

7

PRUEBAS DE LABORATORIO RAPIDAS PARA ORIENTAR EL DIAGNOSTICO Y TRATAMIENTO DE LA INFECCION RESPIRATORIA AGUDA (IRA) BAJA DE LA COMUNIDAD DE 100 NIÑOS A NIVEL HOSPITALARIO

- * Hugo Trujillo, Jaime Robledo, Francisco Javier Díaz, Jorge Mejía, David Espinal, Felipe Restrepo, Carlos Robledo, José Iván Ramírez, Carlos Restrepo, Gloria Isabel Mejía, Licenciada en Bacteriología, Marta Claudia Tamayo, Bacterióloga.

RESUMEN

Para evaluar la aplicabilidad de varias pruebas de laboratorio rápidas, específicas e inespecíficas, en el diagnóstico y manejo de la IRA baja de la comunidad a nivel hospitalario, se estudiaron 100 pacientes pediátricos. La inmunofluorescencia (IF) para virus respiratorio sincitial (VRS) de exudado nasofaríngeo (ENF) fue positiva en el 43.95% de los pacientes; la aglutinación de partículas de latex (APL) para detectar antigenuria por *S. pneumoniae* fue positiva en el 13.33% y por *H. influenzae* en el 12.90% en un grupo seleccionado de pacientes. De las pruebas inespecíficas, los reactantes de fase aguda (RFA) positivos como neutrofilia, proteína C reactiva (PCR), y la eritrosedimentación (ERS), orientaron a sospechar etiología bacteriana. Las aglutininas al frío (AF)

- * Corporación para Investigaciones Biológicas (C.I.B.) Hospital Pablo Tobón Uribe, Hospital General de Medellín, Hospital La María y Laboratorio del Servicio Seccional de Salud de Antioquia.

tuvieron una correlación baja con el aislamiento de *M. pneumoniae* en el ENF. Se sugiere el empleo de una prueba rápida como la IF para detectar VRS en el ENF y los reactantes de fase aguda en el manejo hospitalario del lactante con IRA baja.

Palabras clave: Infección respiratoria aguda baja, diagnóstico, pruebas rápidas, niños.

SUMMARY

One hundred pediatric patients with community acquired acute lower respiratory tract infections (ARI) were studied to evaluate the efficacy of some rapid specific and non specific diagnostic tests to define their etiology and subsequent treatment. The Indirect Immunofluorescent test detected respiratory syncytial virus in 43.95% of the cases, and the latex agglutination in urine, in a select group of patients, detected capsular antigen for *H. influenzae* and pneumococcus, 12.9% and 13.3% respectively. In the group of non specific tests two or more positive acute phase reactants correlated with bacterial etiology rather than with viral infection. Cold agglutinins did not show sensitivity for detection of *M. pneumoniae* infections. The use of rapid test such as indirect immunofluorescence for the diagnosis of respiratory syncytial virus is recommended in the initial study of ARI.

Rapid non specific test such as acute phase reactants are useful in predicting viral or bacterial etiology.

Key words: Acute respiratory infection, rapid diagnostic tests, children, diagnosis.

Abreviaturas: IRA: Infección respiratoria aguda; IF: Inmunofluorescencia; ENF: exudado nasofaríngeo; APL: aglutinación de partículas de latex; PCR: proteína C reactiva; ERS: eritrosedimentación; AF: aglutininas al frío; PAP: punción aspiración pulmonar; VRS: virus respiratorio sincitial; CIE: contraelectroforesis; PMN polimorfonuclear neutrófilos.

INTRODUCCION

La IRA baja es una de las principales causas de mortalidad en niños menores de 5 años en los países en desarrollo, pues más de la cuarta parte de las muertes infantiles pueden atribuirse a esta patología (1). La consulta por IRA baja es muy frecuente, varía del 20 al 40% en la consulta externa y del 10% en los pacientes hospitalizados (2). Para reducir la mortalidad de esta frecuente y grave patología se requiere de un diagnóstico precoz y un tratamiento adecuado (1).

La OMS ha implementado un plan simple y práctico para el diagnóstico y tratamiento de los niños con IRA baja a nivel primario, el cual se está realizando con éxito (3).

