

DETERMINACION DE IGG E IGM ANTI-CHLAMYDIA TRACHOMATIS EN LACTANTES MENORES DE 6 MESES, CON INFECCIONES RESPIRATORIAS AGUDAS DEL TRACTO INFERIOR

Mercedes C. Guilarte * Yelitza M. López de B. * Carmen Luisa Sanoja P. * Ezio G. Valeri D. **

* Cátedra de Inmunología, Escuela de Bioanálisis. Fac. Farmacia, Univ. de Los Andes. Mérida.

** Departamento de Pediatría, Facultad de Medicina. Hospital Universitario de Los Andes, Mérida.

RESUMEN

Las infecciones respiratorias constituyen una de las primeras causas de morbilidad y mortalidad en niños de todas las edades, siendo los lactantes los más afectados. La importancia de la *Chlamydia trachomatis* como agente causal ha sido demostrada. En Venezuela, las neumonías por *Chlamydia trachomatis* en lactantes sólo se diagnostica clínicamente, y los datos no se registran de forma adecuada, careciéndose de información nacional en la casuística pediátrica. El objetivo de este trabajo fué determinar la prevalencia de anticuerpos tipo IgG e IgM anti - *C. trachomatis* en lactantes menores de 6 meses Infecciones Respiratorias Agudas (IRA) del Tracto Inferior, por el método de Inmunofluorescencia Indirecta, del Servicio de Pediatría del H.U.L.A.; se estudiaron 32 muestras de suero provenientes de lactantes menores de 6 meses con diagnóstico clínico de IRA del tracto inferior, y 32 de lactantes con patologías no respiratorias, como grupo control. Según los resultados obtenidos se establecieron como títulos significativos > 1:512 y > 1:64 para IgM e IgG respectivamente, cifras que coinciden con los reportes de otros investigadores en países industrializados. 14 pacientes (43,7%) presentaron títulos significativos para IgG. Concluimos que la inmunofluorescencia indirecta representa una alternativa importante para el diagnóstico de IRA del tracto inferior por *C. trachomatis* en lactantes menores de 6 meses.

Palabras Claves: *Chlamydia trachomatis*, infección respiratoria aguda (IRA), inmunofluorescencia indirecta.

ABSTRACT

Respiratory conditions are among the main causes of mortality and morbidity in children of all ages. The most affected ones are young infants. The importance of *Chlamydia trachomatis* as a causing agent has been demonstrated. In Venezuela, pneumonia caused by *Chlamydia trachomatis* in infants is only diagnosed on a clinical basis and data have not been properly recorded,

due to the lack of available national information of pediatric cases. The purpose of this research was to determine the prevalence of IgG and IgM antibodies to *Chlamydia trachomatis* in milkfed babies younger than 6 months of age with lower tract severe respiratory infections (SRI), at the Department of Pediatrics of the HULA., by the indirect immunofluorescence method. Sera were analyzed from of 64 young babies, of which 32 had clinical diagnosis of lower tract SRI, and 32 were from babies with non respiratory pathologies as a control group. For the determination of antibodies to *Chlamydia trachomatis*, the methodology recommended by bioMerieux laboratories was used. According to the obtained results > 1:512 and > 1:64 titers were established as significative for IgG and IgM respectively, figures similar to these were reported from researchers in U.S.A. and European countries. Fourteen patients out 32 (43,7%) showed significant titers for IgM antibody to *Chlamydia trachomatis*. We concluded that indirect immunofluorescence represents an useful alternative for the diagnosis of lower tract S.R.I. caused by *Chlamydia trachomatis* in milkfed babies younger than 6 months of age.

Key Words: *Chlamydia trachomatis*, severe respiratory infections (SRI), indirect immunofluorescence.

INTRODUCCION

Las infecciones respiratorias constituyen el conjunto de alteraciones orgánicas determinadas por la implantación y desarrollo de un microorganismo en la mucosa del tracto respiratorio. Se clasifican según su localización en infecciones del tracto respiratorio superior e inferior y según su tiempo de evolución en agudas y crónicas (Cecil, 1982).

Este tipo de patología constituye una de las causas más frecuentes de consulta médico-pediátrica. Se estima que anualmente ocurren de 4 a 5 millones de muertes por infecciones respiratorias agudas (IRA) en niños menores de 5 años y, dos terceras partes de éstas corresponden a menores de 1 año (Boletín Epidemiológico de la O.P.S.,

1986). En países en vías de desarrollo, la neumonía o inflamación del tejido pulmonar ocupa el segundo lugar como causa de morbilidad y mortalidad en niños de todas las edades, siendo los lactantes el grupo más afectado (Fletcher, 1990).

A pesar que en Venezuela la neumonía por *C. trachomatis* sólo se diagnostica clínicamente, los datos no se registran de forma adecuada, careciéndose de información nacional en la casuística pediátrica. Estos hechos, aunados a los pocos estudios realizados en nuestro país, los cuales se han caracterizado por utilizar para el diagnóstico pruebas inmunológicas directas, que requieren de la aplicación de métodos invasivos para la toma de la muestra del paciente, nos han motivado a realizar una investigación orientada a la búsqueda de datos epidemiológicos sobre IRA del tracto inferior por *C. trachomatis* en lactantes de nuestro medio, mediante la aplicación del método de inmunofluorescencia indirecta para la determinación de anticuerpos clase IgG e IgM.

C. trachomatis, ha sido reconocida como uno de los agentes causales de mayor prevalencia en los casos de neumonía en lactantes menores de 6 meses. Este microorganismo, es una bacteria perteneciente al orden Chlamydiales, familia Chlamydiaceae, género *Chlamydia*, caracterizada por ser de forma cocoide, gram negativa, de hábitat intracelular obligatorio. Se multiplica por fisión binaria, tiene ribosomas bacterianos, su pared celular es semejante a la de las Enterobacterias y pueden inhibirse por los antibióticos. (Jawetz y col. 1990).

Los análisis antigénicos de *C. trachomatis* han indicado la presencia de antígenos de grupo, especie y sub-especie, los cuales son inmunogénicos e inducen una respuesta humoral en individuos infectados. Los antígenos de grupo son lipopolisacáridos termoestables y los de especie están representados por la proteína principal de membrana externa (MOMP), la cual es considerada como el determinante estructural, mediador potencial de la interacción hospedero - parásito y es responsable de la mayoría de la reactividad observada en la prueba de inmunofluorescencia (Leannett y col. 1986). Los inmunotipos específicos de *C. trachomatis* D, E, F, G, H, I, J y K, se relacionan con las infecciones oculares y respiratorias en lactantes (Cecil 1986 Batteiger y col. 1986).

C. trachomatis, es causa importante de infecciones génito-urinarias en hombres y mujeres sexualmente activos. De acuerdo a la Organización Mundial de Salud, en 1975 dichas infecciones se incluyen dentro del grupo de enfermedades de transmisión sexual (Lugenbill 1989

Videla y col. 1991). Debido a su tropismo por células columnares y pseudocolumnares causa numerosos síndromes como el tracoma, conjuntivitis de inclusión, linfogranuloma venéreo y uretritis no gonococcica (Lugenbill, 1989; Videla y col. 1991).

La transmisión vertical puede ocurrir durante el paso a través del canal del parto. Los neonatos nacidos de madres infectadas por *C. trachomatis*, pueden desarrollar conjuntivitis de inclusión, neumonía, infecciones vaginales, infecciones entéricas, otitis media y sépsis neonatal (Bell y col. 1988; Much y Yeh, 1991).

De los síndromes causados por *C. trachomatis*, la neumonía ocurre en el 14% de los niños menores de 6 meses nacidos de madres infectadas, y aunque no es progresiva, los pacientes generalmente requieren hospitalización (Schachter y col. 1986; Martín, 1990).

En 1977, Beem y Saxon proporcionaron las primeras evidencias acerca del rol de *C. trachomatis* en infecciones respiratorias. Según datos clínicos, radiológicos y de laboratorio, éstos autores describen el "Síndrome de Neumonía Atípica", el cual se caracteriza por inicio de los síntomas a partir de la segunda semana después del nacimiento, ausencia de fiebre, presencia de secreción y obstrucción nasal, presencia de "tos en Staccato", la cual conduce a cianosis y emésis, taquipnea entre 40 y 50 respiraciones por minuto, en la auscultación de pulmones se perciben crepitantes y sibilantes; en el exámen radiológico, se observa imagen de hiperinsuflación e infiltrado intersticial difuso; en sangre hay eosinofilia absoluta mayor de 300/mm³, elevación de las inmunoglobulinas séricas (IgG e IgM) y presencia de conjuntivitis en aproximadamente la mitad de los casos.

No obstante, esta presentación clínica razonable, requiere del aislamiento de *C. trachomatis* de tracto respiratorio inferior o de la demostración de anticuerpos séricos, ya que en muchos casos es indistinguible de síndromes asociados a otros microorganismos como Citomegalovirus, *Pneumocystis carinii* y *Ureaplasma urealyticum* (Puolakkainen y col. 1984; Schachter y col. 1982).

Entre las técnicas disponibles para confirmar las IRA del tracto inferior por *C. trachomatis*, en lactantes se incluyen: el exámen microscópico directo de secreciones o raspados tisulares (Cecil, 1986), cultivo celular (Lombardo y Powel, 1985; Mc Gregor, 1989) y detección del antígeno por métodos inmunológicos directos, tales como: inmunofluorescencia directa, inmunoensayo enzimático, inmunotransferencia electroforética y sondas de ácidos nucleicos (Newhall y col. 1982); así como también métodos inmunológicos indirectos para

determinar Inmunoglobulinas de las clases IgG, IgM e IgA mediante fijación de complemento, inmunofluorescencia indirecta e inmunoensayo enzimático (Mc Gregor, 1989).

Schachter y col. en 1982, sugirieron que en infantes la detección de anticuerpos específicos contra *C. trachomatis*, es el método de diagnóstico más conveniente, ya que el aislamiento e identificación del antígeno requiere de métodos invasivos para la toma de la muestra, lo cual no siempre es posible realizar. Las técnicas de mayor aceptación han sido, la inmunofluorescencia indirecta por Wang y Grayston en 1974, y el inmunoensayo enzimático estandarizado por Engwall y Perlman en 1971, usando en ambas técnicas como antígeno proteínas de la membrana externa de los cuerpos elementales (Numazaki y col. 1986; Schachter y col. 1986).

En el diagnóstico de neumonía clamidial la serología ha sido particularmente útil observándose que los niveles de anticuerpos tipo IgM en el recién nacido guardan relación con el grado de infección (Schachter y col. 1982).

