



Pontificia Universidad
JAVERIANA
Bogotá



Grupo de investigación
enfermedades infecciosas



**INTERPRETACION CLINICA DE LAS PRUEBAS SEROLOGICAS Y MOLECULARES PARA LA
DETERMINACIÓN DE LA INFECCIÓN RESPIRATORIA POR MYCOPLASMA PNEUMONIAE**

Presentado por: LEIDY CATHERINE ROA BAQUERO

Director: HUGO DIEZ ORTEGA, Ph.D

PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA

FACULTAD DE CIENCIAS

PROGRAMA DE BACTERIOLOGÍA

BOGOTA D.C

Agosto 1-12



Facultad de Ciencias-Departamento de Microbiología



INTERPRETACION CLINICA DE LAS PRUEBAS SEROLOGICAS Y MOLECULARES PARA LA DETERMINACIÓN DE LA INFECCIÓN RESPIRATORIA POR MYCOPLASMA PNEUMONIAE

1) INTRODUCCION

Los microorganismos del género *Mycoplasma* son agentes patógenos, colonizadores ubicuos, procariontes más pequeños y de vida independiente conocida, aunque debido a sus requerimientos de crecimiento son de difícil cultivo. Estos microorganismos del género *Mycoplasma* carecen de pared celular y están rodeados por una membrana que contiene esteroides. Gracias al tamaño y a la capacidad de su membrana deformable pasan a través de filtros cuyos poros pueden retener bacterias visibles al microscopio (MANDELL et al, 2006). Actualmente se conocen 16 especies de *Mycoplasma* aisladas en humanos (excluyendo aislamientos ocasionales de *Mycoplasma* de origen animal recuperados en humanos con compromiso inmunológico). Entre las especies de *Mycoplasma* aisladas el de mayor impacto clínico como patógeno humano es el *Mycoplasma pneumoniae* (MP). El MP comparte la mayoría de las características descritas para este género; de vida libre, crecimiento lento, capacidad de autoreplicarse, pleomórfico, carece de pared celular, aerobio y fermentador de glucosa aunque el MP tiene la capacidad de reducir el tetrazolio, el cual lo diferencia de otras especies de *Mycoplasmas* comensales de la orofaringe. El tamaño de los *Mycoplasmas* los hace imperceptible al ojo humano por medio de microscopio óptico (No es visible con la coloración de Gram), ya que son más pequeños que las bacterias convencionales tanto en sus dimensiones morfológicas como en el tamaño del genoma. Por carecer de pared no es sensible a la actividad de los antibióticos β -lactámicos, pero es muy sensible a la desecación (REYES et al, 2006).

Como patógeno humano el MP es causal de neumonía adquirida en la comunidad (NAC), infecciones de las vías respiratorias superiores, como faringitis y, en ocasiones, otitis media o meningitis, rinitis, y sinusitis (Moya, 2009). El diagnóstico clínico y demostración del agente etiológico en las infecciones respiratorias por MP se dificulta dado que clínicamente suelen presentarse manifestaciones inespecíficas poco concluyentes como fiebre y cefalea, y dificultad respiratoria no diferenciable respecto a la ocasionada por otros microorganismos a tal punto que la evidencia clínica termina obteniéndose por descarte. Su diagnóstico requiere una anamnesis detallada, y el apoyo de diferentes pruebas de laboratorio clínico que requiere una excelente correlación clínica para su interpretación. Si bien MP puede crecer en medios artificiales complementados para su crecimiento los cultivos son





demorados, fácilmente contaminables, requieren experticia para su manejo y una infraestructura especial para su manejo dentro de los laboratorios hospitalarios. Las pruebas de PCR, sensibles y específicas de *MP* parecen ser mejores que la serología tradicional para determinar el diagnóstico. Sin embargo, su uso como pruebas de primera elección demanda su estandarización y disponibilidad, razón por la cual actualmente las pruebas de inmunoensayos enzimáticos e inmunofluorescencia que detectan anticuerpos IgG e IgM específicos contra *MP* son las utilizadas como base para el diagnóstico. La presencia del microorganismo y un simple título de Acs no son concluyentes para el diagnóstico y los datos deben ser interpretados ante la clínica del paciente. Se acepta como norma que la demostración de una cuadruplicación o aumento mayor de los títulos de anticuerpos son sugestivos de un proceso infeccioso, sin embargo, los anticuerpos de *MP* pueden tener reacciones cruzadas con otros antígenos, por lo que los resultados de estas pruebas deben reevaluarse para su interpretación (AMERICAN ACADEMY OF PEDIATRICS, 2009; SOULIOU et al, 2007) aspectos que pretende abordar este trabajo siendo relevante ya que para el diagnóstico y tratamiento de la infección por *MP* se necesita capacitar al personal médico y paramédico en la interpretación de los datos de laboratorio y correlacionar con la sintomatología (anamnesis) que generalmente es de carácter subclínico.

2) PROBLEMA Y JUSTIFICACION

En la actualidad las infecciones de las vías respiratorias por microorganismos atípicos como *MP* se constituyen en un problema de salud pública tanto por el impacto clínico en la población como por el desconocimiento que se tiene sobre el microorganismo y la enfermedad. Frente a esta problemática se busca indagar sobre el conocimiento que se tiene acerca de los agentes etiológicos y la importancia que esto genera en cuanto al control adecuado de la enfermedad y el diagnóstico oportuno para evitar que esta siga siendo una causa de morbimortalidad importante en la población afectada. Particularmente en la neumonía por *MP* el estudio para el diagnóstico incluye una correcta correlación clínica pero esta es difícil de efectuar dado el comportamiento atípico que tiene la infección, la presentación subclínica en muchos casos y el desconocimiento del personal médico sobre el uso y la interpretación de las pruebas de laboratorio. Si bien se acepta que la presencia del microorganismo debe estar asociada al título de anticuerpos, son pocos los profesionales de la salud que analizan dentro del resultado serológico el impacto de la variabilidad de epítopes del microorganismo, la inducción de auto-anticuerpos, y el contacto inmunológico. Igualmente las pruebas moleculares sobredimensionan la epidemiología de la enfermedad pues estas han facilitado la identificación de *MP* porque mejoran en un alto porcentaje la





sensibilidad frente a otras pruebas, pero dificultan la interpretación clínica debido a que la presencia del microorganismo no necesariamente se asocia al proceso infeccioso en el paciente y por eso empieza a cuestionarse su relación causa-efecto sobre la infección. Es por ello que a pesar de los datos que se tienen sobre las infecciones causadas por los *Mycoplasmas* en el humano, aún falta mucho por conocer acerca de su patogénesis, factores de virulencia, pruebas diagnósticas por el laboratorio, así como la importancia médica que se les debe de dar. Este trabajo analizará las pruebas serológicas y moleculares que se usan hoy en día para el diagnóstico de neumonía por MP y la manera como debe ser abordada su interpretación ante la clínica del paciente.

