



ARTICULOS
ORIGINALES

Síndrome coqueluchoídeo y adenovirus. II. Estudio viroológico y bacteriológico

DRES.: LUIS F. AVENDAÑO C. *, ***, CARMEN GRADO D. *, ELBA WU H. *, **** y EMA GREVE **.

En la primera parte de este trabajo comunicamos los hechos clínicos más destacados de 143 casos de síndrome coqueluchoídeo observados durante una epidemia que se inició a fines de 1973 en Santiago. En ella sustentamos la hipótesis que, aún cuando no se aisló la *Bordetella pertussis* de ningún caso, todas las evidencias clínicas y de laboratorio apuntaban a la existencia de una epidemia de coqueluche. En dicho trabajo se señaló una frecuencia de infecciones por adenovirus mayor que la esperada normalmente (1).

La confirmación bacteriológica de la coqueluche sigue siendo un problema de actualidad en muchos países (2, 3). Hay varios factores que contribuyen a que el aislamiento y la serología sean métodos de rendimiento bastante bajo (4). La forma de tomar la muestra para el aislamiento de la *Bordetella* es motivo de polémica, pero actualmente la mayoría recomienda el uso de tórula faríngea en lugar de toser frente a una placa de Petri (3-6). Se insiste en que el medio de Bordet debe ser fresco y que la siembra debe hacerse, en lo posible, en el momento de la recolección de la muestra (4, 5). Bajo estas condiciones, los porcentajes de aislamiento varían entre 14% y 42% según distintas publicaciones (7-11). Debe recordarse además que el hallazgo del germen depende, entre otros factores, del período de la enfermedad en que se toma la muestra (4). No se ha encontrado un método serológico que pueda medir el nivel inmunitario del individuo frente a la enfermedad. De los muchos usados —fijación del complemento, medición de aglutininas, antihemaglutininas, precipitinas y efecto protector en el ratón— parece ser el último el mejor indicador del grado de inmunidad a la infección, pero también es el más difícil de efectuar

en laboratorios clínicos (12). Las técnicas serológicas que hoy tienen mayor difusión son la medición de precipitinas y la fijación del complemento. Desgraciadamente el rendimiento de estas técnicas es muy variable, y depende de la edad del individuo, de su inmunización ya sea natural o artificial, del período de la enfermedad en que se obtiene la muestra y otros. Además, reiteramos que estas pruebas miden sólo una respuesta de anticuerpos circulantes frente al antígeno pertussis, y no reflejan necesariamente el grado de inmunidad del vacunado o del enfermo (13-15). Todo lo anterior ha hecho que últimamente se busquen otros métodos diagnósticos en coqueluche, habiendo tenido bastante éxito la aplicación de la inmunofluorescencia y la inmunodifusión en la detección del agente etiológico y/o el anticuerpo inducido en el huésped (3, 8-11).

El estudio virológico de adenovirus es de mejor rendimiento. En efecto, estos virus tienen un rango de huésped relativamente amplio, permitiendo utilizar varias líneas celulares humanas para su aislamiento. Además, producen un efecto citopático bastante característico y acidifican el medio, lo que permite una buena orientación diagnóstica (17). Poseen un antígeno fijador del complemento común a todo el grupo, lo cual simplifica su identificación y hace de esta reacción un buen método de diagnóstico serológico. Sin embargo, los anticuerpos fijadores del complemento no son muy duraderos y la prueba no es tan sensible como la neutralización, con muchos resultados falsos negativos (17).

En el presente artículo, relatamos los resultados de los estudios de laboratorio referente a pertussis y adenovirus, obtenidos en la epidemia de coqueluche.

MATERIAL Y METODO. Se completa el estudio de los 143 casos clínicos de síndrome coque-

* Sección Virología, Depto. Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina, Sede Santiago Norte.

** Sección Serología, Instituto Bacteriológico.

*** Depto. de Pediatría, Hospital Roberto del Río.

**** Servicio de Infecciosos del Hospital San Juan de Dios.

luchoídeo descritos previamente (1). Los casos, procedentes de las áreas norte y occidente de Santiago, se captaron entre octubre/73 y enero/74. Una parte de ellos consistió en enfermos hospitalizados en los servicios de pediatría de los hospitales Roberto del Río y San Juan de Dios; la otra, se obtuvo de los consultorios distritales de las áreas mencionadas, estudiándose los casos en forma ambulatoria.

