



Martínez Chamorro, MJ. Grupo de Patología Infecciosa AEPap. Diagnóstico de laboratorio de la enfermedad neumocócica: utilidad del test rápido de detección del antígeno neumocócico en orina en Pediatría. Febrero 2014. Disponible en <http://www.aepap.org/grupos/grupo-de-patologiainfecciosa/contenido>

DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO DE LA ENFERMEDAD NEUMOCÓCICA: UTILIDAD DEL TEST RÁPIDO DE DETECCIÓN DEL ANTÍGENO NEUMOCÓCICO EN ORINA EN PEDIATRÍA

El neumococo y la enfermedad neumocócica

Streptococcus pneumoniae (neumococo) es una causa importante de morbilidad y mortalidad en todo el mundo. La OMS estima que cerca de 1,6 millones de personas, de los cuales 1 millón son niños menores de 5 años, mueren cada año de enfermedad neumocócica invasiva (ENI)⁽¹⁾, sobre todo en países en desarrollo. La ENI es además, la primera causa de muerte de enfermedad prevenible mediante vacunas ⁽²⁾. El neumococo es una bacteria gram-positiva lanceolada anaerobia facultativa agrupado en forma de diplococos o pequeñas cadenas. Algunos neumococos tienen una cápsula, formada por polisacáridos complejos, que son los responsables de su patogenicidad.

Se han identificado más de noventa serotipos. Casi todos ellos pueden producir enfermedad grave, aunque sólo unos pocos producen la mayoría de infecciones neumocócicas. Se estima que los 17 serotipos más frecuentes son los productores de cerca del 85% de enfermedades invasivas. Los serotipos más prevalentes han ido cambiando desde la introducción de las vacunas. La introducción de la vacuna 13-valente (2010 en España), ha supuesto una importante reducción de los portadores nasofaríngeos de 19A, 7F y 6C, aunque ha supuesto un aumento de otros serotipos no incluidos en la vacuna, hasta ahora sin repercusión clínica ⁽³⁾

Patogénesis

El primer paso en la patogénesis de las infecciones neumocócicas consiste en la colonización de la nasofaringe. El único reservorio natural de *Streptococcus pneumoniae* es la nasofaringe humana, desde donde puede transmitirse a otras personas por gotitas respiratorias. La mayoría de las personas colonizadas son portadoras asintomáticas y de ellas, sólo una parte padecerá la enfermedad.

El neumococo es responsable de un amplio abanico de enfermedades infecciosas, bien por diseminación directa desde el lugar de colonización nasofaríngea (otitis media aguda, sinusitis, bronquitis y neumonía); o bien por diseminación hematógena (bacteriemia, sepsis, meningitis, neumonía y otras menos frecuentes), llamándose en este caso infecciones invasivas o bacteriémicas, más graves y con mortalidad elevada. El diagnóstico microbiológico de las infecciones invasivas se basa en la identificación del patógeno en un lugar que normalmente es estéril.

Muchos niños son portadores nasofaríngeos de *S. pneumoniae* durante los primeros años de vida, siendo la colonización un factor de riesgo para padecer la enfermedad. La duración del estado de portador varía y es en general más larga en niños que en adultos.

Formas clínicas

Las infecciones neumocócicas más frecuentes son las localizadas o producidas por diseminación directa: otitis media, rinosinusitis y neumonía no bacteriémica (80% de las neumonías neumocócicas) (4).

Las formas bacteriémicas son menos frecuentes, aunque más graves, y son, en orden decreciente de frecuencia: bacteriemia sin foco, neumonía bacteriémica (20%) (4) y meningitis. En los niños pequeños, hasta 2 años, la forma clínica más frecuente de ENI es la bacteriemia sin foco, representando dos tercios de las formas invasoras pediátricas (70%) a esta edad (4).