El manejo del paciente a nivel hospitalario es más complejo por la dificultad de hacer el diagnóstico etiológico, base para la selección apropiada de los antibióticos (4). La punción aspiración pulmonar (PAP) es el método más confiable para obtener una muestra de pulmón para estudio bacteriológico, aunque su sensibilidad es variable, con resultados positivos del 32.2% al 62% (5,6). Su uso en la práctica clínica está restringido a pacientes seleccionados por su dificultad diagnóstica o gravedad y a programas de investigación, pues es un método invasivo y no exento de complicaciones; los hemocultivos también son muy específicos, pero su sensibilidad es baja variando del 3.22% al 36.1% (5,7).

El diagnóstico de la etiología viral de la IRA baja por los métodos clásicos de cultivo de la secreción nasofaríngea y de la elevación de los anticuerpos séricos tiene limitaciones entre

nosotros. El cultivo es el método de referencia por su sensibilidad, pero demorado en proporcionar resultados y sólo disponible en pocos laboratorios. La serología es un método de baja sensibilidad en niños y por la necesidad de tener muestras de etapa aguda y convaleciente no es práctico desde el punto de vista clínico.

En la actualidad la detección de antígenos bacterianos o virales en secreciones o líquidos corporales se consideran como métodos alternativos eficaces para el diagnóstico de infecciones respiratorias. El hallazgo de antígenos de *S. pneumoniae* y *H. influenzae* en orina y suero, por métodos inmunológicos rápidos y sencillos, se ha encontrado en varias investigaciones como confiable para demostrar los agentes etiológicos de la neumonía (8,9). La inmunofluorescencia directa para detectar antígenos de virus respiratorios en el exudado nasofaríngeo (ENF) de pacientes con neumo patías virales es un método rápido, específico y menos costoso que el cultivo (10-11).

Se ha sugerido que el empleo de los reactantes de fase aguda (RFA) y de las aglutininas al frío (AF) en el manejo inicial del paciente con IRA baja, puede orientar significativamente el diagnóstico etiológico (12).

El objetivo de esta investigación fue evaluar a nivel hospitalario la aplicabilidad de un grupo de exámenes rápidos y de fácil ejecución para llegar a un diagnóstico causal oportuno, a fin de orientar la antibioterapia en niños con IRA baja. Los resultados etiológicos y clínicos son objeto de otra publicación (13).

MATERIAL Y METODOS

Pacientes

En el período comprendido entre el 8 de agosto de 1989 al 30 de enero de 1990, se admitieron 100 niños de todas las edades con el diagnóstico de IRA baja que por su gravedad ameritaron hospitalización. Fueron requisito de ingreso: a) No haber recibido antibióticos previos y en pocos casos sólo una dosis. b) Evolución aguda de la enfermedad, no mayor a una semana. Se elaboró una historia con los datos pertinentes del paciente.

Laboratorio

Se practicaron los siguientes exámenes en las primeras horas después de la hospitalización:

Exámenes rápidos específicos:

a) Detección por la prueba de aglutinación de partículas de latex (APL), (Directigen BBL, Cockeysville, MD, USA), de antígenos de *S. pneumoniae* y *H. influenzae* en orina concentrada por centrifugación (obteniendo una concentración 20 veces superior al de la muestra original), por medio de un microconcentrador (AMICON, Danvers, MA, USA), en pacientes con evidencia radiológica de condensación neumónica y/o ≥ 2 RFA positivos b) Detección en ENF por Inmunofluorescencia Indirecta (antiseros de Burroughs - Wellcome Research Triangle NC, USA) de virus respiratorios sincicial (VRS), influenzae A y B, parainfluenza 1 y 3 y adenovirus. El ENF se obtuvo introduciendo un tubo de alimentación delgado desechable por una ventana nasal y aspirando con una jeringa de 10 ml. El material extralido se repartió en dos tubos, uno seco para bacterias y otro

con medio de transporte para virus (solución tampón balanceada con albúmina o gelatina). Se transportó al laboratorio sobre hielo para su procesamiento.