3) **OBJETIVOS**

a) **OBJETIVO GENERAL**

- i) Conocer el significado clínico de las pruebas de laboratorio serológicas y moleculares en el diagnóstico de la neumonía por *Mycoplasma pneumoniae*.

b) **OBJETIVO ESPECÍFICO**

- i) Describir las características clínicas de la neumonía por *Mycoplasma pneumoniae*.
- ii) Establecer la importancia de las técnicas inmunológicas y moleculares utilizadas para la identificación de *Mycoplasma pneumoniae*.

4) **MATERIALES Y METODOS:**

a) **Diseño:** es un Estudio observacional descriptivo para determinar la clínica, diagnóstico e interpretación de las pruebas de laboratorio para neumonía producida por bacterias atípicas tipo *Mycoplasma*.

b) **Población de estudio:** estará conformada por artículos y libros de bases de datos reconocidas, actualizados y con información acerca de neumonía causada *Mycoplasma pneumoniae*

c) **Proceso de selección:**

- i) Para el desarrollo de esta monografía se realizó una búsqueda de artículos/libros involucrados con la relación de infecciones respiratorias por *Mycoplasma pneumoniae* en bases de datos como Elsevier, Hinari, Medline, MDconsult, Medical library (proquest), Medlatina (Ebscohost), National library of Medicine, Science direct, Scielo.





d) Población de estudio:

- i) Estuvo conformada por artículos y libros de bases de datos reconocidas, actualizados y con información acerca de neumonía por *Mycoplasma pneumoniae*

e) Las variables en estudio son:

Variable	Unidad de medición	Clasificación
Independiente <i>Mycoplasma pneumoniae</i> como agentes etiológicos de la enfermedad respiratoria aguda.	Número de casos	Variable discreta. Cualitativa nominal
Dependiente Pruebas de laboratorio	Número de pruebas	Variable discreta. Cuantitativa razón

f) Criterios de selección de la información:

- i) Criterios de inclusión:
- (1) Año publicación: 2008-2011
 - (2) Idioma de la publicación: Inglés/ Español
 - (3) Tipo de artículo: revisión como de carácter experimental.
 - (4) Los temas académicos incluidos:
 - (a) Fisiopatología y clasificación de las neumonías
 - (b) *Mycoplasma pneumoniae* como agente etiológico de neumonía.
 - (c) Pruebas diagnósticas y de identificación.
 - (d) Estudios en Colombia
- ii) Criterios de exclusión de artículos:
- (1) Artículos que presenten publicaciones con las siguientes características:
 - (a) Resúmenes de artículos o comentarios personales tipo editor.
 - (b) Artículos divulgativos de carácter no científico.
 - (c) Artículos en idiomas diferentes a inglés y español.
 - (d) Informes técnicos comerciales.
 - (e) Artículos que fueron publicados antes de 2008.

g) Estrategia de búsqueda:

- i) Para el desarrollo de la monografía se usó la estrategia de búsqueda mediante la utilización de los encabezados temáticos, operadores y palabras de texto relacionados con el tema como son:
- (1) Operadores: conectores entre los diferentes temas como Y (AND), O (OR), NO (NOT) CON (WITH), CERCA (NEAR).
 - (2) Campos: se solicitaron como campos de búsqueda los parámetros: All Title MeSH AU AB.
 - (3) Palabras claves: Neumonía – Adulto mayor – *Mycoplasma*.
 - (4) Observación: los artículos se seleccionaron por más de un observador (estudiante y director) y discutido si entra dentro de los criterios de inclusión o no.





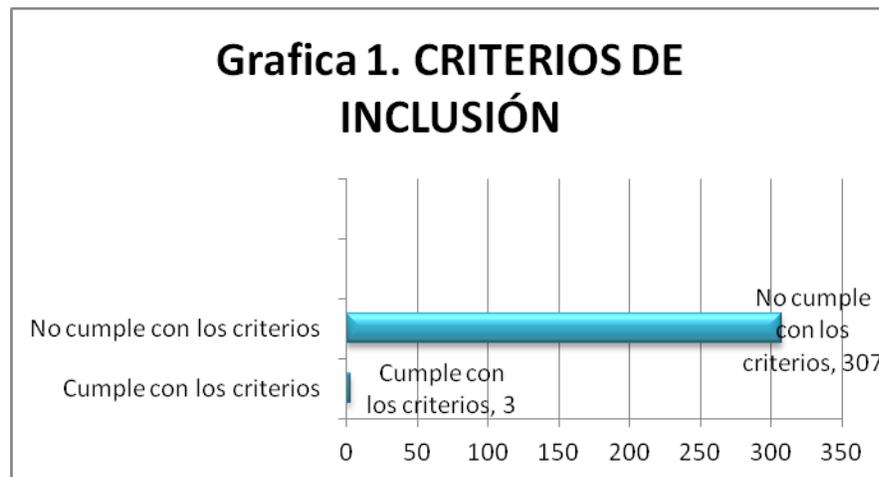
h) Recolección de la información:

- (1) Tabulación de artículos: los datos para recopilar la información se tabularon en un formato de recolección tabla excell.
- (2) Extracción de datos: a partir de la tabulación de artículos se dejaron únicamente aquellos que cumplieran con los criterios de inclusión.

5) RESULTADOS Y DISCUSIÓN

a) CRITERIOS DE SELECCIÓN DE INFORMACIÓN

- i) Para el cumplimiento del diseño metodológico establecido y los criterios de inclusión, se realizó una revisión de literatura donde se analizaron 310 artículos donde 3 (1%) cumplían con absolutamente todos los criterios de inclusión, como se muestra en la Grafica 1.



Grafica 1. Criterios de inclusión Artículos, donde:

3 (1%) Los artículos cumplen absolutamente todos los criterios de inclusión.

307 (99%) Los artículos presentan 1 o 2 criterios de exclusión.

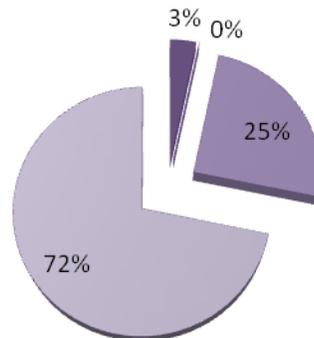
Dado que solo 3 artículos (1%) cumplían con todos los criterios de inclusión, los demás no cumplían con alguno de los requisitos estos no se excluyeron de la monografía pues datos aislados de los otros 307 artículos pudieron ser incluidos para cumplir con los objetivos propuestos. Dado el bajo número de artículos seleccionados se excluyeron totalmente artículos y reportes por fuera del tiempo de 2008 a 2011 y aquellos que clínicamente no hacían referencia al Microorganismo en estudio *MP*. Es de aclarar que dentro de los presupuestos teóricos se referencia 1 Libro del año



2006 y otros libros del 2007 los cuales no forman parte del diseño de la monografía, pero son referenciados en la bibliografía para sustentar los antecedentes del trabajo. Se procedió a determinar el cumplimiento de los criterios de inclusión y exclusión de los artículos, donde; se clasificaron en 2 grupos artículos que tenían 1 solo criterio de exclusión (seleccionados para revisión). Ver grafica 2. Artículos con 2 criterios de exclusión (excluidos de la revisión). Ver grafica 3.