Estudios epidemiológicos han permitido demostrar que la incidencia de infección por *C. trachomatis* en lactantes, es un reflejo de la tasa de colonización materna durante el embarazo. La infección por dicho microorganismo en mujeres embarazadas varía de un 5 a 30% (Faro, 1985; Grossman y col. 1986; Datta y col. 1988) y la frecuencia de transmisión a los recién nacidos se ha estimado entre un 23 a 70% (Heggie y col. 1981; Preece y col. 1989). Del 30 al 40% de los lactantes expuestos podrían desarrollar conjuntivitis, la cual suele presentarse una semana después del nacimiento; entre el 10 al 20% desarrollan neumonía que se presenta comúnmente en los primeros 6 meses de vida y, del 15 al 20% infección nasofaríngea (Fletcher y Gordon, 1990; Mc Gregor, 1989).

En E.E.U.U. para 1990, se estimó que cerca de 155.000 lactantes fueron expuestos a *C. trachomatis* durante el parto, y más de 100.000 se infectaron (Graham y Blanco, 1990).

El 30% de las neumonías estudiadas por Harrison y col. en 1978 en lactantes menores de 6 meses, estuvieron asociadas a *C. trachomatis*. En otro estudio realizado por Brasfield y col. (1987), en 193 niños menores de 3 meses, *C. trachomatis* estuvo sólo en 29 casos de neumonía, y asociada a otros microorganismos en 20 de ellos.

En América Latina existen algunos reportes como los de Lagos y col. publicado en 1987 en Chile, quienes constataron la presencia del citado microorganismo por inmunofluorescencia directa en 14 (27,4%) de 51

lactantes menores de 4 meses con infección respiratoria. Nuñez y col. (1988) determinaron que el 6% de neumonías en Colombia en niños menores de 12 meses eran causadas por *C. trachomatis*. En 1991, Videla y col. realizaron un estudio en Buenos Aires - Argentina, en 75 niños menores de 6 meses con infección respiratoria baja, encontrándose que el 21% de los mismos presentaban serología positiva para dicho agente.

En Venezuela, la infección por *C. trachomatis* no es de reporte obligatorio, según los informes del Ministerio de Sanidad y Asistencia Social (Gallegos y col. 1989), por lo cual existen escasos datos epidemiológicos al respecto.

En Valencia, Venezuela, Escalona y col. (1991) estudiaron 33 embarazadas durante el trabajo de parto, y se demostró su presencia mediante la prueba Chlamydiazime (Abbott Laboratories) en un 15,2%, encontrándose además que el 20% de los recién nacidos hijos de estas madres infectadas fueron positivos en hipopados conjuntivales.

González y col. en el Distrito Federal durante 1991, estudiaron 40 lactantes con IRA, de los cuales 12 (30,0%) resultaron con neumonía por *C. trachomatis*, confirmada por el método de inmunoensayo enzimático en aspirado nasofaríngeo.

En el Hospital Universitario de Los Andes (HULA), entre Noviembre de 1989 y Mayo de 1990, se estudiaron 7 lactantes menores de 6 meses, con diagnóstico clínico de neumonía por *C. trachomatis*, realizándosele el diagnóstico definitivo en aspirado traqueal a través del método de inmunofluorescencia directa con anticuerpos monoclonales a 3 (43,0%) de ellos (Chacín, 1991).

MATERIALES Y METODOS

Población Estudiada

Para la realización de este estudio de tipo observacional-analítico, con enfoque epidemiológico se analizaron 64 muestras de suero provenientes de lactantes, de ambos sexos, menores de 6 meses, que acudieron al Servicio de Pediatría del HULA, durante los meses de Enero a Julio de 1993, de los cuales 32 lactantes tenían diagnóstico clínico de IRA del tracto inferior y 32 con otras patologías no respiratorias como grupo control.

Para la recolección de las muestras se tomaron en cuenta datos epidemiológicos, clínicos y de laboratorio, incluyendo estudio radiológico del tórax del paciente registrados en una hoja de formato de datos, así como antecedentes de leucorrea en la madre durante el embarazo, que orientaron al diagnóstico clínico de IRA del tracto inferior por *C. trachomatis*.

RECOLECCION DE MUESTRAS

Las muestras de sangre fueron tomadas asépticamente por punción venosa o arterial de la región del antebrazo utilizando una inyectora de 6 cc. a través de un pericraneal Nro. 25. Las muestras de sangre se colocaron en tubos de ensayo de 13 x 100 mm., sin anticoagulante para la posterior separación del suero. Dichas muestras fueron rotuladas junto con su ficha y trasladadas de inmediato al Laboratorio de Inmuno-diagnóstico de la Escuela de Bioanálisis para su procesamiento.

Con el fin de separar los sueros del paquete globular las muestras fueron centrifugadas a 3.000 r.p.m. durante 10 minutos, en una centrífuga Hettch (Roto Silenta III). Los sueros así obtenidos se repartieron en 3 alícuotas y se congelaron a -70°C hasta su procesamiento.

METODOLOGIA

Los anticuerpos anti-C. trachomatis tipo IgG e IgM, fueron determinados por el método de microinmuno-fluorescencia indirecta (IFI) diseñado por Wang y col. 1974, el cual se fundamenta en la reacción del anticuerpo específico anti - C. trachomatis presente en el suero con el antígeno serotipo L2, cultivado en embrión de pollo, previamente fijado e inactivado en una lámina; el complejo antígeno-anticuerpo se visualizó por la adición de una anti-inmunoglobulina marcada con fluorocromo, éste se fijó a las moléculas del anticuerpo específico anti-C. trachomatis combinadas con el antígeno.

REACTIVOS

Antígeno: C. trachomatis serotipo L2, cultivada en embrión de pollo, luego inactivada y fijada en láminas portaobjeto (bioMERIEUX 7 - 205-1).

Conjugado Fluorescente: Anti-inmunoglobulinas humanas totales obtenidas en cabra, marcadas con fluoresceína y azul de Evans como contraste (bioMERIEUX 7-207-1). Anti-inmunoglobulinas humanas IgM obtenidas en cabra y diluídas por PBS pH: 7, según su título óptimo (Fluoline - M-bioMERIEUX).

Sueros humanos controles positivos y negativos.

Fluoroprep: medio de montaje para inmunofluorescencia pH: 7,6 (bioMERIEUX).

PROCEDIMIENTOS

Los sueros, previamente descongelados fueron diluídos en tampón fosfato salino (PBS)pH: 7, a partir de 1:8 para la determinación de IgM, y de 1:16 para IgG; igual procedimiento se realizó para los sueros controles positivos y negativos.

Diez (10)ul de las respectivas diluciones fueron agregados en cada pozo de las láminas fijadas con el antígeno. Las láminas fueron incubadas en cámara húmeda de 37°C ($+2^{\circ}\text{C}$) durante 30 minutos. Luego se procedió a lavarlas 2 veces con PBS durante 15 minutos, se escurrieron golpeando el borde de las mismas sobre papel filtro y se secaron.

A cada pozo se agregaron diez (10)ul de conjugado polivalente o anti IgM, según el tipo de determinación a realizar. Se procedió nuevamente a incubar, lavar y secar en las condiciones descritas anteriormente. A cada uno de los pozos se agregó una gota de medio de montaje, y cada lámina fue cubierta con una laminilla de 22 x 55 mm., espesor N° 1.

Las láminas fueron observadas en un microscopio para fluorescencia con sistema de Epiluminación (Zeiss), utilizando objetivo de 40X, ocular de 10 X, filtro excitador BG-12 y bloqueador G-510. La presencia de una fluorescencia verde manzana sobre un fondo ligeramente rojo con aspecto de "Cielo Estrellado", indicó una reacción positiva y la ausencia de ésta, con fondo de la preparación ligeramente rojo, indicó una reacción negativa.

METODOLOGIA ESTADISTICA

El análisis estadístico, se realizó en base a la prueba estadística de Contraste de Hipótesis para diferencias de medias, t-Student y la Prueba de Chi - cuadrado de Independencia. Los resultados obtenidos se ordenaron en Tablas, Gráficos y Figuras.

RESULTADOS

Fueron analizadas 64 muestras de suero provenientes de lactantes menores de 6 meses, de ambos sexos, de los cuales 32 presentaron IRA del tracto inferior y 32 otras patologías no respiratorias como grupo control.

En el gráfico 1, se muestra el número de pacientes y controles estudiados, distribuidos según el grupo etario, con un promedio de 3 meses de edad.

En la distribución por sexo, se estudiaron en total 33 (51,7%) lactantes del sexo masculino y 31 (48,4%) del femenino (Gráfico 2).

De los 32 pacientes estudiados, 24 (75,0%) pertenecían al área urbana y 8 (25,0%) a rurales del Estado Mérida (Tabla I).

En el Gráfico 3, se expresa la distribución de los títulos de IgG anti-C. trachomatis obtenidos por la técnica de I.F.I. en pacientes y controles. Para los pacientes, 12 (37,5%) resultaron negativos a la dilución 1:16 y 20 (62,5%) fueron positivos entre las diluciones 1:16 y 1:2048. En el grupo control, 8 (25,0%) se observaron

negativos a la 1:16 y 24 (75,0%) fueron positivos distribuidos entre la dilución 1:16 y 1:256, al aplicar la prueba estadística no se encontró diferencia significativa entre los pacientes y controles sino en el título 1:128.

Los resultados obtenidos para los anticuerpos tipo IgM anti-C. trachomatis en pacientes y controles, se expresan en el gráfico 4; 26 (81,2%) de las 32 muestras de los lactantes con IRA fueron positivas desde la dilución 1:8 hasta 1:1024 y 6 (18,8%) negativas para la 1:8. Para el grupo control la positividad de 16 muestras (50,0%) se distribuyó entre las diluciones 1:8 hasta 1:64. Al aplicar la prueba estadística, se observó diferencia significativa entre los pacientes y controles en títulos > 1:64, por lo cual se consideraron sugestivos de una IRA del tracto inferior por C. trachomatis. Tomando en cuenta títulos > 1:64 para IgM, de los 32 pacientes con IRA del tracto inferior, 14 casos (43,7%) presentaron títulos significativos para IgM.

El gráfico 5, nos muestra que la mayor frecuencia de títulos < 1:64 se observó en lactantes menores de 1 mes de edad y la mayor frecuencia de títulos > 1:64 se evidenció en 5 lactantes (35,7%) de 1 a 2 meses de edad, observándose que no hay diferencia significativa en estos grupos.

Con relación al sexo, la mayor frecuencia de títulos significativos para IgM (> 1:64) se observó en el masculino, con 9 casos (64,2%), mientras que hubo 5 lactantes femeninas (35,7%), con una $P < 0.05$ (Gráfico 6).