Exámenes rápidos inespecíficos

a) Reactantes de fase aguda (RFA): Leucograma, eritrosedimentación, proteína C reactiva (PCR), (Phlogotec-CRP Latexes Organón Técnica Finlandia).

b) Prueba rápida en tubo de aglutininas al frío (12) y su titulación en caso de positividad (14). Se consideró que los RFA eran positivos, es decir orientaban a pensar en una infección bacteriana, cuando los leucocitos eran de 20.000 por mmc, los neutrófilos de 10.000 por mmc, la ERS de 30 mmc, (REF), la PCR de 64 mg/L. Un título de aglutininas al frío de 1/64 se consideró significativo en relación con IRA por *M. pneumoniae* (12).

Cultivos para bacterias

a) Hemocultivos (1 ó 2). Se inoculó 1 ml de sangre en 10 ml de caldo de cerebro corazón (BBL, Cockeysville, Maryland 21030) o en el medio bifásico de Castañeda (17). Se incubaron 7 días; con subcultivos a las 24 horas y al quinto día. b) Cultivo de ENF y líquido pleural: para aislar gérmenes plógenos se sembró en agar chocolate suplementados con Isovitalex, (BBL Cockeysville, MD, USA), agar sangre y en eosina azul de metileno o McConckey (BBL Cockeysville MD USA) y se incubó por 48 horas. Para aislar *B. pertussis* se inoculó en el medio de Regan Lowe (18) y para detectar *M. pneumoniae* se sembró en el medio PPLO suplementado (19) (Difco Laboratories, Detroit Michigan, USA) y se observó periódicamente du-

rante 30 días. La identificación de todos los gérmenes se realizó por los métodos estándar recomendados (20).

RESULTADOS

El 84% de los niños de este estudio tenían menos de dos años de edad. El grupo más afectado fue el menor de 6 meses (47%); predominó el sexo masculino pero no en forma significativa (cuadro No. 1). El diagnóstico clínico más frecuente fue el de bronconeumonía (51%), seguido de bronquiolitis (18%), neumonía lobar (14%) y

tosferina (9%). Radiológicamente se hicieron cuatro diagnósticos principales: Bronconeumonía (29%), neumonitis Intersticial (26%), neumonía lobar (18%) y bronquilitis (16%) (cuadro No. 2).

Como podemos ver en el cuadro No. 3, utilizando las pruebas rápidas específicas se hizo diagnóstico etiológico en 41 pacientes. Con las pruebas rápidas específicas y el cultivo, en 2. Sólo con el cultivo, en 5. Los hemocultivos fueron negativos en todos los pacientes.

CUADRO 1: Edad y sexo de 100 niños con IRA baja

Edad	Sexo		Total
	M	F	
Menor de 6 meses	26	21	47
7 a 12 meses	16	5	21
1 a 2 años	7	9	16
3 a 6 años	4	3	7
7 a 15 años	3	6	9
TOTAL	56	44	100

CUADRO 2: Diagnóstico clínico y radiológico en el momento de la admisión al estudio

Entidad	Dx Clínico	Dx Radiológico
Bronconeumonía	51	29
Bronquiolitis	18	16
Neumonía Lobar	14	18
Neumonía con derrame	1	1
Tosferina	9	0
Neumonitis Intersticial	4	26
Emplema	1	1
Asma	2	1
Atelectasia	0	4
Rx normal	0	2
Sin datos	0	1

CUADRO 3: Resultados de las pruebas rápidas específicas y de los cultivos en la identificación de la etiología de la IRA baja en 100 niños estudiados

Tipo de examen	Pacientes		
	No. estudiados	No. positivos	%
Pruebas rápidas específicas			
IF para VRS	91	32	35.16
IF para VRS y virus Influenza A1	91	1	1.09
IF para VRS/antig. H. influenzae	91/31 *	3	9.67
IF para VRS/antig. S. pneumoniae	91/30 *	2	6.66
Antigenuria para S. pneumoniae	30	2	6.66
Antigenuria para H. influenzae	31	1	3.22
TOTAL		41	
Pruebas rápidas específicas y cultivos			
IF para VRS/cultivo S. aureus	91/1 **	1	
IF para VRS/cultivo M. pneumoniae	91/9 ***	1	
TOTAL		2	
Cultivos de ENF			
B. pertussis	94	3	3.19
M. pneumoniae	93	2	2.15
TOTAL		5	
Hemocultivos	100	0	

* Solo pacientes con hallazgos compatibles con neumonía lobar o bronconeumonía se estudiaron para la detección de antígenos bacterianos en la orina; ** Cultivo de líquido pleural; *** Cultivo de ENF.