El examen bacteriológico se hizo mediante siembra en medio de Bordet fresco, adicionado de penicilina, de muestras faríngeas obtenidas mediante tórula o aspiración nasofaríngea con sonda; se usó, además, la técnica de toser frente a una placa. En el área occidente se usó preferentemente este último método. El estudio serológico se realizó en el Instituto Bacteriológico de Chile, mediante técnicas de fijación del complemento y aglutinación. Se dispuso para esos efectos de muestras pareadas de sueros extraídos con 2 a 3 semanas de intervalo. Las reacciones se efectuaron usando antígenos preparados en el Instituto y que corresponden a los contenidos en las vacunas actualmente en uso en el país.

Para el estudio virológico se utilizó muestras faríngeas gemelas a las descritas para el estudio bacteriológico y los mismos sueros; su modo de obtención, traslado al laboratorio y preparación ya han sido descritos (1). Las muestras faríngeas se inocularon en línea celular HEp-2 y los cultivos se observaron por 16 días; aquéllos positivos, sospechosos de adenovirus por el tipo de efecto citopático y por el viraje del pH, fueron agrupados por hemaglutinación (18), siendo tipificados posteriormente por neutralización (17)*. La serología se estudió mediante la microtécnica de fijación del complemento (19). Para la serología de adenovirus se contó, además, con un grupo de comparación de 133 individuos de edad y época estacional semejantes, pero que no estuvieron expuestos al brote epidémico relatado; en 52 de éstos se estudió anticuerpos contra Bordetella. En la reacción de fijación del complemento (FC) para adenovirus se consideró negativos los valores de anticuerpos de 1/4 o menos y positivos a todos los valores de 1/8 o más; positivos débiles a niveles entre 1/8 y 1/32 y positivos altos a títulos de 1/64 o más. Igual criterio se adoptó en la catalogación del estudio serológico por FC y aglutinación para pertussis.

Se catalogó como "evidencia" de infección reciente al aislamiento del agente infeccioso, y/o seroconversión, y/o alza de 4 o más veces del título de anticuerpos entre las fases aguda y convaleciente, o bien a títulos altos de 1/64 o más. La presencia de anticuerpos con títulos entre 1/8 y 1/32 se consideró como "sugerente" de infec-

ción, tabulándose como negativos a los valores de 1/4 o menos.

RESULTADOS. La investigación dirigida a detectar anticuerpos antipertussis mostró mejor rendimiento de la técnica de FC que de la aglutinación. En efecto, los resultados revelaron seroconversión o aumento significativo de anticuerpos o bien ambas muestras positivas en 57% de 92 casos con sueros pareados que se estudiaron por FC, y en 37% de 54 casos estudiados por aglutinación. Esta diferencia se mantiene, 51% por FC y 35% por aglutinación, si se suman aquellos casos en que resultó positiva sólo una de las dos muestras o la única muestra de que se dispuso (Tabla 1).

El análisis cuantitativo de los sueros reveló "evidencias" de infección por pertussis en 42% según FC y en 27% según aglutinación. El porcentaje con "evidencias" sube muy poco si se consideran estas pruebas en conjunto, ya que de los 106 casos sólo 52 (49%) revelaron evidencias de infección por una o ambas técnicas (Tabla 2).

Si se examina la Tabla 3, vemos que en los 71 niños en los que se midió, tanto la FC como la aglutinación, los resultados coincidieron en 41 casos (57%); se confirmaron entre sí con signos

T A B L A 1

REACCION DE FIJACION DEL COMPLEMENTO Y DE AGLUTINACION CON ANTIGENO PERTUSSIS EN NIÑOS CON SINDROME COQUELUCHOIDEO

Resultados *	Por fijación del complemento **	Por aglutinación ***
Seroconversión o aumento significativo ****	33/92 : 36%	14/54 : 26%
Ambas muestras positivas	19/92 : 21%	6/54 : 11%
Una muestra positiva	0/92 : 0%	3/54 : 6%
Una muestra positiva, suero no pareado	2/14 : 14%	2/17 : 12%
Cualquiera positiva	54/106 : 51%	25/71 : 35%
Ambas muestras negativas	40/92 : 43%	31/54 : 57%
Una muestra negativa, suero no pareado	12/14 : 86%	15/17 : 88%

* Ver material y método.