A medida que los niños crecen, la proporción de bacteriemia sin foco y meningitis disminuyen y la proporción de neumonía aumenta. La neumonía es la forma clínica de presentación más frecuente de la enfermedad neumocócica en adultos y niños mayores. *S. pneumoniae* es el principal causante de la neumonía adquirida en la comunidad (NAC) en todo el mundo tanto en adultos como en niños y posiblemente también sea el principal causante de neumonía bacteriana en los casos sin un diagnóstico microbiológico. La introducción de las vacunas ha hecho que la ENI se haya desplazado hacia niños mayores de 2 años, en los que predominan las neumonías bacteriémicas y los empiemas pleurales (5).

Diagnóstico microbiológico de la enfermedad neumocócica

Justificación

La estrategia más deseable frente a la enfermedad neumocócica es la prevención mediante la vacuna. Las vacunas antineumocócicas conjugadas están disponibles en nuestro país desde hace más de una década (VNC7 desde 2002 y VNC10 y VNC13 desde 2010), aunque su implantación es irregular tanto geográficamente como en el tiempo. La carga de la enfermedad ha disminuído en zonas donde se ha implantado la vacunación

sistemática (Madrid 2006-2012; en la actualidad sólo en Galicia), debido a la producción de inmunidad de grupo, como confirman algunos estudios, si bien son necesarias unas coberturas vacunales de al menos un 65% para lograr este efecto. Por lo tanto, en las circunstancias actuales, la enfermedad neumocócica sigue siendo una amenaza para los niños, sobre todo en sus formas graves, y un desafío diagnóstico para los pediatras.

Sería deseable la disponibilidad de un test diagnóstico rápido con elevada sensibilidad y especificidad. Un test rápido con una especificidad elevada, posibilitaría el inicio precoz de antibioterapia dirigida, penicilina, o sus derivados ampicilina o amoxicilina, y limitaría el uso de antibióticos sólo a los casos indicados. Por el contrario, un test con sensibilidad elevada descartaría con certeza infección neumocócica si fuera negativo. Además, un test de despistaje fiable daría idea de la etiología incluso cuando los cultivos fueran negativos, como ocurre con frecuencia.

Tinción de Gram y cultivo de muestras biológicas

El diagnóstico etiológico de las infecciones se ha basado tradicionalmente en el cultivo microbiológico de muestras (gold standard o patrón oro), precedidas por la tinción de Gram (de esputo en el caso de la neumonía y del LCR en la meningitis, así como del hemocultivo en ambos). Las muestras biológicas se deben obtener idealmente antes de iniciar el tratamiento antibiótico o transcurridas menos de 24 horas desde el inicio del mismo y ser procesadas con rapidez, porque la viabilidad de las bacterias disminuye con el tiempo (6).

La sensibilidad de los hemocultivos es baja, alrededor de 20% en adultos hospitalizados por neumonía e inferior en niños (7). Los hemocultivos positivos son más frecuentes en los casos de meningitis neumocócica, con tasas > 50% (8). En cuanto al esputo, es difícil obtener en niños muestras de calidad, considerando como tal el que contiene < 10 células escamosas epiteliales y >25 polimorfonucleares (pmn) por campo de amplificación x100. Si presenta elevado número de células epiteliales escamosas y bajo de pmn, se debe desechar, ya que la flora hallada posiblemente sea comensal. La tinción de Gram más el cultivo de LCR sirven para diagnosticar la mayoría de los casos de meningitis neumocócica (sensibilidad 84%, especificidad 98%). El examen líquido pleural mediante aguja transtorácica proporciona buen rendimiento diagnóstico.

Los resultados de los cultivos no son rápidos (al menos 24-48 h), lo que hace que, aunque necesarios, sean a veces poco útiles para la toma de decisiones en los momentos iniciales.

Técnicas moleculares: Tests de amplificación de ADN (PCR)

Las técnicas basadas en la amplificación de ADN, como la PCR (polymerase chain reaction o reacción en cadena de la polimerasa) tienen cada vez más importancia como herramientas diagnósticas. Sus ventajas son que pueden detectar mínimas cantidades de ADN de patógenos microbianos, no dependen de la viabilidad microbiana, se afectan menos por el uso previo de antibióticos y proporcionan resultados en poco tiempo (horas) (6) . La técnica de PCR puede ser cualitativa y cuantitativa (PCR a tiempo real).