De los 14 pacientes con títulos significativos para IgM (> 1:64), 11 (78,5%) pertenecían a áreas urbanas del Estado Mérida, y el resto 21,4% (3 casos) a zonas rurales, no encontrándose diferencia significativa entre ambos grupos (Figura 1).

En los pacientes estudiados, la tos y dificultad respiratoria, fueron los motivos de consulta más frecuentes (Gráfico 7).

Al analizar el Gráfico 8, se observa que 15 (46,8%) de los lactantes presentaron diagnóstico clínico de bronconeumonía, de los cuales (57,1%) presentaron títulos de IgM > 1:64, seguido de 8 (25,0%) casos con diagnóstico clínico de neumonía por C. trachomatis y sólo 2 (14,2%) de ellos resultaron significativos para este anticuerpo, al aplicar la prueba estadística, no se encontró diferencia significativa.

La variable leucorrea en el último trimestre del embarazo de las madres, se reportó en 25 casos (78,1%), la misma estuvo presente en 9 (64,2%) de los 14 lactantes con IgM > 1:64, con una $P < 0.05$ (Gráf. 9).

De los 32 neonatos, 25 (78,1%) nacieron por vía vaginal, y 7 (21,8%) por cesárea (Figura 2). De los primeros, 12 (85,7%) presentaron títulos para IgM anti C.

trachomatis >1:64. Estos se observaron sólo en 2 (14,2%) lactantes nacidos por cesárea, encontrándose una diferencia significativa de $P > 0.05$ entre ambos grupos.

Al analizar las manifestaciones clínicas de los lactantes con IRA del tracto inferior y títulos > 1:64 del IgM anti-C. trachomatis, la fiebre se presentó en 15 (46,8%) de los 32 pacientes, 8 (57,1%) presentaron títulos significativos para IgM, y presentaron "tos en Staccato" 9 (28,1%), de los cuales sólo 3 (21,4%) resultaron IgM > 1:64. En el examen auscultatorio de pulmones, los hallazgos más frecuentes fueron: crepitantes en 14 casos (43,7%) y sibilantes en 10 (25,0%) de los 32 pacientes estudiados, resultando significativos para el anticuerpo IgM, 6 casos (42,8%) para crepitantes y 4 (28,5%) para sibilantes. En los estudios radiológicos, se observó infiltrado intersticial en 20 (62,5%) de los pacientes, de los cuales 10 (71,4%) presentaron títulos significativos para IgM. En 14 (43,7%) de las 32 radiografías de ingreso había imágenes de hiperinsuflación pulmonar, de los cuales 4 (28,5%) resultaron significativos para IgM, al aplicar la prueba estadística no se encontró diferencia entre pacientes con título > 1:64 y aquellos que no los tuvieron al relacionarlos con las variables clínicas, radiológicas y los resultados de laboratorio (Gráfico 10).

La conjuntivitis se presentó en 12 casos (37,5%) de los 32 pacientes, de los cuales 5 la presentaron dentro de la primera semana después del nacimiento y 7 después de la primera. De los 12 lactantes que presentaron conjuntivitis sólo 4 (28,5%) obtuvieron títulos significativos para IgM anti-C. trachomatis, en 2 de los casos la conjuntivitis fue unilateral y en el resto fue bilateral, con una $p > 0.05$ (Gráfico 11).

TABLA I - Distribución de Lactantes con IRA. Tracto inferior de acuerdo a su procedencia. Mérida, 1993.

Procedencia	Número	Porcentaje
Urbana	23	75,0
Rural	8	25,0
Total	32	100,0

DISCUSION

En 1975, se describió un caso de neumonía infantil seguido de conjuntivitis de inclusión (Schachter y col. 1975). En 1977, Beem y Saxon relacionaron un síndrome de neumonitis característica con infección clamidial. Este estudio, junto con una serie de casos de neumonía en infantes descritos por Harrison y col. (1978), condujo a una apreciación que C. trachomatis

es causa frecuente de dicha patología, en infantes menores de 6 meses de edad.

La neumonía debida a *C. trachomatis* tiene implicaciones epidemiológicas, clínicas y terapéuticas diferentes a las causadas por otros agentes infecciosos (Dworsky y Stagno, 1982); los lactantes enfermos no siempre ameritan hospitalización, pero si no son tratados adecuadamente con antibióticos específicos como: Eritromicina y Trimetropin Sulfametoxazol, la enfermedad puede prolongarse por varios meses, interfiriendo con la alimentación y el progreso del niño, aumentando el riesgo de enfermedad obstructiva de las vías aéreas inferiores en etapas sucesivas de la vida (Brasfield y col. 1987), de allí la importancia de establecer el diagnóstico precoz.

La serología es particularmente útil para el diagnóstico de la neumonía clamidial en lactantes (Schachter y col. 1982). En nuestro estudio se aplicó la prueba de inmunofluorescencia indirecta (IFI) para detectar anticuerpos tipo IgG y IgM anti - *C. trachomatis* en suero de lactantes. Los diferentes títulos obtenidos se observan en los gráficos 3 y 4. De estos resultados se puede deducir que niveles de IgG son menos útiles que los de IgM contra este microorganismo, debido a que los lactantes poseen considerables niveles de IgG maternos, los cuales son pasados a través de la placenta durante la gestación, y que tardan de 6 a 12 meses en desaparecer (Schachter y col. 1986). Esto explica los resultados obtenidos en los niños que se utilizaron como grupo control, de los cuales 24 (75,0%) presentaron títulos para IgG anti - *C. trachomatis* desde 1:16 a 1:256 (Gráfico 3). La totalidad de estos lactantes no mostraron manifestaciones clínicas de IRA. Tal observación se corresponde con un estudio realizado por Schachter y col. en 1986, donde el 60% de sus lactantes controles, sin enfermedad clínicamente detectable, presentaron

anticuerpos anti-*C. trachomatis* tipo IgG, con títulos sobre 1:64 y el 57,0% estuvieron sobre 1:256, todos ellos, al hacerles un seguimiento después de los 9 meses de edad, perdieron sus anticuerpos tipo IgG obtenidos maternalmente, y ninguno desarrolló anticuerpos tipo IgM. Según este estudio, los lactantes mayores de 9 meses de edad podrían ser analizados para determinar la prevalencia de la infección clamidial detectando anticuerpos anti - *C. trachomatis* tipo IgG, sin temor a confundirse con los efectos de los anticuerpos maternos. La determinación de IgG, es una prueba que no es de ayuda diagnóstica para IRA del tracto inferior por *C. trachomatis* en lactantes menores de 6 meses de edad.

Con respecto a la utilidad de la determinación de los anticuerpos tipo IgM anti-*C. trachomatis* en el diagnóstico de la IRA del tracto inferior por este microorganismo, en el gráfico 4 que muestra la distribución de títulos de pacientes y controles se observa que la determinación de este parámetro, a diferencia de la detección de la IgG, si resulta útil como herramienta diagnóstica de dicha patología, como también lo demuestran Schachter y col. en su estudio de 1986, donde encontraron títulos de IgM para los pacientes desde 1:32 hasta 1:4096. Su utilidad se corrobora porque se observan diferencias significativas entre los títulos de IgM de pacientes y controles, además que este tipo de anticuerpo es producido por el lactante en respuesta a la infección dentro de los 7 días posteriores a ésta, y porque la IgM no atraviesa la membrana placentaria (Harrison y col. 1986).

Teniendo como base la revisión de los resultados obtenidos por diferentes autores como Puolakkainen y col. en 1984, los cuales establecieron que títulos > 1:64 para IgM y títulos > 1:512 para IgG anti-*C. trachomatis*, determinados por la prueba de IFI son criterios para considerar un diagnóstico definitivo de neumonía por

FIGURA 1 TITULOS SIGNIFICATIVOS ($\geq 1:64$) DE IgG ANTI- *C. trachomatis*. LACTANTES CON IRA TRACTO INFERIOR SEGUN SU PROCEDENCIA. MERIDA 1993