Grafica 2. Artículos Con 1 Criterio De Exclusión

■ Mycoplasma pneumoniae ■ Neumonía ■ Adulto Mayor ■ Año Publicación



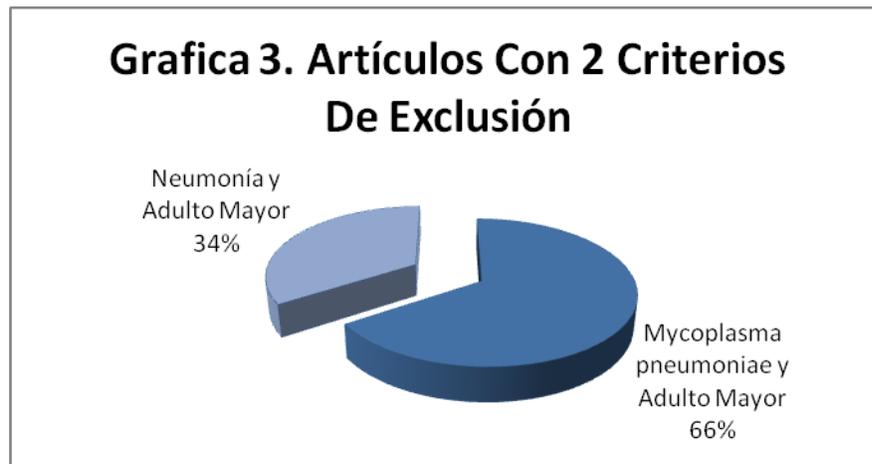
Grafica 2. Artículos que presentan un (1) solo criterio de exclusión, donde:

9 (3%) Los artículos no mencionan el microorganismo a estudiar *MP*.

0 (0%) Los artículos no mencionan la patología Neumonía.

67 (25%) Los artículos no mencionan al adulto mayor.

193 (72%) Los artículos están fuera del periodo de tiempo 2008 al 2011.



Grafica 3. Artículos que presentan dos (2) criterios de exclusión, donde:

25 (66%) Los artículos no mencionan el microorganismo a estudiar *MP* y Adulto Mayor.

130 (34%) Los artículos no mencionan la patología Neumonía y Adulto Mayor

6) RESULTADOS TEORICOS Y DISCUSION

a) *MICOPLOSMAS Y PNEUMONIA*

Para cumplir con el primer objetivo propuesto se realizó una revisión sobre las generalidades de *Mycoplasmas* y su relación con la fisiopatología de una de las enfermedades que causan como es la neumonía atípica (NA) y la neumonía adquirida en la comunidad (NAC). La NA puede ser causada por distintas etiologías que a menudo son difíciles de diferenciar clínicamente (SWAPAN et al, 2007) ya que se caracteriza por presentar un cuadro clínico subagudo: donde las manifestaciones son leves a moderadas; malestar general, cefalea, mialgias, artralgias, tos seca y el cuadro febril no presenta picos característicos como en la neumonía por *Pneumococo*. El 50% de los casos la exploración clínica es normal. La auscultación pulmonar suele ser normal mas sin embargo, con radiografía de tórax se aprecia un infiltrado intersticial o infiltrados múltiples. En el hemograma puede evidenciarse presencia de leucocitosis moderada o no manifestarse. Esta es la forma de presentación habitual del *Mycoplasma pneumoniae*. (ROZAS et al, 2008).

La neumonía adquirida en la comunidad (NAC) es definida como proceso infeccioso agudo que afecta el parénquima pulmonar y es de origen extrahospitalario, donde se excluyen a los pacientes que hayan



estado hospitalizados 15 días antes de contraer la enfermedad. (BLANQUER et al, 2010). La NAC representa una causa de morbilidad y mortalidad alta dentro de la población en general, con una incidencia difícil de precisar con exactitud ya que no es una enfermedad de declaración obligatoria (CHACÓN et al, 2010) mas sin embargo se estima que su incidencia oscila entre 2 a 10 casos por cada 1000 personas anualmente dentro de los cuales se considera que el 35% requiere de hospitalización. (PACHON et al, 2009). Debido a la incidencia estimada de la NAC es considerada una enfermedad grave que representa un impacto económico representativo. (CAPELASTEGUI et al, 2010). La prevención y promoción en salud no solo van dirigidas en pro del bienestar y salud del paciente como tal, si no, también van dirigidos al mejoramiento de la salud para minimizar costes hospitalarios en enfermedades como la NAC (SENCIALES et al, 2008). La existencia de diferentes Factores favorece la aparición de la NAC limitando la acción del sistema inmune, entre dichos factores se encuentran: el tabaquismo, alcoholismo, edad avanzada, uso de ciertos fármacos y enfermedades de base como el EPOC o Asma (BAQUERO et al, 2010). Los gérmenes atípicos como el *MP* limita la eficacia del mecanismo mucociliar predisponiendo a infecciones como la NAC. (GUTIÉRREZ et al, 2010).

Dentro de las manifestaciones clínicas de la neumonía específicamente producida por el *MP* se puede decir que no hay datos patognomónicos pues su presentación clínica es muy heterogénea e inespecífica lo que le atribuye el nombre de neumonía atípica a tal punto que su diagnostico se basa en una anamnesis generalmente por descarte (MENÉNDEZ et al, 2010). Dentro de la sintomatología inespecífica se presenta malestar general, mialgias, escalofríos, ocasionalmente fiebre, tos sin expectoración, junto con auscultación pulmonar normal o en ocasiones anormal; en ancianos se puede presentar confusión y empeoramiento de enfermedades de base (TORRES et al, 2010). Se ha descrito que las infecciones por *M. pneumoniae* pueden ser asintomática hasta un 20% de los casos, y afecta la vía aérea superior y/o inferior, donde las manifestaciones clínicas aparecen de manera gradual, inicialmente afectando vía aérea superior con síntomas como odinofagia y/o disfonía, que luego progresan a la vía aérea inferior, con tos, sintomatología muy similar a la presentada por agentes virales. En las tablas 1 y 2 se muestra un resumen de los síntomas y signos más frecuentes asociados a la infección por *Mycoplasma pneumoniae* en los principales estudios revisados para esta monografía. (Paul MA et al).