La PCR se puede realizar en sangre o en otros fluidos corporales. En sangre se puede realizar en sangre fresca con EDTA o en muestra de sangre seca (recogida similar a las pruebas de cribado metabólico neonatal) útil para el diagnóstico de neumonía en países en desarrollo (9). En adultos, la sensibilidad en sangre es variable: 29%-100% (10). En niños, la sensibilidad de la PCR en sangre es mayor que en adultos (11,12).

En esputo, en adultos, la PCR ofrece una sensibilidad mejor que en sangre (68% - 100%) (10), aunque también puede haber falsos positivos en portadores. En niños la PCR en esputo ofrece una baja especificidad y una elevada probabilidad de obtener falsos positivos por contaminación (portadores), añadido a la dificultad de obtener esputos en niños.

En otros líquidos orgánicos el uso de la PCR tiene un elevado rendimiento. En LCR es muy útil para el diagnóstico de meningitis, debido a la elevada concentración bacteriana en el LCR y a la ausencia de colonización, con una sensibilidad del 92%-100% y especificidad del 100% (13). La PCR también se ha usado con éxito en otras muestras como líquido pleural y aspirado pulmonar (14). La determinación de PCR en sangre o en líquido pleural son los métodos de elección en niños para el diagnóstico microbiológico de la enfermedad neumocócica en niños ingresados, con enfermedad grave o derrame.

Las ventajas de las técnicas moleculares son su elevada especificidad, permiten obtener el serotipo y se obtiene el resultado en horas. Los inconvenientes son posibilidad de falsos positivos por detectar microorganismos no viables (no infectivos). Además exigen laboratorios y personal especializado, disponible sólo en algunos centros, y es un método caro.

En los últimos años se han optimizado técnicas de PCR múltiple que pueden detectar simultáneamente varias bacterias, o incluso virus y bacterias, muy útiles en el diagnóstico de la neumonía o meningitis.

Ensayos de detección de antígenos:

Binax NOW *S. pneumoniae*[®]

Los métodos de detección de antígenuria se han desarrollado con la intención de resolver los problemas diagnósticos (15). Se basan en que algunas bacterias presentes en animales o seres humanos producen antígenos solubles (habitualmente polisacáridos de la cápsula) detectables en sangre, y eliminados por la orina de forma más concentrada que en otros fluidos. Por ello, y porque en la orina no existen otros anticuerpos que alteren los resultados, su detección es fácil e indicativa de la presencia bacteriana en el organismo que los excreta (16).

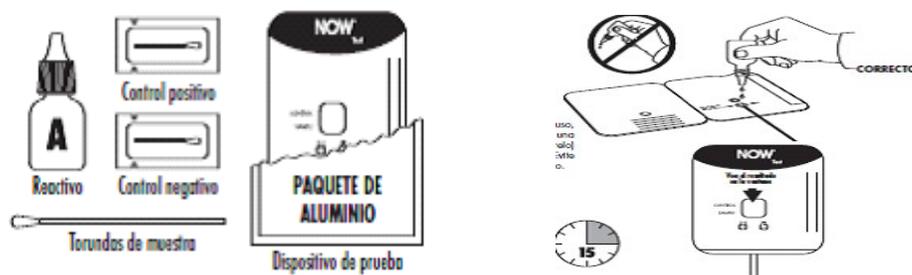
La detección de antígenos urinarios del neumococo se describió en 1917 (16) y se desarrolló a finales de los años 90. Desde entonces se ha intentado su examen con el empleo de distintas técnicas (contraelectroforesis, aglutinación de látex, coaglutinación, enzimoimmunoanálisis), que en la actualidad apenas se usan por su baja especificidad (17).