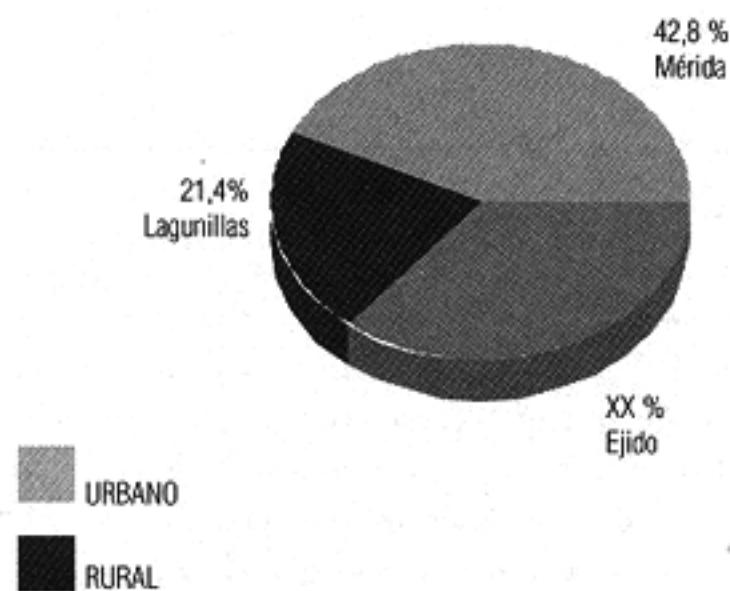


FIGURA 2 TITULOS DE IgG ANTI- *C. trachomatis*. LACTANTES CON IRA TRACTO INFERIOR SEGUN TIPO DE NACIMIENTO. MERIDA 1993

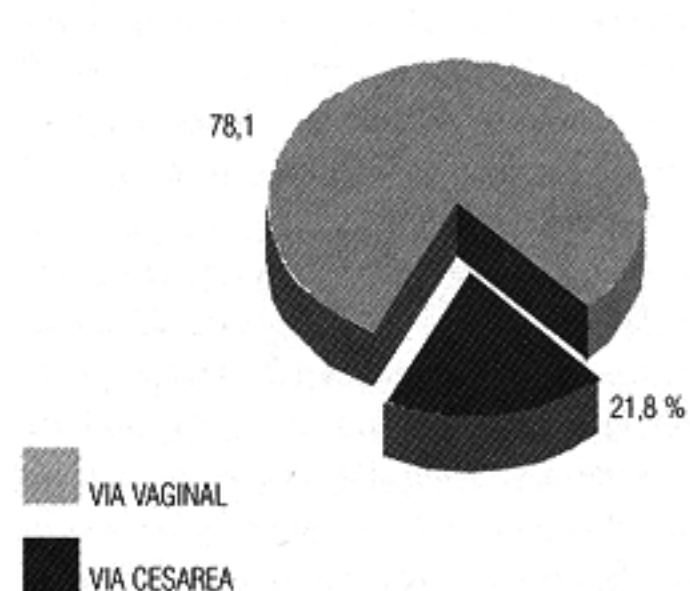


GRAFICO 1 LACTANTES CON IRA TRACTO INFERIOR Y CONTROLES SEGUN GRUPO ETARIO. MERIDA 1993

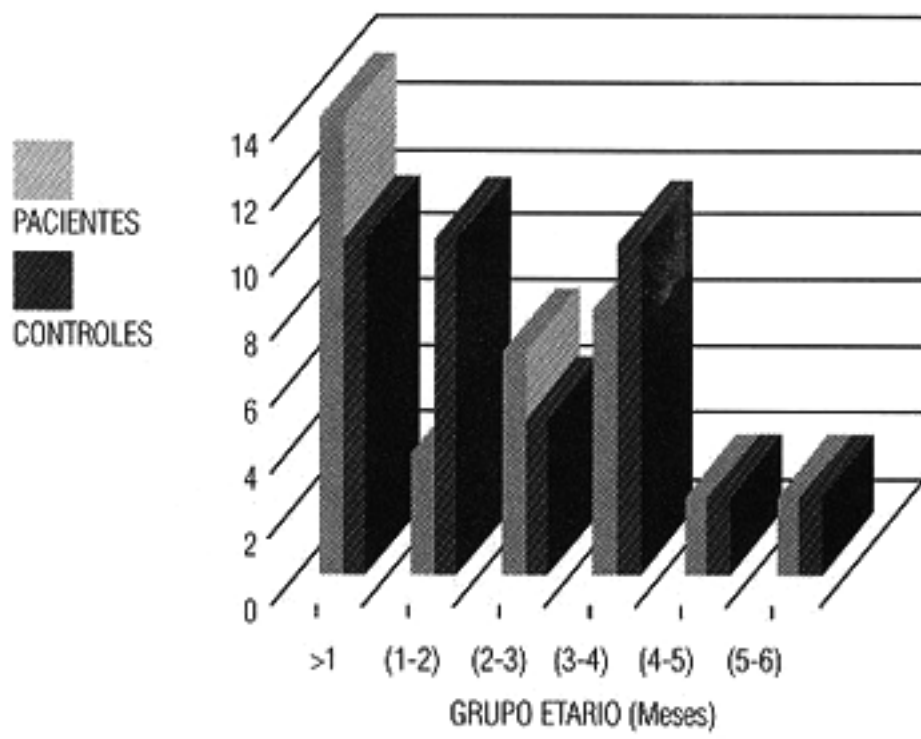


GRAFICO 2 TITULOS DE IgG ANTI- *C. trachomatis*. LACTANTES CON IRA TRACTO INFERIOR SEGUN TIPO DE NACIMIENTO. MERIDA 1993

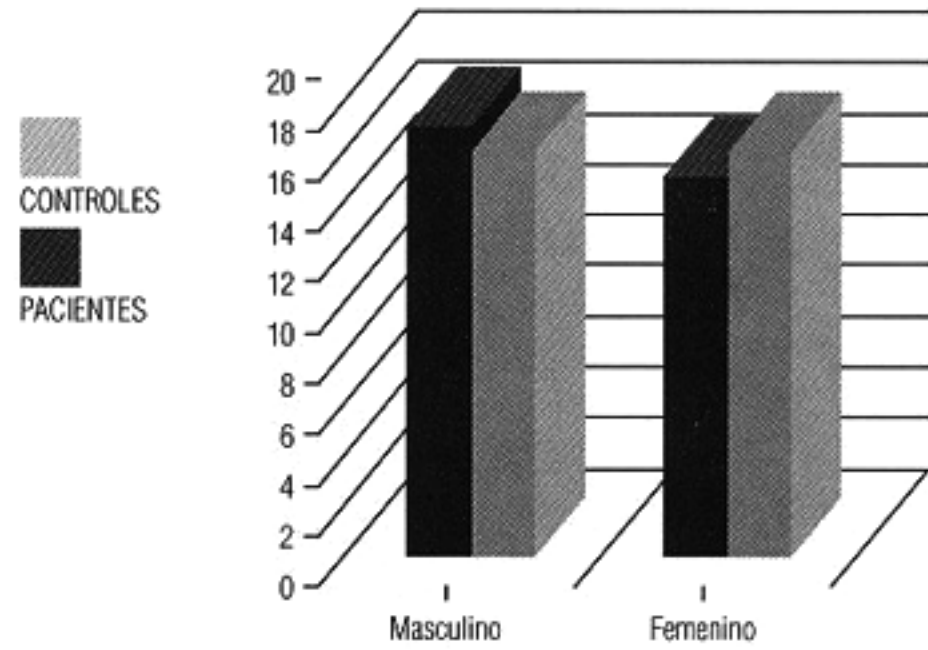


GRAFICO 3 DISTRIBUICION DE TITULOS IgG ANTI- *C. trachomatis*. LACTANTES CON IRA TRACTO INFERIOR Y CONTROLES. INMUNOFLUORESCENCIA INDIRECTA. MERIDA 1993

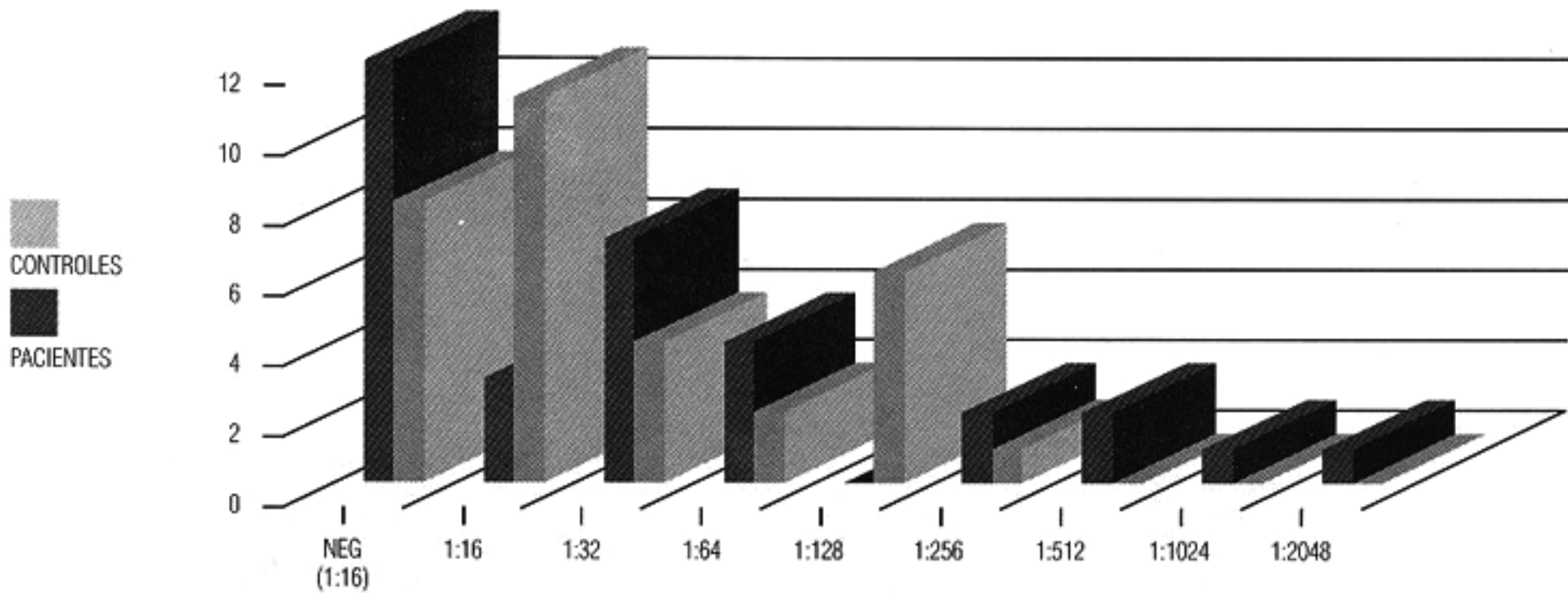


GRAFICO 4 DISTRIBUICION DE TITULOS IgG ANTI- *C. trachomatis*. LACTANTES CON IRA TRACTO INFERIOR Y CONTROLES. INMUNOFLUORESCENCIA INDIRECTA. MERIDA 1993

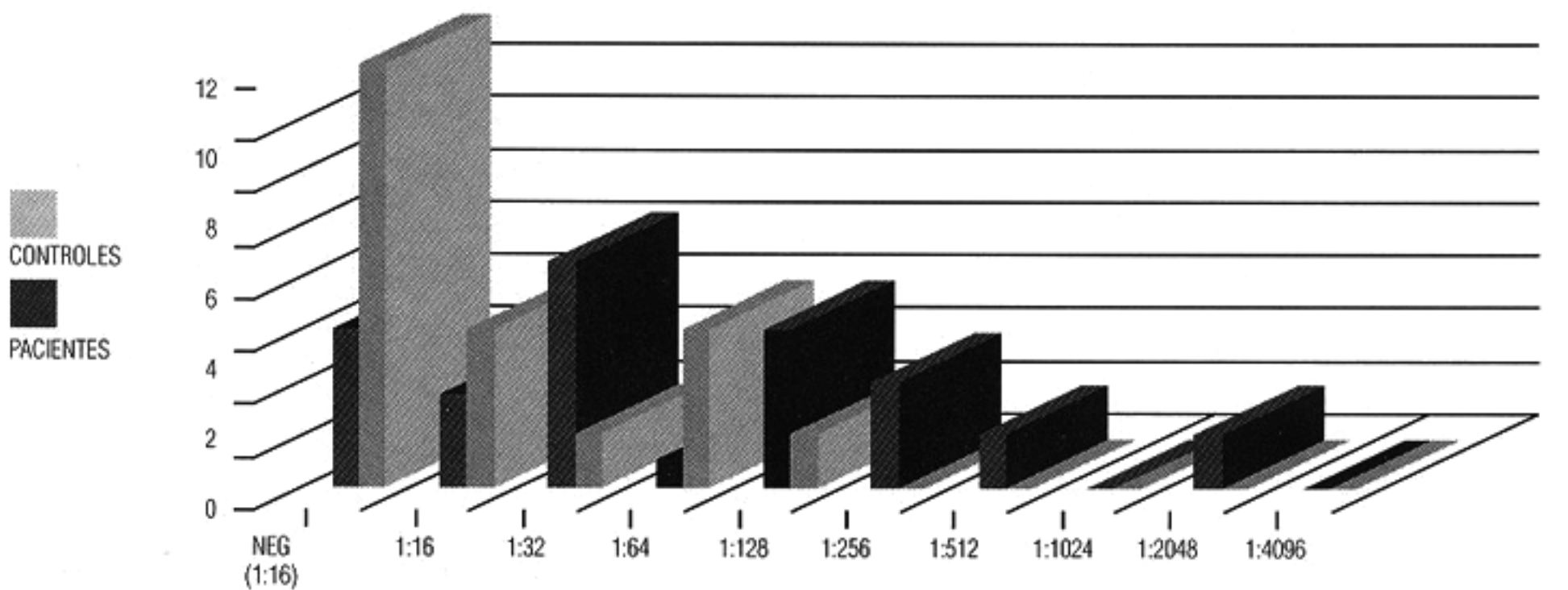


GRAFICO 5 TITULOS SIGNIFICATIVOS ($\geq 1:64$) DE IgG ANTI- *C. trachomatis*. LACTANTES CON IRA TRACTO INFERIOR. SEGUN GRUPO ETARIO. MERIDA 1993