Tabla 1. Síntomas asociados a infección por *M. pneumoniae* (Paul MA et al, 2008)

Porcentaje de pacientes							
Síntomas	Stevens et al, 1978	Principi et al *, 2001	Principi et al **, 2001	John et al, 2001	Esposito et al, 2001	Othman et al, 2005	Shenoy et al, 2005
Tos	98	60.4	44.4	90	64.7		100
Rinorrea	59***	14.5	7.4			34.2	22.7
Fiebre	59	86.2	81.4	31	85.2		90.1
CEG / Letargia	86					43.4	
Vómitos	39					42.1	
Dolor abdominal o torácico	34						4.5
Cefalea	32						
Rash cutáneo	20						4.5
Disnea						36.8	
Diarrea						15.8	4.5
Odinofagia							13.6

*pacientes con NAC; **pacientes con bronquiolitis; ***rinorrea y/o odinofagia; CEG: compromiso del estado general. Los autores mencionados en la columna son referenciados en la Bibliografía del trabajo.

Tabla 2. Signos al examen físico asociados a infección por *M. pneumoniae*. (Paul MA et al, 2008)

Porcentaje de pacientes							
Signos	Stevens et al *, 1978	Principi et al **, 2001	Principi et al, 2001	John et al, 2001	Esposito et al, 2001	Othman et al, 2005	Shenoy et al, 2005
Taquipnea		14.5	18.5		11.7	55.3	18
Crépitos	59	84.6	77.7	62	88.2	72.4	40.9
Sibilancia		12.9	11.1	19	14.7	35.5	9
Roncus	32	11.2	66.6	17			27.3

*pacientes con NAC; **pacientes con bronquitis.

MP es un patógeno exclusivamente humano y de distribución universal;(MATAS et al. 2008). Se caracteriza por ser una bacteria de vida libre, pequeña con capacidad de autoreplicación, por el tamaño de su genoma maneja la economía biológica extrema de sus genes, de ahí la exigencia de los requerimientos nutricionales (CERVANTES, 2009). El *MP* es una bacteria que carece de pared celular cualidad que le confiere características tales como: pleomorfismo, resistencia a la acción de antibióticos betalactámicos, no identificable por tinción de Gram, sensibilidad a los detergentes, solventes orgánicos y a los cambios de osmolaridad del medio. Los factores de virulencia del *MP* están constituidos por una





organela en forma de punta, donde alberga unas proteínas y adhesinas P1 de 170KDa; las adhesinas P1 son esenciales para la colonización e infección, estas adhesinas interaccionan con los receptores celulares ubicados en la membrana donde se fijan a las células ciliadas del aparato respiratorio inferior evitando el movimiento de los cilios (cilioestasis) que son importantes para la defensa de las vías respiratorias. (L. MATAS et al, 2008; CERVANTES, 2009). Si el *MP* perdiera la adhesina P1 desencadenaría la pérdida de adhesividad y consecuentemente, su capacidad patógena (L. MATAS et al, 2008; INDIAN, 2008). El *MP* es un microorganismo que no libera toxinas como factor de virulencia; otro factor de virulencia por el cual el *MP* produce lesiones en el epitelio pulmonar diferente a las adhesinas; es durante su actividad metabólica donde produce y libera peróxido de hidrógeno y formación de radicales superóxidos, que a su vez interactúa con moléculas endógenas de las células del epitelio pulmonar desencadenando efectos citopáticos como la Ciliostasis (pérdida de la actividad de los cilios) y la destrucción de la capa epitelial. La respuesta inmune local a la infección por el *MP* es mediada por un infiltrado de linfocitos y células plasmáticas. Esta respuesta inmune con lleva a una producción rápida de anticuerpos contra antígenos proteicos y glucolipídicos del *MP*. Inicialmente existe la producción e incremento de anticuerpos de tipo IgM e IgA, seguida de anticuerpos IgG a las dos semanas. Se describe que en las reinfecciones hay una respuesta de IgG e IgA, que al opsonizar el *MP* facilita la fagocitosis y lisis mediada por el complemento. No existe una respuesta inmunológica protectora contra la reinfección por el *MP*; se ha propuesto que los epítomos que condicionan la adherencia del *Mycoplasma* son diferentes en cada caso de reinfección. (L. MATAS et al, 2008). Este microorganismo es una bacteria que se disemina por medio de gotas de aerosoles provenientes de secreciones respiratorias alcanzando la vía inhaladora e instaurándose en el aparato respiratorio inferior (GUTIÉRREZ et al, 2010). El periodo estimado de incubación del *MP* es extenso (1 a 4 semanas), tiene tropismo por las células epiteliales ciliadas y no ciliadas de los pulmones, donde una vez instaurado por medio de unas proteínas P1 adhesinas, empieza a producir radicales libre el peróxido de hidrógeno y formación de radicales superóxidos que cumplen con la función de lesionar las células desencadenando inflamación en el tejido. (MAY AND BROWN, 2011).

Casi siempre el manejo antimicrobiano de las NAC es empírico, previo al diagnóstico etiológico, de ahí la importancia de la clínica y el adecuado manejo de los conocimientos adquiridos por parte del personal tratante y la debida actualización bibliográfica por parte del mismo para estar a la vanguardia, todo para buscar beneficio del paciente. (PACHON et al, 2009). Dentro de la bibliografía revisada se encuentra





que el *MP* afecta con mayor frecuencia a los niños y adultos jóvenes y, se sabe con certeza que no necesariamente los portadores del *MP* desarrollan neumonía (SIMMONS et al, 2010).

b) FISIOPATOLOGIA INFECCION

Como patógeno para el hombre el *MP* es causante de infecciones del tracto respiratorio inferior definiéndose como neumonía, el cual es un proceso inflamatorio del parénquima pulmonar, cuando la población afectada es inmunocompetente y no ha estado hospitalizado o en instituciones cerradas, se denomina neumonía adquirida en la comunidad o extrahospitalaria (NAC) con el objeto de diferenciarla de pacientes ingresados en el hospital o inmunodeprimidos que tienen un espectro etiológico distinto y peor pronóstico (DÍAZ et al, 2011). Epidemiológicamente el *MP* es causa frecuente de infecciones agudas en los adultos mayor (Mayor 65 años) representado el 20% al 30% infecciones adquiridas en la comunidad. La infección por el *MP* aparece de manera ocasional a lo largo de un año; y la forma de contagio principalmente es de persona a persona por medio de la inhalación de partículas en aerosol que están en el ambiente o por el contacto directo de secreciones respiratorias (SWAPAN et al, 2007)

Las partículas de aerosol cruzan vías respiratorias superiores hasta situarse en el tracto respiratorio inferior. El *MP* cuenta con un orgánulo de adherencia compleja y especializada que incluye una trama de proteínas, denominadas adhesinasP1, y proteínas accesorias de adherencia. Estas proteínas interactúan conjuntamente para movilizar y concentrar las adhesinas en las puntas, para así facilitar la colonización del *MP* en los cilios del epitelio respiratorio, la adherencia del microorganismo ocasiona inmovilidad ciliar (Ciliostasis), ocasionando tos prolongada observada en la clínica de la enfermedad. El *MP* elabora productos citotóxicos de su metabolismo causando destrucción celular de la mucosa respiratoria por medio de daño oxidativo de las membranas celulares. (SWAPAN et al, 2007).