En el año 1999 la Food and Drug Administration (FDA) aprobó un método basado en la inmunocromatografía (ICT) de membrana, la prueba de antígeno urinario Binax NOW *S. pneumoniae*, para el diagnóstico rápido (15 min) del polisacárido C en orina de *S. pneumoniae*, común a todos los serotipos neumocócicos (y a *Streptococcus mitis* y *Streptococcus oralis*). Binax NOW[®] *S. pneumoniae* (laboratorio Alere) es, por lo tanto, una prueba rápida para la detección cualitativa del antígeno de *S. pneumoniae* mediante ensayo inmunocromatográfico en la orina.

Aunque la prueba se diseñó originalmente para muestras de orina, y el fabricante sólo indica su uso en orina y LCR, el NOW-SP test se ha usado con éxito en muestras de otros fluidos biológicos: LCR (sensibilidad 95%-100% y especificidad 100%, (18)); líquido pleural, tanto de adultos como de niños (19); fluido de lavado broncoalveolar (sensibilidad 95%, especificidad 87% (20)); fluido de oído medio (21) y sangre (22).

Principios del procedimiento

En una membrana de nitrocelulosa se encuentran adsorbidos el anticuerpo anti-*S. pneumoniae* de conejo, la línea de la muestra, y un anticuerpo antiespecie de control, la línea de control. La tira y un pocillo para contener el hisopo con la muestra se montan en lados contrarios de la tarjeta de la prueba, en forma de un librito con bisagra.



Para realizar la prueba se sumerge un hisopo en la muestra (orina o LCR), se saca y se introduce en la tarjeta del test. Se añade una solución buffer, se cierra la tarjeta, poniendo en contacto la muestra con la tira reactiva. Si el antígeno neumocócico está presente en la muestra, reacciona uniéndose al anticuerpo conjugado anti-*S. pneumoniae*. Los complejos antígeno-conjugados resultantes son capturados por los anticuerpos anti-*S. pneumoniae* inmovilizados, formando la línea de la muestra.

El resultado de la prueba se interpreta por la presencia o ausencia de líneas coloreadas rosa-moradas detectables visualmente, leído a los 15 minutos. Un resultado positivo del test incluirá ambas líneas, la línea control y la línea de la muestra. Un resultado negativo del test producirá sólo una línea de control, indicando que el antígeno *S. pneumoniae* no ha sido detectado en la muestra. Si no se obtiene la línea de control o ninguna línea la prueba no es válida y debe desecharse. Si el resultado es positivo débil se recomienda considerarlo negativo, pues así aumenta la especificidad (17). El test puede permanecer positivo durante varias semanas tras la infección (19).

El fabricante ofrece como datos de rendimiento de la prueba utilizada en orina para el diagnóstico de neumonía, en un estudio prospectivo en pacientes extrahospitalarios, comparando con hemocultivos, una sensibilidad 90 % (70%-97%), una especificidad 78% (70%-85%) y una precisión 80% (72%-86%).

Inicialmente lo fabricaba el laboratorio Binax, comprado posteriormente por Alere, que es su único distribuidor en la actualidad, en España y en el resto del mundo. Las pruebas se adquieren en kits de 12 o 22 unidades y el precio por prueba son unos 15 euros aproximadamente.

Utilidad en adultos

Desde su introducción, muchos autores han intentado esclarecer la utilidad de la detección del antígeno neumocócico en orina. La mayoría de los estudios se han realizado en adultos. En adultos la sensibilidad es variable, y más elevada en pacientes con bacteriemia (75%-85%) que sin bacteriemia (50-80%). La especificidad es superior al 90% (24,25). En general los estudios recomiendan su uso para el diagnóstico rápido de neumonía neumocócica (24,25,26), aunque debido a los fallos en la sensibilidad, se recomienda usarlo junto con otros métodos microbiológicos (tinción de Gram, cultivo de

esputo y hemocultivo). La positividad del test puede usarse como apoyo del inicio del tratamiento de la neumonía con β -lactámicos de estrecho espectro (15).