** No se realizó en 37 de 143 casos.

*** No se realizó en 72 de 143 casos.

**** Se considera como aumento significativo al aumento de 4 o más veces en el título de anticuerpos entre los sueros de fase aguda y de convaleciente.

* En la neutralización se usó sueros tipos donados gentilmente por el National Institute of Health de los Estados Unidos de Norteamérica.

de sugerencia por una reacción y de evidencias por la otra en 4 casos (6%), y fueron discordantes en 26 casos (37%).

En relación a adenovirus y síndrome coqueluchoídeo, recordemos que en la primera publicación se observó signos de infección por adenovirus en un 50% de los 141 enfermos y en un 35% de 55 controles, considerándose como criterios el aislamiento del agente y/o serología positiva (ver Tabla 9 del trabajo anterior) (1). En la Tabla 4, se muestra los resultados de la serología medida por FC, en 141 niños enfermos y en 133 controles. Hubo "evidencias" y "sugerencias" de infección por estos virus en el 44% de los enfermos con síndrome coqueluchoídeo y en un 24% de los controles. La diferencia está dada por los menores de un año, pero ella radica principalmente en el grupo de edad 0-6 meses: 31% contra 9%. El aislamiento de adenovirus en el grupo enfermo tuvo éxito en 18 de 138 casos en los que se hizo dicho estudio (13%). De acuerdo a su tipificación se distribuyen en tres tipos de adenovirus: tipo 1 (6 casos), tipo 3 (1 caso) y tipo 5 (11 casos).

La correlación entre infección por pertussis y por adenovirus, mostrada ya anteriormente (1), revela signos de adenovirus en 46% de 106 enfermos y en 34% de 52 controles, y de infección por Bordetella pertussis en 59% de enfermos y en 8% de controles (Tabla 5).

De los 63 enfermos, que mostraron "evidencias" y "sugerencias" de infección por B. pertussis, 33 (52%) tuvieron concomitantemente "evidencias" o "sugerencias" de infección por adenovirus. En cambio, de los 43 enfermos con serología negativa para Bordetella en sólo 16 (37%) hubo signos de infección por adenovirus, porcentaje similar (35%) al encontrado en los controles (Tabla 5).

DISCUSION. Las numerosas publicaciones referentes a la confirmación serológica de la coqueluche por fijación del complemento y por aglutinación, dan a estas técnicas un rendimiento que varía entre 35 y 65% (3, 7, 12-15). Asimismo parecen mostrar una leve superioridad de la reacción de fijación del complemento frente a la de aglutinación, y están de acuerdo también en que éstas no reflejan el estado inmunitario del individuo frente a la B. pertussis (3, 7, 12-15). Lo encontrado por nosotros concuerda con la literatura; en nuestros enfermos, se midió con mayor frecuencia los anticuerpos fijadores del complemento que las aglutininas. Los resultados muestran una clara superioridad de la técnica de fijación del complemento sobre la de aglutinación, como se evidencia por el mayor porcentaje de seroconversiones, aumentos significativos de anticuerpos, ambas muestras positivas y una muestra positiva (Tabla

T A B L A 2

COMPARACION ENTRE LAS REACCIONES DE FIJACION DEL COMPLEMENTO Y AGLUTINACION CON ANTIGENO PERTUSSIS EN NIÑOS CON SINDROME COQUELUCHOIDEO

Signos infección por B. pertussis *	Por fijación del complemento **	Por aglutinación ***	Por una o ambas reacciones ****
Evidencia	44/106 : 42%	19/71 : 27%	52/106 : 49%
Sugerencia	11/106 : 10%	6/71 : 8%	11/106 : 10%
Negatividad	51/106 : 48%	46/71 : 65%	43/106 : 41%

* Catalogación según material y método.