Realizada la adherencia mediada por la proteína adhesinaP1 y proteínas accesorias de adherencia, el *MP* es protegido de la remoción por el mecanismo de depuración mucociliar; ya que después de la adherencia del microorganismo ocurre la ciliostasis, exfoliación de células infectadas, inflamación crónica y citotoxicidad por el peróxido de hidrógeno y formación de radicales superóxidos que producen estrés oxidativo. Una vez se activa el complemento o anticuerpos estos opsonizan el *MP* desencadenándose la activación de los macrófagos liberando citoquinas (TNF α , IL-1, IL-5, y IL-6). Juntamente se origina una respuesta inflamatoria de células mononucleares linfocitos B, células T, CD4 y células plasmáticas infiltran el pulmón (evidencia Radiográfica). La activación de la respuesta inmune





por medio de las citoquinas y estímulo de los linfocitos podría evidenciar la minimización de la enfermedad por medio de mecanismos de defensa o su exacerbación por acción de los mecanismos inmunológicos. Por ende, si la respuesta inmune es intensa y mediada por células y citoquinas, el daño pulmonar y la progresión de la enfermedad serán más severos (REYES et al, 2006).

c) DIAGNOSTICO POR EL LABORATORIO

Para cumplir con el segundo objetivo propuesto se realizó una revisión sobre pruebas diagnósticas encontrándose que el diagnóstico del NAC causado por el MP se basa principalmente en la clínica de la infección aguda dada la baja utilización de las pruebas de laboratorio. Sin embargo la demostración del agente etiológico sería de gran utilidad dado que clínicamente suelen presentarse manifestaciones inespecíficas poco concluyentes no diferenciables respecto a la ocasionada por otros microorganismos y la utilización de pruebas complementarias son indicadas dependiendo de la anamnesis del paciente y la gravedad de la neumonía (ÁLVAREZ et al, 2010; AMERICAN ACADEMY OF PEDIATRICS, 2009).

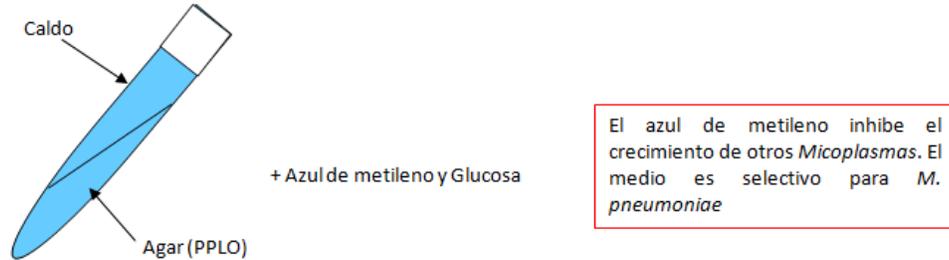
Las pruebas diagnósticas incluyen métodos biológicos para el cultivo celular del microorganismo, métodos inmunológicos en los cuales se detecta IgG, IgM e incluso IgA específica, y hoy en día revisten importancia las pruebas moleculares.

El diagnóstico microbiológico de las infecciones bacterianas del tracto respiratorio inferior presenta limitaciones; ya que dependiendo del cuadro clínico, del tratamiento profiláctico que le antecede (Antibióticoterapia) y del diagnóstico clínico correcto, se puede llegar a encontrar la etiología correcta. Si bien el MP puede crecer en medios de cultivo artificiales su crecimiento es lento y poco concluyente ya que presenta un bajo rendimiento (del 40% - 60% de los casos no se aísla el agente causal) por la baja sensibilidad (60%) de los cultivos (debida a contaminación, crecimiento lento y utilización de medios de cultivo especiales), por lo tanto el cultivo microbiológico de las muestras se torna innecesario y los resultados son ineficaces para el diagnóstico y puede conllevar a un tratamiento erróneo (MESEGUER et al, 2008). El cultivo para MP se puede elaborar a partir de muestras biológicas como secreción faríngea o lavado pulmonar, mas sin embargo el cultivo del MP no es recomendado por su complejidad al necesitar altos requerimientos nutricionales y por ser de lento crecimiento, teniendo una sensibilidad no superior al 60% y una especificidad del 100%, desde el punto clínico el uso del cultivo para diagnóstico de rutina no se recomienda (PAUL et al, 2008). Mas sin embargo el el Centro para la



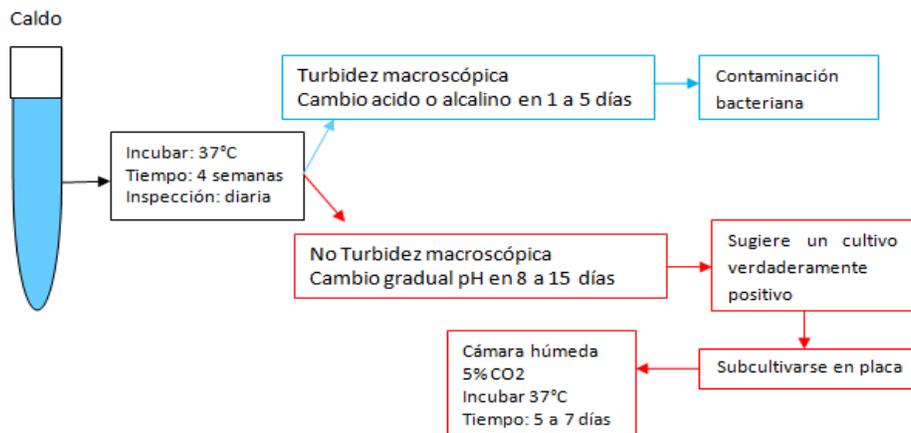
Prevención y el Control de las Enfermedades (CDC) de Estados Unidos sugiere el uso de medio de cultivo bifásico (caldo y agar PPLO) con azul de metileno y glucosa, para el aislamiento de *M. pneumoniae*.