Utilidad en niños

Los estudios realizados en niños son más escasos, aunque cada vez se realizan más en la actualidad. Los niños son portadores asintomáticos con mayor frecuencia que los adultos. Aunque algunos estudios encuentran una elevada sensibilidad de la prueba para el diagnóstico de ENI, la mayoría indican su falta de especificidad, ya que no distingue entre pacientes con neumonía y portadores nasofaríngeos (28,29,30,31). Por lo tanto, concluyen que la prueba no puede ser usada para el diagnóstico positivo de enfermedad debido a una elevada proporción de falsos positivos en portadores (28,29,30,31). Sin embargo, su negatividad puede ser útil para una rápida exclusión de enfermedad neumocócica (29,30).

En un estudio bien diseñado realizado por Charcaluk y cols (29), se comparan niños hospitalizados con posible infección neumocócica, con infección no neumocócica y un grupo sin infección. Los resultados de la prueba se comparan con la positividad de los cultivos (hemocultivos u otros fluidos). Encuentran una sensibilidad de la prueba del 100% y una especificidad del 55,9 % (IC 44,1-67,7); VPP 59,5% (IC 47,8-70,3); VPN 100%; precisión 73,2% (IC 65,0-81,4). En otro estudio (30) se comparan niños menores de 5 años con sospecha de ENI con controles sin infección. Encuentran una sensibilidad del 100%, especificidad 80,6%; VPP 14,7%; VPN 100% y concluyen que el test no es útil para distinguir entre infección neumocócica y colonización. Otros estudios llegan a conclusiones similares (23,31): Dominguez et al (23) compara cuatro grupos de niños: uno con neumonía neumocócica, otro con neumonía por mycoplasma, otro de portadores de neumococo y otro grupo de niños sanos no portadores. Encuentran una elevada proporción de positivos en portadores, con una diferencia significativa con los no portadores. Los falsos positivos debidos a portadores son elevados en zonas de elevada prevalencia de portadores, como en los países en desarrollo y donde no se ha introducido la vacuna, con una especificidad de la prueba del 60-80% (31,32).

En niños sanos, la eliminación urinaria del antígeno neumocócico disminuye con la edad (33). Vančíková (33) encuentra una positividad en la orina del 39% en niños entre 36 y 47 meses y 17,9% entre 72 a 83 meses de edad, siendo similar a los adultos en esta última franja de edad. Concluyen que son necesarios más estudios para confirmar este límite de edad a partir del cual la positividad en la prueba no sea debida a colonización.

La segunda causa más frecuente de falsos positivos es la vacunación previa. El fabricante no recomienda la realización de la prueba en los 5 días posteriores tras la vacunación. La probabilidad de falsos positivos tras la vacuna es mayor cuanto más cercano a la misma se realice la prueba, sobre todo durante el primer mes, aunque puede haber positividad hasta más de 7 meses después (31).

Un resultado positivo en el test por sí sólo no es útil para diagnosticar neumonía u otra enfermedad neumocócica (23,31), y las guías no los recomiendan para el diagnóstico de neumonía en niños (34,35,36).

Sin embargo, la prueba ofrece una elevada sensibilidad y un valor predictivo negativo cercano al 100% (cociente de probabilidad positivo 2,27; cociente de probabilidad negativo 0). Ello significa que un resultado negativo del antígeno en orina descarta con gran certeza la infección neumocócica en los casos sospechosos. Este valor será más útil cuanto menor sea la prevalencia de portadores (niños mayores), ya que a mayor prevalencia de portadores, menor probabilidad de valores negativos en la prueba.

