1), 27–33. <https://doi.org/10.1016/J.RAM.2020.07.001>
- Vasudevan, K., Ragupathi, N. K. D., Jacob, J. J., & Veeraraghavan, B. (2020). Highly accurate-single chromosomal complete genomes using IonTorrent and MinION sequencing of clinical pathogens. *Genomics*, 112(1), 545–551. <https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2019.04.006>
- Viswanathan, R., Bafna, S., Choudhary, M., Reddy, M., Katendra, S., Maheshwari, S., & Jadhav, S. (2022). Looking beyond Pertussis in Prolonged Cough Illness of Young Children. *Vaccines* 2022, Vol. 10, Page 1191, 10(8), 1191. <https://doi.org/10.3390/VACCINES10081191>
- Wang, S., Zhang, S., & Liu, J. (2025). Resurgence of pertussis: Epidemiological trends, contributing factors, challenges, and recommendations for vaccination and surveillance. *Human Vaccines & Immunotherapeutics*, 21(1), 2513729. <https://doi.org/10.1080/21645515.2025.2513729>
- Xu, H., Huang, J., Liu, Z., Li, X., Wang, K., Feng, E., Wu, J., Zhu, L., Yao, K., Pan, C., & Wang, H. (2021). Expression of *Bordetella pertussis* Antigens Fused to Different Vectors and Their Effectiveness as Vaccines. *Vaccines*, 9(6). <https://doi.org/10.3390/VACCINES9060542>

Zarbock, C., Evbuomwan, E., Shenep, M., Dantas, G., & Dumm, R. (2025). Molecular methods to diagnose *pertussis*: a case of confusion with *Bordetella bronchiseptica*. *ASM Case Reports*. <https://doi.org/10.1128/ASMCR.00084-24>

Zhu, Y., Shi, J., Zhang, S., Yang, W., & Shan, X. (2025). Development and performance evaluation of a multiplex fluorescent PCR method for the detection of fastidious pathogens causing respiratory infections in children. *Journal of Infection in Developing Countries*, 19(4), 582–589. <https://doi.org/10.3855/jidc.20282>

Transparencia

Conflicto de interés

Los autores declaran que no existen conflictos de interés de naturaleza alguna como parte de la presente investigación.

Fuente de financiamiento

Los autores financiaron completamente la investigación.

Contribución de autoría

Michael Johana Medina Vargas: Conceptualización, metodología, software, validación, análisis formal, investigación, gestión de datos, visualización, redacción - preparación del borrador original, redacción - revisión y edición, financiamiento, administración del proyecto, recursos, supervisión.

Maria del Carmen Cordovéz Martínez: Validación, redacción - revisión y edición, financiamiento, supervisión.

Los autores contribuyeron activamente en el análisis de los resultados, revisión y aprobación del manuscrito final.