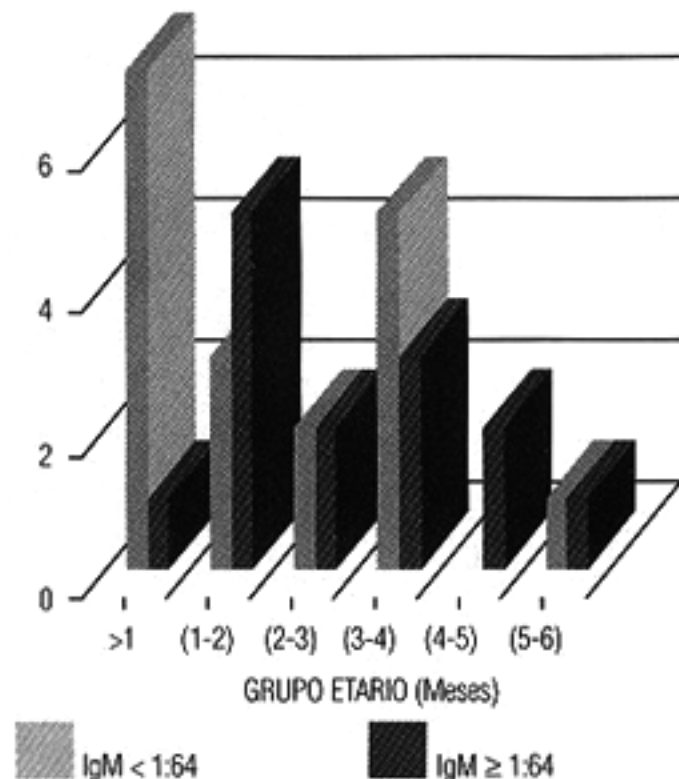


GRAFICO 6 TITULOS SIGNIFICATIVOS ($\geq 1:64$) DE IgG ANTI- *C. trachomatis*. LACTANTES CON IRA TRACTO INFERIOR. SEGUN SEXO. MERIDA 1993

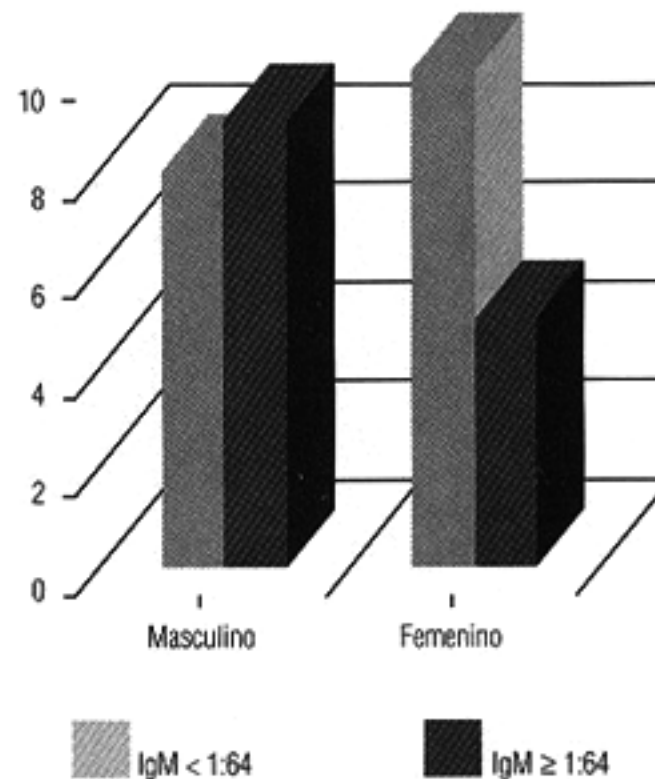


GRAFICO 7 TITULOS SIGNIFICATIVOS ($\geq 1:64$) DE IgG ANTI- *C. trachomatis*. LACTANTES CON IRA TRACTO INFERIOR SEGUN MOTIVO CONSULTA. MERIDA 1993

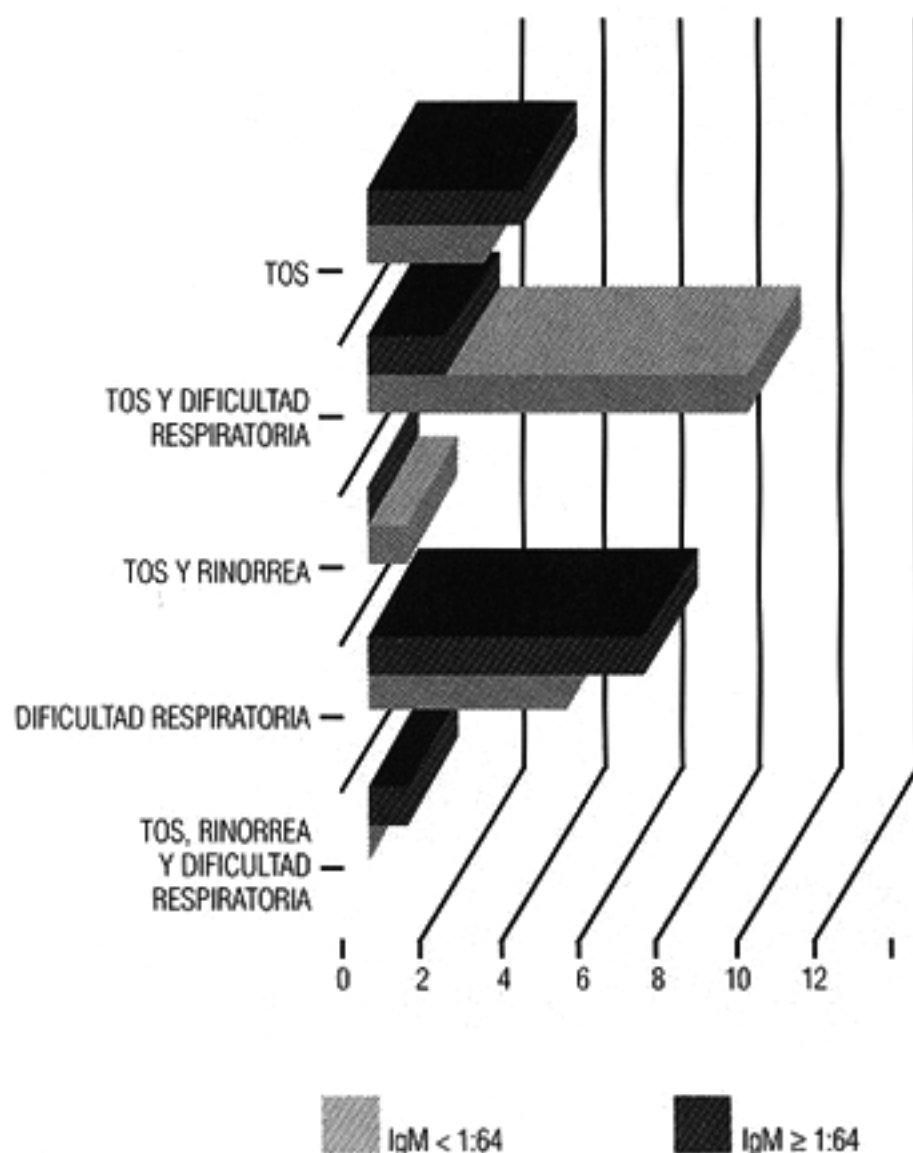


GRAFICO 8 TITULOS SIGNIFICATIVOS ($\geq 1:64$) DE IgG ANTI- *C. trachomatis*. LACTANTES CON IRA TRACTO INFERIOR SEGUN DIAGNOSTICO CLINICO. MERIDA 1993

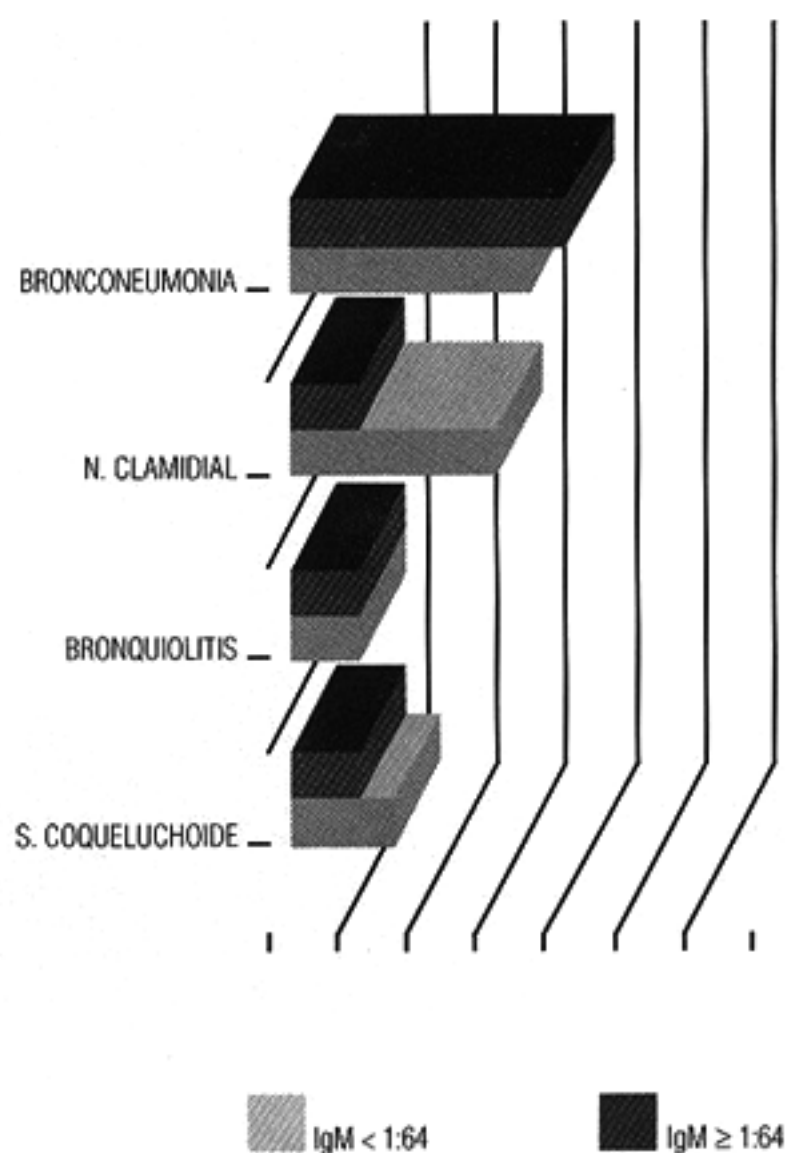


GRAFICO 9 TITULOS DE IgG ANTI- *C. trachomatis*. LACTANTES CON IRA TRACTO INFERIOR Y ANTECEDENTES MATERNOS DE LEUCORREA. MERIDA 1993