** No se realizó en 37 de 143 casos.

*** No se realizó en 72 de 143 casos.

**** No se realizó ninguna de las dos reacciones en 37 de 143 casos.

T A B L A 3

RENDIMIENTO COOPERATIVO ENTRE FIJACION DEL COMPLEMENTO Y AGLUTINACION EN 71 NIÑOS CON SINDROME COQUELUCHOIDEO

Catalogación según fijación del Complemento *	Catalogación según Evidencia	Aglutinación * Sugerencia	Negatividad
Evidencia	28	11	1
Sugerencia	5	3	1
Negatividad	38	5	4
T o t a l	71	19	6

* Catalogación según Material y Método.

1). Todo esto se traduce en un mayor porcentaje de casos con signos de infección por B. pertussis demostrables por fijación del complemento (Tabla 2). Incluso la titulación de las aglutininas no significó un gran aporte al diagnóstico ya confirmado por la fijación del complemento (Tabla 3). La diferencia de signos de infección (evidencias y sugerencias) por Bordetella pertussis en los enfermos, 59% comparada con los controles 8% (Tabla 5), es significativa, y hace indiscutible el diagnóstico epidemiológico de coqueluche en estos niños. Cabe recordar que todos estos enfermos presentaron un cuadro de tos prolongada, coqueluchoídea, con signos hematológicos y/o radiológicos que fundamentaron al diagnóstico clínico de tos convulsiva (1). Sin embargo, en ninguno de los casos se aisló el bacilo.

La documentación de un papel etiológico de los adenovirus parece menos clara. Ya se señaló

T A B L A 4

INFECCION POR ADENOVIRUS ESTUDIADA POR FIJACION DEL COMPLEMENTO, EN 141 NIÑOS CON SINDROME COQUELUCHOIDEO Y 133 CONTROLES

Catalogación *	Síndrome coqueluchoideo	Controles
Evidencia	20 (14%)	13 (10%)
Sugerencia	43 (30%)	19 (14%)
Negatividad	78 (56%)	101 (76%)
T o t a l	141	133

* Ver Material y Método.

T A B L A 5

CORRELACION ENTRE INFECCION POR BORDETELLA PERTUSSIS Y POR ADENOVIRUS, EN 106 ENFERMOS CON SINDROME COQUELUCHOIDEO Y 52 CONTROLES

Bordetella Pertussis *	ADENOVIRUS **		
	Evidencia	Sugerencia	Negatividad
Evidencia ***			
Enfermos 51 (48%)	13	15	23
Controles 3 (6%)	0	1	2
Sugerencias ***			
Enfermos 12 (11%)	1	4	7
Controles 1 (2%)	0	0	1
Negatividad ***			
Enfermos 43 (41%)	8	8	27
Controles 48 (92%)	7	10	31
Total			
Enfermos 106 (100%)	22 (21%)	27 (25%)	57 (54%)
Controles 52 (100%)	7 (13%)	11 (21%)	34 (66%)

* B. pertussis investigada por fijación del complemento y/o aglutinación.

** Adenovirus estudiados por aislamiento y fijación del complemento.

*** Catalogación según material y método.

anteriormente (1), que la diferencia total considerando los criterios de aislamiento y serología entre el grupo de enfermos con síndrome coqueluchoideo y el de los controles no era tan importante: 50% contra 35%, pero también se hizo notar que esta diferencia sí es significativa cuando se refiere a edades bajo los 6 meses (enfermos: 40%, controles: 9%), período de la vida en que la infección por adenovirus no es muy frecuente (20). La extensión del grupo control a 133 casos, estudiados por serología, nos permite determinar con mejor fundamento la existencia de infección por