Ventajas

- Rápido: Resultados en 15 minutos .
- Sencillo: Fácil de realizar. No necesita personal cualificado y se puede realizar en la cabecera del paciente (*point of care*).
- Comodidad en la recogida y procesamiento de la muestra.
- Sensibilidad y valor predictivo negativo elevados: un resultado negativo permite descartar tanto la enfermedad neumocócica como el estado de portador.
- Detecta tanto formas bacteriémicas como no bacteriémicas, aunque es más sensible en formas bacteriémicas.
- El tratamiento antimicrobiano previo no acarrea la negatividad de la prueba, como se ha comprobado hasta 7 días después de su administración (26).
- No parece necesaria la concentración de la orina dado que, aunque posiblemente mejore algo la sensibilidad, retrasa el resultado (1-3 h) e incrementa el coste (15).
- Es improbable que la colonización por *S. oralis* y *S. mitis* origine falsos positivos (aparte de que no causan NAC, es difícil que alcancen una concentración suficiente para que la antigenuria sea positiva).

Limitaciones

- En niños puede haber falsos positivos con frecuencia, lo que disminuye su especificidad; su positividad no sirve para confirmar la enfermedad neumocócica.
- Falsos positivos en portadores asintomáticos. Si bien en los portadores la concentración del germen suele estar por debajo de nivel de detección

antigénica requerido por la prueba, ha de tenerse en cuenta esta posibilidad ante una prueba positiva.

- En vacunados: falsos positivos, sobre todo si la vacunación ha sido reciente.
- No proporcionan datos de sensibilidad antimicrobiana.
- Una prueba positiva puede persistir positiva varias semanas.
- Menor rentabilidad en procesos leves-moderados.
- El precio: Aproximadamente 15 euros por test.

Conclusiones y utilidad en Pediatría de Atención Primaria

- Las formas leves y moderadas de neumonía pueden ser diagnosticadas en Atención Primaria según la sintomatología clínica, apoyada a veces con la radiología, sin precisar un diagnóstico microbiológico.
- La detección rápida del antígeno neumocócico en orina por ICT no es útil para el diagnóstico de neumonía neumocócica en niños por su baja especificidad.
- Las principales limitaciones de la prueba son los falsos positivos debidos a portadores nasofaríngeos y a la vacunación reciente.
- La negatividad de la prueba podría ser más útil que la positividad, ya que descartaría la enfermedad (valor predictivo negativo elevado). Esta utilidad podría ser menor si la prevalencia de portadores es elevada.

Bibliografía

1. World Health Organization. Pneumococcal conjugate vaccine for childhood immunization—WHO position paper. Wkly Epidemiol Rec 2007; 82:93-104.
2. Whitney CG, Farley MM, Hadler J, et al. Decline in invasive pneumococcal disease after the introduction of protein-polysaccharide conjugate vaccine. N Engl J Med 2003; 348:1737-46.
3. Merino Moína M. Rotavirus y neumococo. En AEPaped. Curso de Actualización Pediatría 2014. Madrid: Exlibris Ediciones; 2014. p. 69-81.
4. Pneumococcal Disease. Chapter of CDC Pinkbook. Epidemiology and Prevention of Vaccine-Preventable Diseases, 12th Edition, Second Printing, May 2012.
5. Ruiz Contreras J, De Arístegui Fernández J. Neumococo (enfermedad por). Vacunas en Pediatría. Manual de la AEP 2012. AEP. Comité Asesor de Vacunas. Madrid: Exlibris Ediciones; 2012. p. 400-1.