Figura 1. Cultivos Bifásicos (PÉREZ et al, 2007)



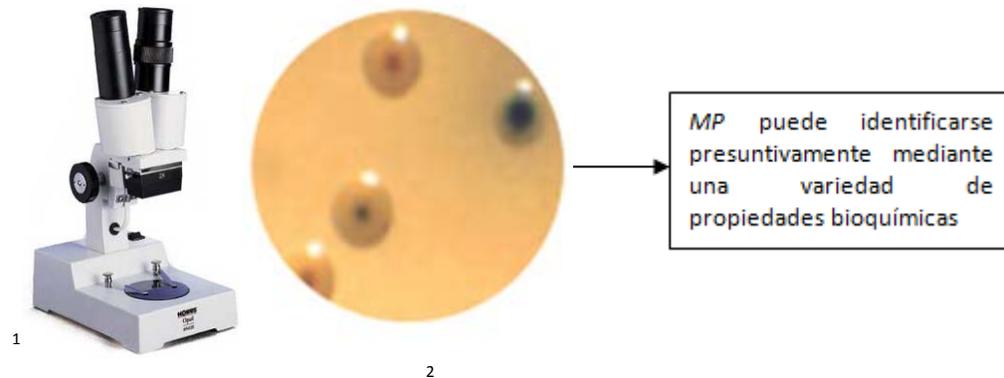
Se ha observado que los medios bifásicos favorecen la recuperación del *MP* en un 26% comparado con placas de agar. E.J., diferentes muestras positivas para *MP* en un cultivo de placas de agar también lo fueron por medio bifásico, en tiempo promedio de 7 y 14 días. Paralelamente las muestras negativas con placas de agar fueron positivas después de 21 días por medio bifásico; demostrando que el uso del medio bifásico favorece el aislamiento de *M. pneumoniae* y que el tiempo de aparición de crecimiento (tiempo de incubación) en el medio bifásico está relacionado con la presencia o no del microorganismo y del inoculo inicial (PÉREZ et al, 2007; Kenny y col. 1990). Más sin embargo, si después de 1 a 3 semanas de incubación en medio bifásico no hay cambio de color, se debe realizar un subcultivo en medio de agar.

Figura 2. Cultivo caldo (PÉREZ et al, 2007)



Aunque el diagnóstico microbiológico por cultivo no es recomendado por su complejidad; es necesario reconocer que puede llegar a ser una herramienta útil en el ámbito investigativo, por ende su interpretación es ineludible (MESEGUER et al, 2008; PÉREZ et al, 2007)

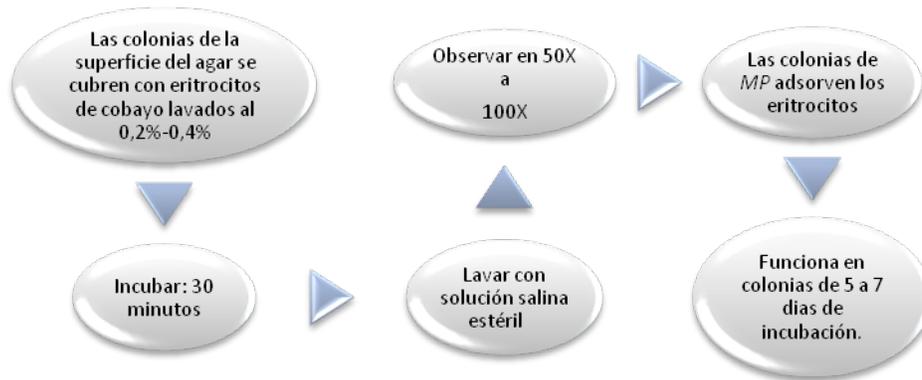
Figura 3. Cultivo agar (PÉREZ et al, 2007)



Microscopio
estereoscópico
Objetivo de 20X ó
60X

Mycoplasma ssp.: Crecimiento en agar SP-4,
Suplementado con anfotericina y colistina.
Crecimiento tras incubación de 10 días.

Figura 4. Prueba bioquímica Hemadsorción (PÉREZ et al, 2007)



¹ Kosmos SCIENTIFIC - Consulta en línea: http://www.kosmos.com.mx/fprod/micros_konus.html

² GEFOR Mayo 2011 - Consulta en línea: <http://www.gefor.4t.com/bacteriologia/mycoplasma.html>

Figura 5. Prueba bioquímica beta-hemólisis (PÉREZ et al, 2007)

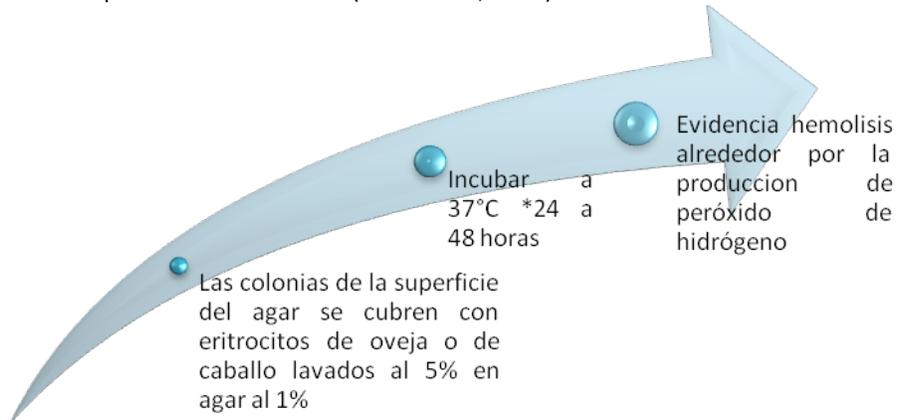


Figura 6. Prueba bioquímica reducción del tetrazolio. Otros *Mycoplasmas* son negativos con esta prueba. (PÉREZ et al, 2007)

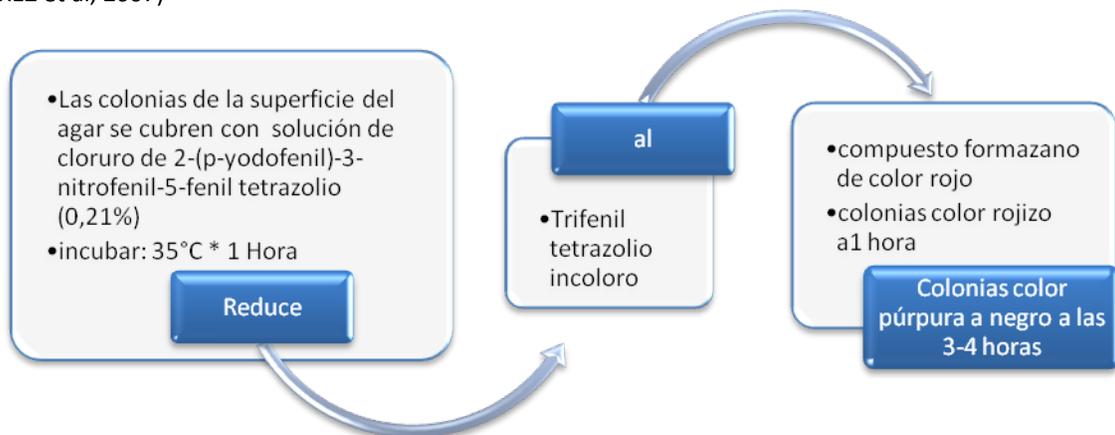
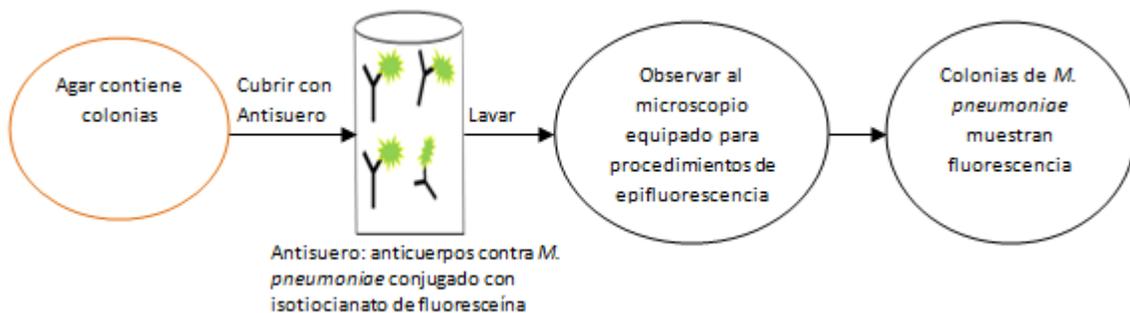