adenovirus en muchos casos de coqueluche, 44% en enfermos contra 24% en controles (Tabla 4), notándose una mayor diferencia nuevamente en los menores de 6 meses: 31% en enfermos y 9% en controles. El porcentaje de adenovirus encontrado fue de un 13%, aislándose en orden de frecuencia los tipos 5, 1 y 3. Los tipos 5 y 1, al igual que el 2, se aíslan generalmente de casos esporádicos y menos frecuentemente de casos que se presentan en brotes epidémicos; la primoinfección se adquiere tempranamente en la vida, bajo los tres años y más frecuentemente bajo el año de edad. Esta primoinfección puede o no acompañarse de un cuadro clínico, generalmente del tracto respiratorio, el que a veces puede ser grave. Estos adenovirus se caracterizan, además, porque pueden quedar latentes en amígdalas y adenoides, excretándose después intermitentemente. En cambio, el adenovirus tipo 3 se aísla más frecuentemente durante epidemias de afecciones respiratorias y puede producir cuadros más graves, como ser bronconeumonías, presentando una menor tendencia a quedar latente (20-23). El porcentaje de adenovirus aislados, 13%, aunque bajo es mayor que lo señalado en la literatura para los niños normales el que es de 1 a 2%, e incluso para los niños con afecciones respiratorias, promedio 5 a 7%, ya que los adenovirus explican sólo una muy pequeña parte de estas enfermedades en la población civil (20-24). El porcentaje está de acuerdo a lo descrito por otros autores en enfermos con coqueluche, quienes aíslan adenovirus en un 10 a 24% de los paciente con dicha enfermedad, siendo más frecuente los adenovirus tipos 1, 2 y 5 (25-28).

Desde muy antiguo se ha pensado en una asociación de virus y bacterias en la producción de la coqueluche. En los últimos años, muchas publicaciones han documentado la presencia de adenovirus como agente único, en casos aislados o en brotes intrafamiliares de cuadros clínicos indistiguibles de coqueluche (29-32). Sin embargo, no se ha demostrado su participación en epidemias de mayor magnitud. Comunicaciones recientes hacen un valioso aporte al demostrar infección concomitante de Bordetella y adenovirus en un número importante de casos (25-28). El trabajo actual tendría la característica, muy especial, de documentar una epidemia de tos ferina y adenovirus simultánea. En un 52% de los casos con signos serológicos de infección por Bordetella hubo una infección mixta con adenovirus, y en algunos de estos enfermos la evolución fue particularmente grave e incluso fatal.

Desde un punto de vista epidemiológico, creemos que aunque no se haya aislado la B. pertussis y aún cuando el porcentaje de serología negativa es alto, hay elementos suficientes para asegurar que hubo epidemia de coqueluche. Desde este mismo ángulo, podríamos concluir que hubo simul-

táneamente una incidencia mayor que lo habitual de infecciones por adenovirus, especialmente en los menores de 6 meses; la importancia de este hecho no puede definir aún. Se ha postulado que la coqueluche favorecería las sobreinfecciones por adenovirus, los que a su vez podrían agravar este cuadro; también se ha sugerido que la coqueluche, por algún mecanismo no bien precisado, reactivaría adenovirus latentes, lo que se traduciría en una mayor eliminación de ellos. En los menores de 6 meses, presentados en este trabajo, la teoría de la reactivación es poco probable ya que a esa edad se tiene la primoinfección; así, en ese grupo de niños los adenovirus podrían sobreinfectar a los casos de coqueluche dándole mayor gravedad, e incluso es posible que dado la manera de reaccionar de los lactantes pequeños y por la mayor frecuencia de complicaciones bronquiolares, los adenovirus pudieran actuar como agentes únicos desencadenando en ellos síndromes coqueluchoídeos.

Aun cuando de nuestro estudio no se puede concluir que los adenovirus sean agentes causales únicos de síndrome coqueluchoídeo esporádico o epidémico, se pudo comprobar que su incidencia es mayor en las coqueluches que en otras infecciones respiratorias, particularmente en aquellos casos que mostraron serología positiva para *B. pertussis*.