Los microorganismos identificados fueron en su orden: VRS, H. influenzae, S. pneumoniae, S. aureus y virus Influenza A, resultados que se presentan en forma extensa en otra publicación (13). El cultivo de ENF no contribuyó significativamente al diagnóstico de la etiología de la IRA baja.

Respecto a los exámenes rápidos inespecíficos, se encontró leucocito-

sis, neutrofilia y PCR significativos de infección bacteriana entre el 25.51% a 32.65% de los pacientes. La ERS fue positiva en el 58.76% de los casos (cuadro No. 4). Las dos terceras partes de los niños con infección por VRS, B. pertussis y M. pneumoniae tuvieron máximo 1 RFA positivo ($p \leq 0.5$). La otra tercera parte presentó 2 RFA positivos, además de imágenes radiológicas de neumonía o bronconeumonía

CUADRO 4: Resultados de los reactantes de fase aguda (RFA) en 100 niños estudiados

RFA	Estudiados	Positivos	%
Leucocitosis	98	25	25.51
Neutrofilia	98	32	32.65
PCR	98	32	32.65
ERS	97	57	58.76

(cuadro No. 5). Los 9 pacientes positivos para *H. influenzae*, *S. pneumoniae* o *S. aureus* tuvieron ≥ 2 RFA positivos (cuadro No. 5). Siete de nueve tuvieron ≥ 20.000 leucocitos por MM3, ocho de nueve ≥ 10.000 polimorfo nucleares neutrófilos por mm3, cinco de nueve ≥ 30 mm de eritrosedimentación, seis pacientes ≥ 64 mg/l de PCR.

Cuatro pacientes (4%) tuvieron las AF con títulos de $\geq 1/64$ sugestivos de

infección por *M. pneumoniae*. Sin embargo sólo en uno de ellos, se comprobó el diagnóstico por el aislamiento del microorganismo, en este caso los 4 RFA fueron positivos indicando que la neumonía lobar que presentaba pudiera ser de origen bacteriano. En los demás niños, 2 tuvieron cultivo positivo para *M. pneumoniae* y los RFA fueron predominantemente negativos (cuadro No. 6).

CUADRO 5: Correlación entre los gérmenes identificados y los resultados de los RFA en 48 pacientes

Germen	No. Ptes	No. de RFA positivos				
		0	1	2	3	4
VRS *	33	11	13 **	5	2	2
<i>H. influenzae</i> (3VRS)	4				2	2
<i>S. pneumoniae</i> (2VRS)	4			2	1	1
<i>B. pertussis</i>	3	2 ***			1	
<i>M. pneumoniae</i> (1 VRS)	3	2	1			
<i>S. aureus</i>	1					1
TOTAL	48	15	14	7	6	6

* Sólo se incluyen los casos que no tuvieron resultados positivos para bacterias. Un caso se asoció a virus Influenza A. ** $P \leq 0.5$ para la relación entre VRS y 4 RFA negativos y/o 1 positivo. *** Leucograma característico de tosferina: leucocitosis con linfocitosis.

CUADRO 6: Correlación entre los resultados de las aglutininas al frío, RFA y cultivo de *M. pneumoniae*

Pte. No.	Edad	Sexo	Dx Clínico	Dx. Radlológico	AF	No. RFA +	Cultivo +
8	7a	M	Neumonía	N. segmentaria	-	0	+
9	7a	F	Neumonía	N. base lza.	1/128	4	+
15	9m	M	Bronquiolitis	Bronquiolitis	-	0	+
16	6m	M	Bronquiolitis	Bronquiolitis	1/128	1	-
62	9a	F	Bronconeumonía	Bronconeumonía	1/512	0	-
79	2m	M	Bronconeumonía	Bronconeumonía	1/64	1	-

DISCUSION

Universalmente el grupo más afectado por la IRA baja, tal como lo observamos en este estudio, es el de los niños menores de dos años. Esto se debe a: 1) factores anatómicos de su tracto respiratorio, 2) inmadurez de los mecanismos de defensa locales y sistémicos, 3) factores externos, como hacinamiento, mala vivienda, desnutrición y contaminación ambiental (1).