Figura 7. Método serológico específico epifluorescencia. Confirma la presencia e identifica al *M. pneumoniae* en el cultivo. (PÉREZ et al, 2007)





Los estudios serológicos no están disponibles de manera rutinaria y por ello la oportunidad de un diagnóstico con la rapidez requerida, encaminando a establecer un tratamiento profiláctico empírico es muy baja (MESEGUER et al, 2008). En la neumonía causada por *M. pneumoniae* se pueden detectar, crioaglutininas entre 1 y 2 semanas después de la infección, su presencia es inespecífica, ya que en un 50% de la NAC por *MP* aparecen y porque también se producen en otras infecciones bacterianas y virales. Generalmente, la demostración de anticuerpos específicos en suero, no es sugestivo del diagnóstico de la NAC por *MP* ya que la sola presencia o ausencia de estos anticuerpos no basta para su diagnóstico, hace falta la debida interpretación los resultados del laboratorio y la correlación clínica de síntomas y signos (L. MATAS et al, 2008) Dentro de las técnicas serológicas aplicadas más comunes son las que fijan complemento como: la inmunofluorescencia, la aglutinación de partículas y el enzimoimmunoanálisis. Para escoger la técnica serológica más apropiada se debe basar en los criterios funcionales y el grupo de población a la que va a aplicarse de lo contrario no tiene utilidad diagnóstica clínica (ANDREU et al, 2008). El estudio serológico sigue siendo el método diagnóstico más aplicado (por costos y “rapidez” comparado con cultivos) para el diagnóstico de las infecciones por *MP*, por su alcance y costo para las entidades de salud. Mas sin embargo es importante la correlación clínica e interpretación adecuada de las pruebas serológicas que requiere sueros pareados para demostrar aumentos de anticuerpos para la determinación diagnóstica del patógeno (ANDREU et al, 2008) (WENDELIEN et al, 2007).

Técnicas serológicas disponibles

- Fijación de Complemento (FC): la primera determinación de respuesta inmunológica específica frente a *MP* se realiza por fijación del complemento, utilizando como antígeno extracto lipídico de *MP* en una suspensión de lisado bacteriano. La complejidad antigénica del *MP* hace inespecífica la prueba ya que se observan reacciones cruzadas con antígenos glucolipídicos de otros *Mycoplasma*. La técnica de FC primariamente determina IgM y, en menor medida, IgG. La demostración de un incremento de 4 veces el título entre una muestra de fase aguda y una de fase de convalecencia, o bien títulos superiores o iguales a 1/32 ofrece una sensibilidad del 90% y una especificidad del 88%. Las variables a controlar y complejidad en esta técnica contribuyen a buscar otra alternativa diagnóstica serológica (ANDREU et al, 2008)





- Inmuno fluorescencia (IF): fácil de usar permitiendo un resultado cuantitativo. Su principal limitación está ligada a la subjetividad de la interpretación de los resultados obtenidos y la reactividad cruzada con el factor reumatoide (ANDREU et al, 2008)
- Aglutinación pasiva: uso fácil, maneja un soporte de látex o gelatina para una mezcla de antígenos específicos de MP Detectan conjuntamente IgM e IgG, permite la cuantificación antigénica. La aglutinación de partículas de gelatina tiene una considerable especificidad, pero su máxima sensibilidad se obtiene realizando la determinación en 2 muestras seriadas (ANDREU et al, 2008).
- Enzimo inmunoanálisis (EIA): se usa una gran variedad de preparados antigénicos (proteínas purificadas, péptidos sintéticos, mezcla de antígenos crudos, glucolípidos purificados), permitiendo la detección de de IgM o IgG, tiene diferentes presentaciones: técnicas de captura, microplacas y soporte de membrana). Las EIA son sensibles detectando anticuerpos específicos; y es una técnica automatizable. La presentación soporte de membrana permiten determinar IgM generalmente, y vienen unitarias de fácil uso. La presentación en soporte de membrana permiten detectar tanto IgG como IgM, y ha demostrado sensibilidad y una especificidad buena (ANDREU et al, 2008)

El gold standard empleado tiempo atrás para el diagnóstico serológico del *MP* era mediante la detección de anticuerpos con la técnica de Fijación de complemento, con el trascurso del tiempo dejó de ser la técnica gold standard gracias a la aparición de otras técnicas Serológicas diagnósticas más eficientes, con mayor sensibilidad y especificidad, como la inmunofluorescencia indirecta o Enzimo inmunoanálisis (SCHWARTZ et al, 2009). Las técnicas serológicas usadas representan una desventaja frente a las técnicas de análisis molecular, puesto que el análisis serología depende del sistema inmune para la producción de anticuerpos IgM e IgG detectables y una vez los anticuerpos están circulantes, se demoran en desaparecer, impedimento para determinar si realmente el paciente está cursando con una infección aguda o es una infección pasada reciente (GOURIET et al, 2008, KASHYAP et al, 2008).





Pruebas moleculares

El uso de técnicas de PCR convencionales o PCR en tiempo real ha revolucionado la epidemiología y clínica frente al *MP* ya que permite su diagnóstico de manera rápida y con un porcentaje de error mínimo. En muestras con un elevado inoculo de bacterias acompañantes es difícil el aislamiento del *MP* por técnica de medio de cultivo, mas con la ayuda de la técnica de PCR se facilita su aislamiento e identificación. Con el desarrollo de técnicas de PCR múltiple es un más aplicable esta técnica, permitiendo detectar no solo un patógeno si no varios a la vez; el uso de esta técnica de PCR múltiple en los laboratorios clínicos sería de gran utilidad diagnóstica (L. MATAS et al, 2008). La prueba de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), es rápida sensible y específica en un alto porcentaje, lo que la atribuye como prueba “reina” para el diagnóstico del MP, ya que puede detectar entre (10 y 100 bacterias) su rapidez da la posibilidad de obtener resultados en un día; el mayor rendimiento de la PCR se obtiene en muestras de esputo, pero en general se toma muestra de exudado faríngeo por la clínica del NAC (no tos productiva) (MESEGUER et al, 2008; ANDREU et al, 2008; L. MATAS et al, 2008). Existen múltiples variantes de PCR e incluso kits comerciales que ya han estandarizado la técnica a partir de fluidos corporales. De todas las técnicas las de mayor aplicación es la PCR-RFLP y la PCR multiplex. En RFLP después de una amplificación con primers para secuencias específicas de la Subunidad ribosomal 16s/23s se hace posterior digestión del amplificado con la enzima *Sau3* la cual corta el ADN de cada especie de manera diferente dando un bandeo específico para cada una y permitiendo su identificación. La figura 8 ilustra los Resultados.