RESUMEN

Se presentan los resultados bacteriológicos y virológicos de 143 casos clínicos de síndrome coqueluchoídeo. En ninguno de ellos se aisló Bordetella pertussis; la serología para este germen tuvo valor diagnóstico en algo más de la mitad de los casos, revelando un mejor rendimiento de la reacción de fijación del complemento que de la aglutinación. A pesar de la negatividad del aislamiento y del relativamente bajo rendimiento de la serología, se concluye que la epidemia fue de coqueluche, ya que el estudio serológico demostró una diferencia estadísticamente significativa entre el grupo enfermo y el grupo control. En el estudio de adenovirus, destaca el hecho que en los casos con síndrome coqueluchoídeo el aislamiento de adenovirus fue mayor que el que se obtiene habitualmente en enfermedades respiratorias, habiéndose aislado adenovirus tipos 5, 1 y 3, enumerados de acuerdo a su frecuencia. La serología mostró infección por adenovirus más frecuentemente en el grupo enfermo que en el grupo control; esta diferencia es estadísticamente significativa sólo en los menores de 6 meses. Si bien se concluye que la

epidemia fue de coqueluche, destaca el alto porcentaje de casos con signos de infección concomitante por adenovirus: más del 50% de los que mostraron signos de infección por B. pertussis mostraron también signos de infección por adenovirus. Se comenta el significado de esta concomitancia de infección por B. pertussis y adenovirus, detectada en un brote epidémico.

SUMMARY

The bacteriological and virological results of 143 clinical cases of pertussis-like syndrome are presented. In none *Bordetella pertussis* could be isolated; the serological test for this bacteria was of diagnostic value only in about half per cent the cases, giving better yields for the reaction of complement fixation than for the agglutination test. In spite of the lack of isolation of *Bordetella pertussis* and the relatively low yield of the serological test, it can be concluded that the epidemic was due to *Bordetella pertussis*. In the study of adenovirus, it was found that in the clinical cases with pertussis-like syndrome, the percentage of isolation of adenovirus was greater than that usually obtained in respiratory diseases; the adenovirus isolated were of the type 5, 1 and 3, numbered according to their frequency of isolation. The serological test showed infection by adenovirus more frequently in the sick group than in the control one, being this difference statistically significant only in the infants below 6 months of age. Even though it can be concluded that the epidemic corresponded to whooping cough, it is worth our attention the finding that a high percentage of the cases showed a concomitant infection by adenovirus; thus, over 50% of the children which showed serological signs of infection by *Bordetella pertussis*, showed also signs of infection by adenovirus. The significance of a simultaneous infection by *Bordetella pertussis* and adenovirus during a whooping cough epidemic is discussed.

REFERENCIAS

- 1.— Wu E., Avendaño LF. y Grado C. Síndrome Coqueluchoídeo y Adenovirus. Rev. Chil. Pediat. 46: 34, 1975.
- 2.— Meneghello J. Pediatría. Buenos Aires, Intermedica, 1972.
- 3.— Aftandeliants R. and Connor JD. Immunologic Studies of Pertussis. Development of Precipitins. J. Pediat. 83: 206, 1973.
- 4.— Krugman S. and Ward R. Infectious Diseases of Children and Adults. 5th Ed., St. Louis, CV. Mosby Company, 1973.