En este estudio, empleando las pruebas rápidas específicas, se hizo diagnóstico etiológico en 43 niños. La más frecuentemente positiva fue la IF para VRS (positiva en 40 de 91 casos estudiados) (43.95%). Menos frecuentemente positiva fue la antigenuria para *S. pneumoniae* (4 de 30 casos) (13.32%) y para *H. influenzae* (4 de 31 pacientes) (12.90%).

Según experiencia de otros investigadores, la IF para detectar VRS es el examen de mayor positividad en el diagnóstico de la IRA baja infantil en

todo el mundo: 50% en EEUU (8), 17% en Tailandia (4), 35% en Inglaterra (20), 49% en Gambia (21), 16.8% en Argentina (22). Nuestro hallazgo de 43.95% está dentro del rango de estos resultados. La IF para VRS da resultados comparables al cultivo del virus en células, con la ventaja de que el examen tarda solamente 4 a 6 horas (11). Sin embargo tiene algunas limitaciones, puesto que requiere un microscopio especial y personal con entrenamiento. Una alternativa es una prueba de Elisa, de más fácil ejecución y de las cuales existen varias en el comercio (23). Por las razones anteriores creemos que la búsqueda de VRS por IF o Elisa se impone a nivel hospitalario en todo niño con IRA baja grave, especialmente en menores de dos años.

El hallazgo de antígenos de *S. pneumoniae* o *H. influenzae* en orina o suero por APL, contrainmuno-electroforesis (CIE) o coagulación es más sensible que los hemocultivos en el diagnóstico etiológico de la neumonía bacteriana infantil (24). La APL es la más simple de realizar (25), pero requiere la previa concentración de

la orina por técnicas especiales. Observamos que esto es particularmente cierto para *S. pneumoniae*. El porcentaje de positividad de la APL en orina varía según distintos autores: 24% (26), 12% (10), 6.7% (4) y 0 (20). Nosotros encontramos una positividad de 25.53%: 13.33% para *S. pneumoniae* y 12.90% para *H. influenzae*. Este resultado es satisfactorio si tenemos en cuenta que todos los hemocultivos de nuestros pacientes fueron negativos. Podría haberse obtenido una positividad mayor con el uso conjunto de la CIE y la APL, realizando ambos exámenes no sólo en orina sino en suero del paciente (9). Aunque se ha informado antigenuria positiva en un número bajo de controles (9), creemos que estas pruebas asociadas a la clínica, radiología y RFA pueden ser de ayuda en casos graves o de difícil diagnóstico.

El cultivo de ENF para gérmenes piógenos no contribuyó al diagnóstico etiológico de la IRA baja en los pacientes estudiados (13). Otras investigaciones también han confirmado que los gérmenes aislados de la rino-faringe no están relacionados con los aislamientos obtenidos por medio de la PAP (4).

La mayoría de los investigadores opinan que los RFA con el grado de positividad que escogimos para este estudio orientan en la presunción clínica de etiología bacteriana de la IRA baja. Leucocitos de ≥ 15.000 por mmc (26) y principalmente de ≥ 20.000 por mmc (15) se asocian a neumonía bacteriana. Menos de ≥ 10.000 leucocitos por mmc hacen pensar en etiología viral (15). El recuento de ≥ 10.000 PMN por mmc sugiere infección bacteriana grave (16). Eritrosedimentación de ≥ 30 mm indican infección bacteriana aunque con menos

especificidad (15,16). PCR de ≥ 50 mg/L se asocia a neumonía bacteriana (26) y entre 17 y 25 mg/L a infección por VRS (29). En nuestro estudio la IRA baja bacteriana se asoció a 2 ó más RFA positivos, mientras que la mayoría de las producidas por VRS presentó RFA negativos o máximo 1 positivo. Es posible que algunos de los casos por VRS con 2 ó más RFA positivos encontrados en el estudio, podrían tener una infección bacteriana asociada, que no pudo comprobarse.