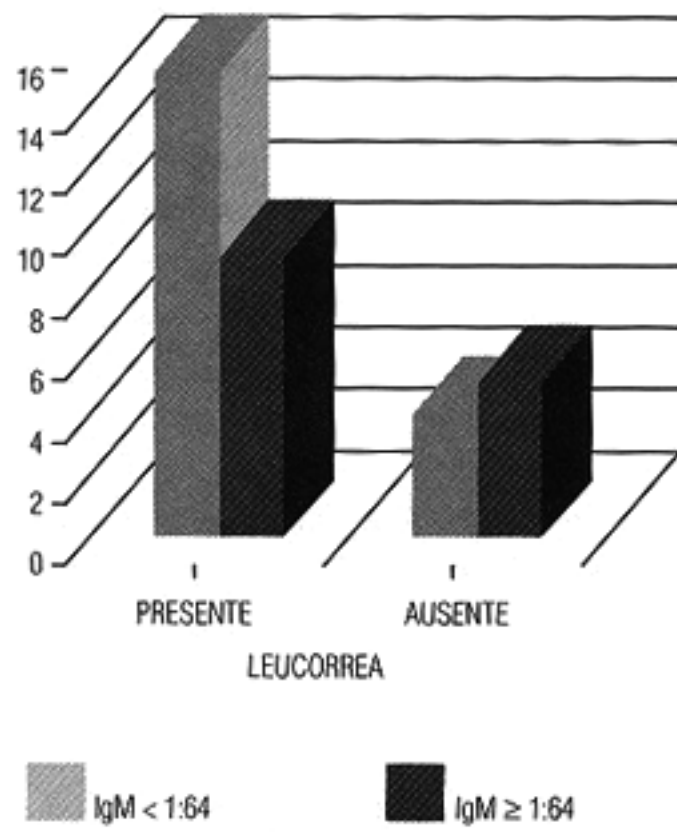


GRAFICO 11 TITULOS DE IgG ANTI- *C. trachomatis*. LACTANTES CON IRA TRACTO INFERIOR. SEGUN PRESENCIA DE CONJUNTIVITIS. MERIDA 1993

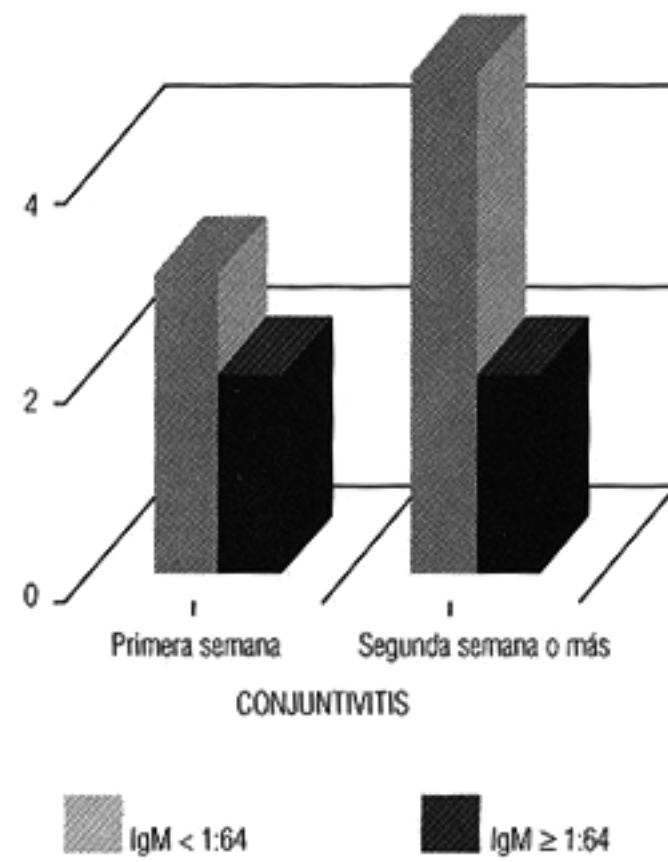
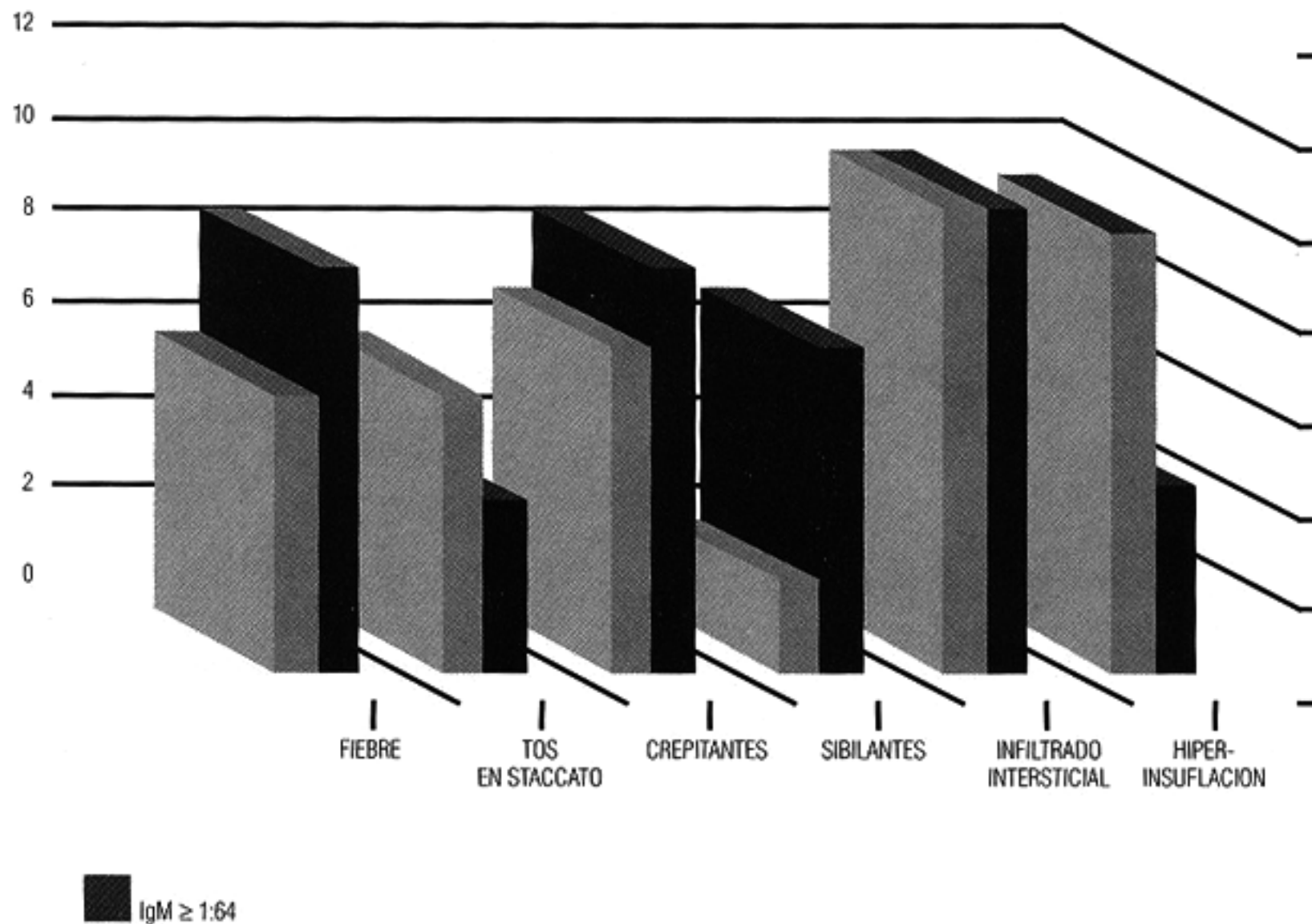


GRAFICO 10 TITULOS DE IgG ANTI- *C. trachomatis*. LACTANTES CON IRA TRACTO INFERIOR AGRUPADOS SEGUN CRITERIOS CLINICOS Y RADIOLOGICOS. MERIDA 1993



IgM < 1:64 IgM ≥ 1:64

dicho microorganismo en lactantes. Del mismo modo Schachter y col. en 1982 sostienen que títulos simples de IgM > 1:32 podrían mantener el diagnóstico de neumonía clamidial. Saikku (1988) propone que la presencia de anticuerpos tipo IgM en títulos > 1:32 es criterio para el diagnóstico inmunológico de las infecciones recientes por *C. trachomatis*, asimismo, considera que títulos de IgG entre 1:32 y 1:256 son evidencia de infección previa.

Según los resultados obtenidos en esta investigación, aplicando el método de IFI, se consideró que títulos > 1:512 para la IgG y > 1:64 para la IgM (Gráficos 3 y 4), son títulos significativos para orientar un diagnóstico temprano de esta infección.

Según los resultados de esta investigación las variables edad y sexo, para los pacientes con IgM anti - *C. trachomatis* > 1:64 no intervienen en el desarrollo de una IRA del tracto inferior (Gráficos 5 y 6). Sin embargo, se puede observar que el mayor número de casos con títulos significativos 5 (35,7%) para IgM se encontró entre 1 y 2 meses de edad, y el mayor número de casos < 1:64 para IgM, se encontró en lactantes menores de 1 mes (Gráfico 5), esto probablemente debido al tiempo que el niño requiere para formar sus anticuerpos clase IgM.

Se considera que la procedencia del paciente, tampoco fue una variable importante para el desarrollo de la infección, pues si bien hubo un mayor número de casos positivos en el área urbana, esto probablemente obedeció a que también el mayor número de casos estudiados provenían de dicha área. (Tabla 1).