- 5.— *American Academy of Pediatrics*, Report of the Committee on Infectious Diseases. 17th Ed, Evans-ton, AAP., 1974.
- 6.— *Davis RD., Dulbecco R., Eisen RN., Ginsberg HS., Wood WB and McCarty Maelyn.* Microbiology. 2nd Ed. Maryland, Harper and Row Publishers, 1973.
- 7.— *A Combined Scottis Study.* Diagnosis of Whooping Cough. Comparison of Serological Tests with Iso-lation of *Bordetella pertussis*. Br. Med. J. 4: 637, 1970.
- 8.— *Chalvardjian N.* The Laboratory Diagnosis of Whooping Cough by Fluorescent Antibody and by Culture Methods. Can Med. Assoc. J. 95: 263, 1966.
- 9.— *Brooksaler F. and Nelson JD.* Pertussis. A Reap-praisal and Report of 190 Confirmed Cases. Am. J. Dis. Child. 114: 389, 1967.
- 10.— *Allen TW, Henderson IR., Moore EJH and Hey-wood N.* Whooping-cough. Difficulties in Diagnosis e Ineffectiveness of Immunization. Br. Med. J. 2: 623, 1965.
- 11.— *Kendrick, PL., Eldering C. and Eveland WC.* Fluorescent Antibody Techniques. Methods for Identification of *Bordetella pertussis*. Am. J. Dis. Child. 101: 149, 1961.
- 12.— *Winter JL.* Development of Antibodies in Children Convalescent from Whooping Cough. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 83: 866, 1953.
- 13.— *de Gara PF. and Mayer SA.* The Agglutinative Reac-tion for *Hemophilus Pertussis* Following Whooping Cough and Following Immunization. J. Pediat. 30: 171, 1947.
- 14.— *Provenzano R. W., Wetterlow I. H. and Sullivan Ch. L.* Immunization and Antibody Response in the Newborn Infant. H. Engl. J. Med. 273: 959, 1965.
- 15.— *Wilkins J., Williams F. F., Wehrle P. F. and Port-roy B.* Agglutinin Response to Pertussis Vaccine I. Effect of Dosage and Interval. J. Pediat. 79: 197, 1971.
- 16.— *Preston N. W.* Type-specific Immunity Against Whooping-cough. Br. Med. J. 2: 724, 1963.
- 17.— *Lenete E. H. and Schmidt N. J.* Diagnostic Pro-cedures for Viral and Rickettsial Diseases. 3rd Ed. New York, American Public Health Association Inc., 1964.
- 18.— *Rosen L.* Hemagglutination by Adenoviruses. Viro-logy 5: 574, 1958.
- 19.— *Sever J. L.* Application of a Microtechnique to Vi-ral Serological Investigations. J. Immunol. 88: 320, 1962.
- 20.— *Sterner C.* Adenovirus Infection in Childhood. An Epidemiological and Clinical Survey Among Swe-dish Children Acta Paediat. Scand. (Suppl.) 142: 1, 1962.
- 21.— *Van der Veen J.* The Role of Adenoviruses in Res-piratory Diseases. Am. Rev. Resp. Dis. 88: 167, 1963.
- 22.— *Debré R. and Cellers J.* Clinical Virology. The Eva-luation and Management of Human Viral Infec-tions. Philadelphia, WB Saunders Company, 1970.
- 23.— *Horsfall F. L. and Tamm I.* Viral and Rickettsial Infections of Man. 4th Ed. Philadelphia, J. B. Lip-pincott Company, 1965.
- 24.— *Similä S., Ylikorkala O. and Wasz-Höckert O.* Type 7 Adenovirus Pneumonia. J. Pediat. 79: 605, 1971.
- 25.— *Pereira M. and Candeias JAN.* The Association of Viruses with Clinical Pertussis. J. Hyg (Camb) 69: 399, 1971.
- 26.— *Klent E. L., Gaultney J. V. and Bass J. W.* Bacte-riologically Proved Pertussis and Adenovirus In-fection. Possible Association. Am. J. Dis. Child. 124: 203, 1972.
- 27.— *Lewis F. A., Gust I. D. and MckBennett N.* On the Aetiology of Whooping Cough. J. Hyg (Camb.) 71: 139, 1973.
- 28.— *Nelson K. E., Gavitt F., Batt M. D., Kallick ChA., Reddi K. T. and Levin S.* The Role of Adenovirus in the Pertussis Syndrome. J. Pediat. 86: 335, 1975.
- 29.— *Farber S. and Vawter G.* Clinical Pathological Con-ference. J. Pediat. 58: 876, 1961.
- 30.— *Olson L. C., Miller G. and Hanshaw J.* Acute In-fectious Lymphocytosis Presenting a sa Pertusis-like Illnes: Its Association with Adenovirus Type 12. Lancet 1: 200, 1964.
- 31.— *Colier A. M., Connor J. D. and Irving W. R.* Gene-ralized Type 5 Adenovirus Infection Associated with the Pertussis Syndrome. J. Pediat. 69: 1073, 1966.
- 32.— *Connor J. D.* Evidence for an Etiologic Role of Adenoviral Infection in Pertussis Syndrome. N. Engl. J. Med. 283: 390, 1970.