Aunque las aglutininas al frío no son específicas de infección por *M. pneumoniae*, se ha observado que en pacientes con neumonía en los cuales se comprueba la infección por métodos serológicos específicos, tienen títulos altos en 72 a 92% (30). En nuestros pacientes el cultivo fue positivo en 3, 1 de ellos tuvo aglutininas al frío significativas. En cambio 3 pacientes, con aglutininas al frío positivas, tuvieron cultivo negativo. No encontramos una correlación adecuada entre AF positivas con el cultivo utilizado como método de referencia.

En conclusión, las pruebas rápidas de laboratorio empleadas en este estudio son importantes para orientar el diagnóstico y manejo de la IRA baja infantil. De las pruebas rápidas específicas la más útil fue la IF indirecta para detectar VRS, que consideramos debe hacer parte del estudio de estos niños para hacer una antibioterapia más racional. El hallazgo de antigenuria positiva para *H. influenzae* y *S. pneumoniae* fue menos frecuente, pero creemos que en caso de diagnóstico difícil o mala evolución del paciente, es un examen que puede ser útil. De las pruebas rápidas inespecíficas, la presencia de 2 ó más RFA positivas efectivas para orientar la di-

ferenciación entre infección bacteriana y viral y para sospechar si esta última estaba asociada a infección bacteriana. La contribución de los hemocultivos fue nula en el diagnóstico etiológico de nuestros pacientes, lo cual requiere un replanteamiento de su utilización en estos casos.

AGRADECIMIENTOS

A los médicos y enfermeras que colaboraron en este estudio.

REFERENCIAS

1. Pío A. Acute Respiratory Infections in developing countries: an international point of view. *Ped Infect Dis* 5: 179-183. 1986
2. World Health Organization-A Program for Controlling acute respiratory infections in children: memorandum from WHO meeting. *Bull WHO* 62: 47-58. 1984.
3. World Health Organization: Case management of acute respiratory infection in children in developing countries. Report of a Working Group Meeting, Geneva, April 3-6. 1984. Document WHO/RSO/85. 15. Revision 1.
4. Sunakorn P., Chunchit L., Niltwat S., Wangweerwong M., Jacobs F.R. Epidemiology of acute respiratory infections in young children from Thailand. *Ped Infect Dis J.* 9:873-877, 1990.
5. García de O.D., Trujillo, H. Uribe, A. Agudelo N. Lung Puncture aspiration as a bacteriologic diagnostic procedure in acute pneumonias of infants and children. *Clinical pediatrics.* 10: 346-350. 1971
6. Shann F. Etiology of severe pneumonia in children in developing countries. *Pediatric Infectious Diseases Journal.* 6: 247-252, 1986.
7. Shan F., Germer S., Hazlptt D., Gratte M., Linneman V., Payne R., Aetiology of pneumonia in children in Goroka Hospital, Papua New Guinea. *The Lancet* 2: 537-541, 1984.
8. Paisley J.W. Lauer B.A., McIntosh K. et al. Pathogens associated with acute respiratory tract infections in children. *Ped Infect Dis J.* 3:14-9, 1984.
9. Rusconi F., Rancilo L., Assael B.M., et al. Counterimmunoelectrophoresis and latex particle agglutination in the etiologic diagnosis of presumed bacterial pneumonia in pediatric patients. *Ped Infect Dis J.* 7: 781-5, 1988.
10. Trujillo H., Robledo J., Laboratorio de las enfermedades infecciosas pediátricas. *Anales de la Academia de Medicina de Medellín.* 2: 145-157, 1989.
11. Infecciones respiratorias agudas de los niños. Publicación Científica No. 493. Organización Panamericana de la Salud. Oficina Sanitaria Panamericana, Oficina Regional de la Organización Mundial de la Salud. Washington, D.C. 1985. pag. 31-36.
12. Florman L.A. Cushing A., Unland, T.E. Rapid noninvasive techniques for determining etiology of bronchitis and pneumonia in infants and children. *Clinics in Chest Medicine.* 8: 669, 1987.
13. Trujillo H. Robledo J., Díaz F.J., Mejía J., Espinal D., Garcés G., Restrepo F., Robledo C., Ramírez, J.I., Mejía de R.G.I., Tamayo, M.C. Etiología y clínica de la IRA baja en 100 niños a nivel hospitalario. *Medicina U.P.B.;* 13:53-64, 1994.
14. Sussman J.S., Magoffin L.R., Lennette H.E., Shible J., Cold agglutinins, Eaton agent and respiratory infections in children. *Pediatrics.* 38: 571-577. 1986.