El motivo de consulta e ingreso al hospital más frecuente en niños con IRA del tracto inferior estudiados, fué tos y dificultad respiratoria, al igual que lo reportado por Chacín (1991) y Gutiérrez y col. (1991) (Gráfico 7).

La bronconeumonía constituyó el diagnóstico predominante en este estudio con 15 casos (46,8%) (Gráfico 8). Según los resultados de laboratorio, 8 (57,1%) de los lactantes diagnosticados clínicamente con bronconeumonía, presentaron títulos significativos para IgM por IFI, lo cual sugiere que en estas bronconeumonías, *C. trachomatis* se involucró como agente causal o que hubo infección mixta. De los 8 niños con diagnóstico clínico de neumonía, en 7 (87,5%) no hubo correlación de los datos clínicos y radiológicos con las determinaciones de IgM (Gráfico 8), se considera que el método de IFI es de alta sensibilidad y especificidad para la determinación de este anticuerpo según lo demuestra Puolakkainen y col. (1984), no se descarta que el diagnóstico clínico haya sido incierto por lo indistinguible de síndromes asociados a Citomega-

lovirus, *Pneumocystis carinii* y *Ureaplasma urealyticum*, los cuales no fueron investigados.

Se ha reportado que la infección por *C. trachomatis* es más frecuente en mujeres de 15 a 20 años y declina marcadamente a medida que la edad avanza (Faro, 1985). En este estudio, 5 (35,0%) de las madres de los 14 pacientes con títulos significativos de IgM estaban dentro de ese rango de edad. Sólo un caso cuya madre tenía 43 años resultó significativo para los anticuerpos específicos anti - *C. trachomatis*, esto coincide con lo reportado por Ogle y col. (1986), quienes describieron a un lactante con neumonía clamidial cuya madre tenía 40 años de edad.

La presencia de leucorrea en la madre, durante el último trimestre del embarazo, no constituyó un dato clínico significativo para apoyar el diagnóstico de una IRA del tracto inferior por *C. trachomatis*, esto quizás debido a que la leucorrea puede presentarse por otras causas (Gráfico 9).

Es importante destacar que de los 14 pacientes con títulos significativos para IgM anti-*C. trachomatis*, 12 (85,0%) nacieron por vía vaginal y 2 (15,0%) por cesárea (Figura 2), lo cual sugiere que la infección a través del paso del lactante por el canal del parto es más frecuente que la infección transamniótica. Harrison y col. (1986) opinan que la transmisión de *C. trachomatis* "in utero" no se produce, a menos que se ocasione una ruptura prematura de membranas, sin embargo, otros autores a pesar de considerar que la infección clamidial en lactantes nacidos por cesárea es muy rara, admiten que se puede producir. Numazaki y col. (1986), quienes encontraron resultados similares a los que arrojó esta investigación, con dos pacientes positivos para IgM, nacidos por cesárea, de un total de 16 pacientes positivos para este anticuerpo, Givner y col. (1981) reportaron el caso de un infante nacido por cesárea con infección por *C. trachomatis*. Mardh y col. (1984) publicaron un caso de infección respiratoria intrauterina en un infante prematuro nacido por cesárea a las 29 semanas de gestación. Por su parte Lagos y col. (1987) en 31 pacientes embarazadas, obtuvieron 2 casos positivos para el citado agente en líquido amniótico, detectados por la reacción en cadena de la polimerasa. El presente estudio, aunado a todos los antes mencionados, no descarta la posibilidad de infección intrauterina por *C. trachomatis*. El mecanismo de infección intraamniótica aún no está claro, pero una fuerte asociación entre infecciones urogenitales y las intraamnióticas sugiere que el ascenso del microorganismo desde la vagina y el cérvix, puede ser una probable ruta a través de la cual el microorganismo

logra acceso a la cavidad amniótica, lo que podría significar la forma por la cual *Chlamydia* puede ser transmitida al lactante antes del nacimiento (Chia y col. 1991).

La ausencia de fiebre y de reacción sistémica son aspectos clínicos característicos de la neumonía debida a *C. trachomatis* (Tipple y col. 1979; Chacín, 1991; González y col. 1991). Sin embargo, de los 14 pacientes con títulos significativos para IgM, 8 (53,3%) presentaron fiebre de menos de 2 días de evolución (Gráfico 10), pero ella no fué un parámetro definitivo para el diagnóstico de IRA del tracto inferior por *C. trachomatis*. Por otro lado, presumimos que ésta pudo deberse a su asociación con otro microorganismo, el cual sí produjo esta reacción sistemática en el lactante. En otro estudio realizado por González y col. (1991), también se encontró presencia de fiebre en 6 pacientes (15%) que presentaban reumonía por *C. trachomatis*.

La "tos en Staccato" es un signo presente en el 100% de los casos de neumonía por el citado agente, así lo reportan estudios como los realizados por Tipple y col. (1979), González y col. (1991) y en el 71% de los casos positivos en el estudio realizado por Chacín y col. (1991). En este estudio se reportan 9 casos (28,1%) con "tos en Staccato" de los cuales sólo 3 (21,4%) presentaron títulos significativos para los anticuerpos específicos anti - *C. trachomatis* tipo IgM (Gráfico 10). Estos resultados no coinciden con los estudios citados y se infiere que pudo ser debido a que este signo no fue bien reconocido por el facultativo. Se admite que este parámetro clínico constituye un hallazgo importante y decisivo para el diagnóstico presuntivo de neumonía por *C. trachomatis*, según lo reportado por los autores mencionados anteriormente.

Un hallazgo relevante en este estudio fue la presencia de crepitantes al exámen auscultatorio de pulmones en 6 (42,8%) de los casos con títulos significativos para IgM, este porcentaje es menor a los obtenidos por Stagno y col. (1981) quienes reportaron 77% de presencia de crepitantes y Chacín y col. (1991) quienes encontraron este hallazgo en 86% de los pacientes.

De los signos radiológicos más frecuentes de este estudio, el infiltrado intersticial se observó en 20 (62,5%) casos, y la hiperinsuflación pulmonar en 13 (40,6%). Al hacer el inmunodiagnóstico son pocos los positivos que se correlacionan con la presencia de hiperinsuflación pulmonar, por el contrario tenemos que 71,4% de los pacientes con IgM > 1:64 presentaban al exámen radiológico infiltrado intersticial (Gráfico 10). Estos hallazgos no son específicos y coinciden con lo reportado en casos de infecciones virales del tracto

respiratorio, lo cual podría explicar en parte la falta de correlación entre la hiperinsuflación pulmonar y nuestros resultados de laboratorio. En una investigación realizada por Lagos y col. (1987) encontraron hiperinsuflación pulmonar en 8 (72,7%) e infiltrado intersticial en 5 (45,5%) pacientes positivos para *C. trachomatis*. Gutiérrez y col. (1991), reportan un 100% de hiperinsuflación pulmonar e infiltrado intersticial parahiliar, en pacientes con neumonía por *C. trachomatis*, según dichos autores estos criterios son básicos para el diagnóstico. González y col. en un estudio de 40 pacientes realizado en 1991, observaron en 10 de ellos (25%) infiltrado intersticial bilateral e imagen de hiperinsuflación. Aún cuando estos hallazgos son inespecíficos y no distintivos de la neumonía por *C. trachomatis*, son los criterios radiológicos básicos hasta ahora descritos como orientadores para alertar al clínico sobre esta posibilidad diagnóstica. Los resultados obtenidos en este estudio, concuerdan con la mayoría de los mencionados anteriormente.

La conjuntivitis fue un dato clínico que se observó en 12 de los pacientes estudiados (Gráfico 11), bien sea en forma simultánea o referida como un antecedente. La conjuntivitis de inclusión por *C. trachomatis* en el lactante comienza de 5 a 14 días después del nacimiento, a diferencia de la oftalmía gonocócica que tiene un período de incubación más corto, apareciendo de 3 a 5 días después del nacimiento. Según Tipple y col. (1979) y Branfield y col. (1987), la conjuntivitis se puede presentar desde un 10% a un 50% de los casos de neumonía clamidial. Esto coincide con el hallazgo de 28,5% de conjuntivitis en nuestros pacientes con IRA del tracto inferior por *C. trachomatis* con títulos significativos del IgM (Gráfico 11). González y col. (1991), encontraron conjuntivitis en un 55% de los casos con neumonía positivos para *C. trachomatis*. Gutiérrez y col. (1991), reportaron 40% de conjuntivitis en los casos de neumonía clamidial estudiados.

Los resultados obtenidos en este primer estudio realizado en nuestro país, en el cual se determinaron anticuerpos anti-*C. trachomatis* por el método I.F.I. nos permiten afirmar que la prueba facilita la orientación del clínico hasta el diagnóstico de IRA tracto inferior donde el citado microorganismo se involucra como agente único o asociado, y representa una alternativa frente a los cultivos o determinación de antígenos por procedimientos directos, los cuales a pesar de su especificidad, requieren de métodos invasivos para la obtención de la muestra, que resultan de riesgos para el paciente.

CONCLUSIONES

El método de inmunofluorescencia indirecta representa una alternativa importante para el diagnóstico de IRA del tracto inferior por *C. trachomatis*.

Títulos de IgM anti-*C. trachomatis* > 1:64 son significativos de una infección por este microorganismo en lactantes con IRA del tracto inferior.

Se demostró la alta frecuencia IRA del tracto inferior por *C. trachomatis* (43,7%), lo cual se correlaciona con los resultados reportados por otros autores en países industrializados.

El grupo etario más afectado fué el de lactantes entre 1 y 2 meses de edad, constituyendo el 15,6% del total de pacientes estudiados.

Es importante considerar a la *C. trachomatis* como un posible agente etiológico en los lactantes menores de 6 meses con IRA del tracto inferior, ya que la misma puede conllevar a la obstrucción de las vías aéreas en etapas sucesivas de la vida.

Los criterios clínicos - radiológicos constituyen elementos orientadores para el diagnóstico presuntivo, pero no definitivo de IRA del tracto inferior por *C. trachomatis*.

Se debe considerar el diagnóstico de IRA del tracto inferior por *C. trachomatis*, como factor importante para diferenciarla de otras IRA, en lactantes menores de 6 meses.

RECOMENDACIONES

Implantar como método de rutina la determinación de anticuerpos clase IgM anti-*C. trachomatis* para el diagnóstico temprano de esta infección.

Concientizar a los pediatras sobre la importancia de investigar la presencia de *C. trachomatis* en lactantes menores de 6 meses con IRA del tracto inferior.

Realizar nuevos estudios a fin de conocer la prevalencia de la neumonía clamidial en Venezuela y su asociación a otros patógenos, en caso de IRA del tracto inferior.