6. Werno AM, Murdoch DR. Laboratory diagnosis of invasive pneumococcal disease. *Clin Infect Dis*. 2008 Mar 15;46(6):926-32. doi: 10.1086/528798.
7. Juvén T, Mertsola J, Waris M, et al. Etiology of community-acquired pneumonia in 254 hospitalized children. *Pediatr Infect Dis J* 2000; 19:293-8.
8. Kirkpatrick B, Reeves DS, MacGowan AP. A review of the clinical presentation, laboratory features, antimicrobial therapy and outcome of 77 episodes of pneumococcal meningitis occurring in children and adults. *J Infect* 1994; 29:171-82.
9. Selva L, Benmessaoud R, Lanaspá M, Jroundi I, Moraleda C, Acacio S, Iñigo M, Bastiani A, Monsonis M, Pallares R, Bassat Q, Muñoz-Almagro C. Detection of *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenzae* type B by real-time PCR from dried blood spot samples among children with pneumonia: a useful approach for developing countries. *PLoS One*. 2013 Oct 8;8(10):e76970. doi: 10.1371/journal.pone.0076970. eCollection 2013.
10. Murdoch DR. Molecular genetic methods in the diagnosis of lower respiratory tract infections. *APMIS* 2004; 112:713-27.
11. Dagan R, Shriker O, Hazan I, Leibovitz E, Greenberg D, Schlaeffer F, Levy R. Prospective study to determine clinical relevance of detection of pneumococcal DNA in sera of children by PCR. *J Clin Microbiol* 1998; 36:669-73.
12. Cvitkovic Spik V, Beovic B, Pokorn M, Drole Torkar A, Vidmar D, Papst L, Seme K, Kogoj R, Müller Premru M. Improvement of pneumococcal pneumonia diagnostics by the use of rt-PCR on plasma and respiratory samples. *Scand J Infect Dis*. 2013 Oct;45(10):731-7. doi: 10.3109/00365548.2013.804631. Epub 2013 Jul 5.
13. Tzanakaki G, Tsopanomichalou M, Kesanopoulos K, et al. Simultaneous single-tube PCR assay for the detection of *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae* type b and *Streptococcus pneumoniae*. *Clin Microbiol Infect* 2005; 11:386-90.
14. Lahti E, Mertsola J, Kontiokari T, Eerola E, Ruuskanen O, Jalava J. Pneumolysin polymerase chain reaction for diagnosis of pneumococcal pneumonia and empyema in children. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2006; 25:783-9.
15. Molinos L. Detección de antígenos en la orina. *Arch Bronconeumol*. 2006;42(3):101-3.
16. Dochez AR, Avery OT. The elaboration of specific soluble substance by pneumococcus during growth. *J Exp Med* 1917; 26:477-93.
17. Perkins MD, Mirrett S, Reller LB. Rapid bacterial antigen detection is not clinically useful. *J Clin Microbiol* 1995; 33:1486-91.
18. Samra Z, Shmueli H, Nahum E, Paghis D, Ben-Ari J. Use of the NOW *Streptococcus pneumoniae* urinary antigen test in cerebrospinal fluid for rapid diagnosis of pneumococcal meningitis. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2003; 45:237-40.
19. Ploton C, Freydiere AM, Benito Y, et al. *Streptococcus pneumoniae* thoracic empyema in children: rapid diagnosis by using the Binax NOW immunochromatographic membrane test in pleural fluids. *Pathol Biol* 2006; 54:498-501.
20. Jacobs JA, Stobberingh EE, Cornelissen EIM, Drent M. Detection of *Streptococcus pneumoniae* antigen in bronchoalveolar lavage fluid samples by a rapid immunochromatographic membrane assay. *J Clin Microbiol* 2005; 43:4037-40.
21. Gisselsson-Solén M, Bylander A, Whilhemson C, et al. The Binax Now test as a tool for diagnosis of severe acute otitis media and associated complications. *J Clin Microbiol*; 45(9):3003-7.
22. Petti CA, Woods CW, Reller LB. *Streptococcus pneumoniae* antigen test using positive blood culture bottles as an alternative method to diagnose pneumococcal bacteremia. *J Clin Microbiol* 2005; 43:2510-2.
23. Dominguez J, Blanco S, Rodrigo C, et al. Usefulness of urinary antigen detection by an immunochromatographic test for diagnosis of pneumococcal pneumonia in children. *J Clin Microbiol* 2003;41(5):2161-3.
24. Gutierrez F, Masia M, Rodriguez JC, et al. Evaluation of immunochromatographic Binax Now assay for detection of *pneumoniae* antigen in urinary antigen in a prospective study of community acquired pneumonia in Spain. *Clin Infect Dis* 2003;36(3):286-92.