15. Wald R.E. Management of Pneumonia in outpatients. *Ped Infect Dis J.* 3: S21-23, 1984.
16. Oski, A.T. *Comentarios, The Year Book of pediatrics.* Frank A. Oski and James A. Stockman, editors. The Year Book Medical Publishers, Inc. Chicago, London. 1972. pag. 76.
17. Moyer N.P., Holcomb L.A., Hausler W.J., Brucella. En: *Manual of Clinical Microbiology.* Ballow, A., Hausler, W.J., Herrmann K.L., Isenbers, H.D., Shadomy, H.J., editors. Fifth Edition. American Society for Microbiology Washington DC 1991. pag. 457.
18. Phillips E., Nash P., Culture Media. In *Manual of clinical Microbiology.* Fourth edition. Eds. Lennette E., Ballows A., Hausler J.W., Shadomy J.H. American Society for Microbiology, Washington 1985. pag. 1051.
19. McGee A.Z., Taylor-Robinson D. Mycoplasmas. En: *Infectious Diseases and Medical Microbiology.* Braude, Al., Davis, CE., Fiers, J. 2nd edition. W.B Saunders Co. Philadelphia. 1986. pag. 455-460.
- 20 *Manual of Clinical Microbiology.* Editors: Ballow, A., Husley, W.J., Herrman, K.L., Isenberc, H.D., Shadomy, H.J., Fifth Edition. American Society for Microbiology. Washington DC 1991.
21. Isaac D. Problems in determining the etiology of community acquired pneumonia. *Ped Infect Dis* 8: 143-148.
22. Forgie M.I., O'Neill P.K., Lloyd-Evans N., Loinonen M., Campbell H., Whikkle C.H., Greenwood M.B. Etiology of acute lower respiratory tract infections in Gambian children: Acute lower respiratory tract infections in infants presenting at the hospital. *Ped Infect Dis J.* 10:33 - 41, 1991.
23. Avila M., Salomon H., Carballal G., Ebebian B., Woyskousky N., Cerqueiro C.M., Weissenbacher M., Isolation and Identification of viral agents in argentinian children with acute lower respiratory infections. *Reviews of Infectious Diseases.* 12: S974-981, 1990.
24. Swieskosz M.E., Flanders R., Melvin L., Miller D.J., Kline W.K. Evaluation of the Abbott testpack RSV Enzyme Immunoassay for Detection of Respiratory Syncytial Virus in Nasopharyngeal Swab Specimens. *J Clin Microbiol.* 27: 1151-1154, 1989.
25. Editorial. Pneumonia in Childhood. *The Lancet.* Vol 1 (8274):741, 1982.
26. McCarthy L.P., Jekel K.J., Dollan F.T., Comparison of Acute- Phase Reactans in Pediatric Patients with Fever. *Pediatrics.* 62: 716-720.
27. Ramsey B.W., Marcuse E.K., Foy H.M., et al. Use of bacterial antigen detection in the diagnosis of pediatric lower respiratory tract infections. *Pediatrics* 78: 1-9. 1986.
28. Ruuskanem O., Putto A., Surkinen H., Meurman O., Irpala K., C-reactive protein in respiratory virus infections. *J Ped.* 107: 97-100, 1985.
29. Broughton A.R. Infections due to *M. pneumoniae* in childhood. *Ped Infect Dis J.* 5: 71-85. 1986.