Continuar con esta investigación con un número mayor de pacientes y por un método más largo de tiempo de fin de estimar la incidencia.

Fomentar el interés de esta línea de investigación a nivel de otras especialidades.

AGRADECIMIENTO

A Reinaldo López, por la colaboración prestada en el trabajo de Laboratorio.

Al C.D.C.H.T., organismo que financió nuestra investigación.

Al Servicio de Emergencia Pediátrica del Hospital Universitario de Los Andes, área donde se realizó esta investigación.

Al Laboratorio de Inmunodiagnóstico de la Escuela de Bioanálisis, donde se ejecutó el trabajo.

A la ilustre Universidad de Los Andes, por darnos la oportunidad de formarnos profesionalmente.

A los médicos residentes por su constante colaboración.

A los pequeños pacientes y sus madres, material humano imprescindible en la realización de este estudio.

BIBLIOGRAFIA

- Battiger, B.; Newhall, W.; et al. Antigenic analysis of the major outer membrane protein of *Chlamydia trachomatis* with murine monoclonal antibodies. *Infect. Immun.* 53 (3): 530-533. 1986.
- Bell, T.; Stamm, W. Delayed appearance of *Chlamydia trachomatis* infections acquired at birth. *Pediatr. Infect. Dis J.* 6: 928 - 931. 1988.
- Beem, M.; Saxon, E. Respiratory - tract colonization and distinctive pneumonia syndrome in infants infected with *Chlamydia trachomatis*. *N. Engl. J. Med.* 296 (6): 306 - 310. 1977.
- Brasfield, D.; Stagno, S.; Witley, R.; Cloud, G.; Cassel, G.; Tiller, R. Infant pneumonitis associated with Cytomegalovirus, *Chlamydia*, *Pneumocystis* and *Ureaplasma*: follow - up. *Pediatr* 79 (1): 76 - 86. 1987.
- Carballal, G.; Siminovich, M.; et al. Etiologic, Clinical, and Pathologic analysis of 31 total cases of acute respiratory tract infection in Argentinian children under 5 years of age. *Rev. Infect. Dis.* 12 (8): 1074 - 1080. 1990.
- Cecil. R. Tratado de Medicina Interna. 12^é ed. México Editorial Interamericana. p.p. 1863 - 1866. 1986.
- Chacín Y. Neumonía en niños menores de 6 meses debido a *Chlamydia trachomatis* diagnosticada en aspirado traqueal, Trabajo de Grado. Depto. de Pediatría. HULA. 1991.
- Chia. P.; Kao, S.; Wang H.; Lee, C. Intraamniotic detection of *Chlamydia trachomatis* deoxyribonucleic acid sequences by polymerase chain reaction. *Am J. Obstet. Gynecol.* 164 (5): 1295 - 1299. 1991.
- Datta P.; Laga. M.; Plummer, A.; Ndiny, J.; Piot, P.; Maitha, G.; Ronald A.; Brunham, R. Infection and disease after perinatal exposure to *Chlamydia trachomatis* in Nairobi, Kenya. *J. Infect. Dis.* 158 (3): 524 - 528. 1988.
- Dworsky, M.; Stagno, S. Newer agents causing pneumonitis in early infancy. *Pediatr. Infect. Dis.* 1 (3): 188 - 195, 1982.
- Engwall, E.; Pelman, P. Enzyme linked Immunosorbent assay (ELISA) Quantitative assay of IgG. *Immunochemistry.* 8: 871. 1971.
- Escalona, L; y col. *ARCH. VEN. PUER. PED.* 55 (2): 36. 1993.
- Faro, S. *Chlamydia trachomatis* infection in woman. *J. Reprod. Med.* 30 (3): 273 - 278. 1985.
- Fletcher, J.; Gordon, R. Perinatal transmission of bacterial sexually transmitted diseases. Part II: Group B *Streptococcus* and *Chlamydia trachomatis*. *J. Fam.*

- Pract. 30 (6): 689 - 696. 1990.
- Callegos, B.; Molero, J.; Chacín, R. Urethritis por Chlamydia trachomatis: respuesta a cuatro esquemas de tratamiento. *Medicina de Hospital*. 30: 27 - 31. 1989.
- Givner, L.; Renneis, M.; Woodward, C.; Huang, S. Chlamydia trachomatis infection in infants delivered by cesarean section. *Pediatrics*. 68: 420 - 421. 1981.
- González, G.; Morreo, M.; Rivero, D.; Adimandi, G. Investigación de la Chlamydia trachomatis en infecciones respiratorias en lactantes de 6 meses. *ARCH. VEN. PRER. PED.* 54 (3): 137 - 145. 1991.
- Graham, J.; Blanco, J. Chlamydial Infection. *Prim. Care*. 17: 85 - 93. 1990.
- Grossman, M.; Schachter, J. Prospective studies in Chlamydia in Newborns, in Mardh, P.; Holmes, K.; Oriel, J. (eds) *Chlamydial Infections*. Amsterdam. Elsevier Science Publishers: 213 -216. 1988.
- Harrison, H.; English, M.; Lee, C. Alexander, E. Chlamydia trachomatis infant pneumonitis. Comparison with matched controls and other infant pneumonitis. *Eng. J. Med.* 298 (13): 702 -708. 1978.
- Harrison, H.; Magder, L.; Boyce, T.; Hauler, J.; Becker, T.; Stewart, J.; Humphrey, D. Acute Chlamydia trachomatis Respiratory Infection in Childhood. *A.J.D.C.* 140: 1068 - 1071. 1986.
- Heggie, A.; Lumicao, G.; Stuart, L.; Gyves, M. Chlamydia trachomatis Infection in mothers and infants. *Am J. Dis. Child*. 135: 507 - 511. 1981.
- Jawetz, E.; Melnick, J.; Adelberg, E.; Brooks, G.; Butel, J.; Ornston, L. *Microbiología Médica*. 13a. ed. México. D.F. Editorial El Manual Moderno, S.A. de C.V. p.p. 286 - 294. 1990.
- Lagos R.; Goldenberg, E.; Maldonado, A.; Vildosola, C.; Méndez, M. Investigación de Chlamydia trachomatis mediante Inmunofluorescencia directa en lactantes menores de 4 meses. *Rev. Pediatría (Santiago)*. 30: 241 - 248. 1987.
- Leamette, E.; Ballows, A.; Hausler, W.; Truant, J. *Manual de Microbiología Clínica*. 4a. ed. Buenos Aires. Editorial Médica Panamericana. p.p. 1045 - 153. 1986.
- Lugenbill, C. New strep test during delivery "more sensitive". *Fam. Pract. News*. 19: 10. 1989.
- Lombardo, J.; Powel, R. Chlamydia trachomatis testing: an overview. *Am J. Clin. Lab.* 8 (30). 1985.
- Mardh P.; Johansson, P.; Svenningsen, N. Intrauterine lung infection with Chlamydia trachomatis in premature infant. *Acta Paediatr. Scand.* 73: 569 - 572. 1984.
- Martín, D. Chlamydial Infections. *Med. Clin. North America*: 74 (6): 1367 - 1387. 1990.
- Mc Gregor, J. Chlamydia infection in women. *Obstet. Gynecol. Clin. North America*. 16 (3): 565 - 592. 1989.
- Much, D.; Yeh, S. Prevalence of Chlamydia trachomatis infection in pregnant patients. *Public Health Reports*. 106 (5): 490 - 493. 1991.
- Newhall, W. Batteiger, B.; Jones, R. Analisis of the human serological response to proteins of Chlamydia trachomatis. *Infect. Immun.* 30 (3): 1181 - 1189. 1982.
- Numazaki, K., Chiba, S.; Kogawa, K.; Umetsu, M.; Montoya, H.; Nakao, T. Chronic respiratory disease in premature infants caused by Chlamydia trachomatis. *J. Clin. Pathol.* 39: 84 - 88. 1986.
- Núñez, R.; Duque, J.; Manrique, C.; Villegas, A. Niño, J. Viral and Chlamydial etiology of acute infections of the lower respiratory tract in colombian children. *Pediatr. Infec. Dis. J.* 7 (1): 69 - 70. 1988.
- Ogle, K.; Nguyen, Q.; Barry, H. Chlamydia pneumonitis in an infant of a Vietnamese refuge family. *J. Fam. Pract.* 23 (3): 207 - 213. 1986.
- OPS. *Bol Epidemiol.* 7 (5 - 6): 7 - 11, 1986.
- Preece, E.; Anderson, J.; Thompson, R. Chlamydia trachomatis Infection in infants a prospective study. *Archives of disease in childhood*. 64: 525 - 529.
- Puolakkainen, M.; Saikku, P.; Leinonen, M.; Nurminen, M.; Vaananen, P.; Makela, H. Chlamydial pneumonitis and its serodiagnosis in infants. *Journal of Infect Diseases*. 149 (4): 598 - 604. 1984.
- Saikku, P. Acute Lower - Respiratory - trast infection associated with Chlamydial TWAR antibody in philipino children. *J. Infect. Dis.* 158 (5): 1095 - 1097. 1988.
- Schachter, J.; Lum, L.; Gooding, C. Pneumonitis following inclusion bleannorrhoea. *J. Pediatr.* 98: 779 - 780. 1975.
- Schachter, J.; Grossman, M.; Azimi, P. Serology of Chlamydia trachomatis in infants. *J. Infect. Dis.* 146 (4): 530 - 535. 1982.
- Schachter, J.; Grossman, M. Sweet, R.; Holt, J.; Jordan, C.; Bishop, E. Prospective study of perinatal transmission of Chlamydia trachomatis. *Jama*. 27 (255): 3374 -3377. 1986.
- Stagno, S.; Brasfield, D.; Brown, H.; Cassell, G. Pifer, L.; Whitley, R.; Tiller, R. Infant pneumonitis associated with Cytomegalovirus, Chlamydia, Pneumocystis and Ureaplasma: a prospective study. *Pediatrics*. 68 (3): 322 - 329, 1981.
- Tipple, M.; Beem, M.; Saxon, E. Clinical characteristics of the afebrile pneumonia associated with Chlamydia trachomatis infection in infants less than 6 months of age. *Pediatrics*. 63 (2): 192 - 197. 1979.
- Videla, V.; Carballal, G.; Keklikian, C.; García, A.; Gómez, M.; González, C.; Mendiola, S.; Juárez, C.; Celadilla, M.; Nejamkis, M. Serología para Chlamydia trachomatis en neonatos con infección respiratoria, en mujeres embarazadas y en estériles. *Boletín de la Sociedad Venezolana de Microbiología*. 11 (1): 41. 1991.
- Wang, S.; Grayston, J. Human Serology in Chlamydia trachomatis infection with microimmunofluorescence. *J. Infect. Dis.* 130: 388-397. 1974.