25. Marcos MA, Jiménez de Anta MT, de la Bellacasa JP, et al. Rapid urinary antigen test for diagnosis of pneumococcal community-acquired pneumonia in adults. *Eur Respir J* 2003; 21:209-14.
26. Sinclair A, Xie X, Teltscher M, Dendukuri N. Systematic review and meta-analysis of a urine-based pneumococcal antigen test for diagnosis of community-acquired pneumonia caused by *Streptococcus pneumoniae*. *J Clin Microbiol* 2013;51(7):2303-10. doi: 10.1128/JCM.00137-13.
27. Guchev IA, Yu VL, Sinopalnikov A, Klochkov OI, Kozlov RS, Stratchounski LS. Management of nonsevere pneumonia in military trainees with the urinary antigen test for *Streptococcus pneumoniae*: an innovative approach to targeted therapy. *Clin Infect Dis* 2005; 40:1608-16.
28. Anjay MA, Anoop P. Diagnostic utility of rapid immunochromatographic urine antigen testing in suspected pneumococcal infections. *Arch Dis Child* 2008;93:7 628-631. Published Online First: 19 February 2008
29. Charcaluk ML, Kalach N, NvogoH, et al. Assessment of rapid urinary antigen detection by an immunochromatographic test for diagnosis of pneumococcal infection in children. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2006;55(2):89-94.
30. Sposito S, Bosis S, Colombo R, et al. Evaluation of rapid assay for detection of *Streptococcus pneumoniae* urinary antigen among infants and young children with possible invasive pneumococcal disease. *Pediatr Infect Dis J* 2004;23(4):365-7.
31. Navarro D, Garcia-Maset L, Gimeno C, et al. Performance of the Binax Now *Streptococcus pneumoniae* urinary antigen assay for diagnosis of pneumonia in children with underlying pulmonary diseases in the absence of acute pneumococcal infection. *J Clin Microbiol* 2004;42(10):4853-5.
32. Adegbola RA, Obaro SK, Biney E, et al. Evaluation of Binax Now *Streptococcus pneumoniae* urinary antigen test in children in a community with a high carriage rate of pneumococcus. *Pediatr Infect Dis J* 2001;20(7):718-19.
33. Vančíková Z, Trojáněk M, Zemličková H, Blechová Z, Motlová J, Matějková J, Nyč O, John J, Malý M, Marešová V. Pneumococcal urinary antigen positivity in healthy colonized children: is it age dependent?. *Wien Klin Wochenschr*. 2013 Sep;125(17-18):495-500. doi: 10.1007/s00508-013-0405-4.
34. Bradley JS1, Byington CL, Shah SS, Alverson B, Carter ER, Harrison C, Kaplan SL, Mace SE, McCracken GH Jr, Moore MR, St Peter SD, Stockwell JA, Swanson JT, Pediatric Infectious Diseases Society and the Infectious Diseases Society of America. The Management of Community-Acquired Pneumonia in Infants and Children Older Than 3 Months of Age: Clinical Practice Guidelines by the Pediatric Infectious Diseases Society and the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis*. 2011;53(7):617-30. doi: 10.1093/cid/cir625.
35. British Thoracic Society guidelines for the management of community acquired pneumonia in children: update 2011. Harris M, Clark J, Coote N, Fletcher P, Harnden A, McKean M, Thomson A; British Thoracic Society Standards of Care Committee. *Thorax* 2011;66:ii1-ii23 doi:10.1136/thoraxjnl-2011-200598
36. A. Andrés Martín, D. Moreno-Pérez, S. Alfayate Miguélez, J.A. Couceiro Gianzo, M.L. García García, J. Korta Murua, M.I. Martínez León, C. Muñoz Almagro, I. Obando Santaella y G. Pérez Pérez. Etiología y diagnóstico de la neumonía adquirida en la comunidad y sus formas complicadas. *An Pediatr (Barc)*. 2012;76(3):162.e1-162.e18