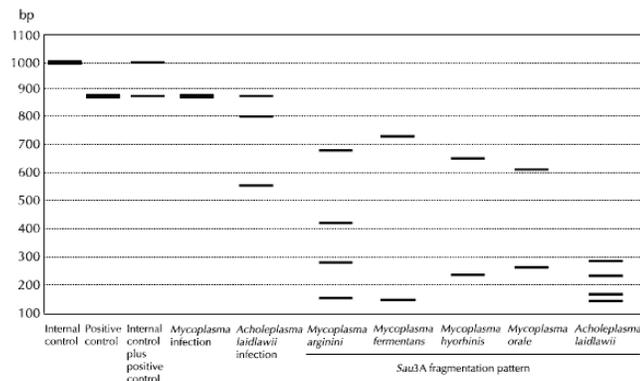


Figura 8. Amplificados de *Mycoplasma* digeridos con *Sau3* muestran cortes y bandeos diferenciales para cada una de las especies de *Mycoplasma*. Scanner tomado de Tomado de Daxdoebec, 2008





La PCR multiplex usa inicialmente primers para el ARN ribosomal 16S y 23S posteriormente se hace una segunda amplificación con primers especie específicos proteínas Mollicutes donde una banda de 150Pb caracteriza el género y una banda de 250pb la especie (Ver figura 9) A pesar de ser considerada prueba “reina” en la actualidad la técnica de PCR, también presenta limitaciones donde puede arrojar resultados erróneos; estas limitaciones pueden ser EJ.: presencia de inhibidores de la PCR en muestras dando como resultado falsos negativos o la contaminación de las muestras puedan dar falsos positivos; de ahí la insistencia en la correlación clínica de los resultados del laboratorio versus la anamnesis del paciente (LEI ZHANG et al, 2010). Entonces los métodos moleculares, son muy sensibles y específicos pero poco utilizados ya que acarrear un alto costo por lo que no se encuentra al alcance de los laboratorios clínicos convencionales (MESEGUER et al, 2008; ANDREU et al, 2008; L. MATAS et al, 2008)

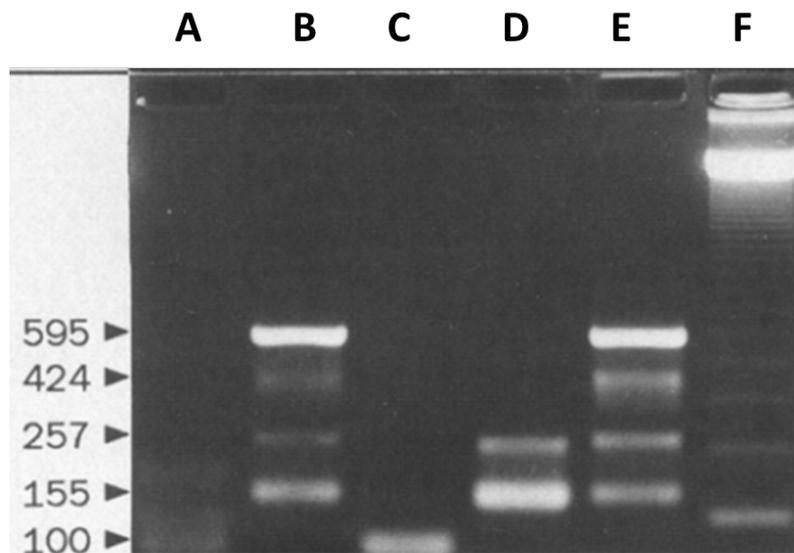


Figura 9. PCR anidada – Gel de electroforesis de agarosa 2% para PCR 16s/23S/especie específico para Mycoplasma que muestra A: Control negativo, B Control comercial positivo, C Muestra negativa D. Muestra positiva para Mycoplasma pneumoniae E. Muestra positiva para Mycoplasma hominis F. Marcador de peso molecular. Tomado de Daxdoebec, 2008





d) **INTERPRETACION DE PRUEBAS POR EL LABORATORIO**

Para cumplir con el objetivo general se realizó un análisis pos analítico en los posibles resultados serológicos y moleculares en pacientes diagnosticados con neumonía atípica por *MP* encontrándose que existe una incertidumbre frente al diagnóstico serológico ya que no es concluyente cuando la neumonía atípica está en curso debido a la presentación clínica de NAC que generalmente manifestada de manera sub clínica y puede variar de formas leves hasta cuadros clínicos graves (MARTÍNEZ et al, 2010). De ahí la destreza del personal tratante para seleccionar la ayuda diagnóstica más apropiada al laboratorio, ya que se deben seleccionar las técnicas por criterios funcionales y al grupo poblacional a tratar. Entonces el hallazgo positivo por los métodos serológicos más usados como: Fijación de Complemento (FC), enzimo inmunoanálisis (EIA), inmunofluorescencia (IF) o Aglutinación Pasiva) no es catalogado diagnóstico del NAC ya que se debe correlacionar la presencia de la clínica del paciente con los resultados, teniendo en cuenta que las pruebas serológicas se deben hacer por duplicado (MESEGUER et al, 2008) una vez empieza la fase aguda del proceso infeccioso y la otra después de un intervalo de cuatro semanas de empezar la sintomatología (en convalecencia). Ahora bien el diagnóstico por medio de pruebas serológicas se basa poniendo en evidencia el incremento serológico de inmunoglobulinas IgM en la primoinfección (primera semana), seguido de inmunoglobulinas IgG en el periodo de convalecencia (tercera a cuarta semana). Los títulos de IgA se interpretan de la misma forma que IgM (ESCOBAR et al, 2008). Para el análisis pos analítico se debe tener en cuenta las limitantes de cada prueba serológica para evitar diagnóstico falso positivos o falsos negativos; por ejemplo: la técnica serológica más utilizada como la Fijación de Complemento (FC) donde se puede determinar tanto IgM como IgG, se debe tener en cuenta el incremento de 4 veces el título entre la primera fase y la segunda o títulos superiores a 1/32. Y para la interpretación de resultados por medio de la técnica de inmunofluorescencia (IF) tiene como limitante la subjetividad del observador y los falsos positivos con las reacciones cruzadas con el factor reumatoide (ANDREU et al, 2008). Entonces se debe considerar de carácter importante determinar la cuantificación del anticuerpo a identificar para tomar la mejor opción de tratamiento para el paciente. Aunque para el análisis post analítico los estudios serológicos realmente no son de gran utilidad diagnóstica por sí solos, puesto que la respuesta serológica en la mayoría de los casos es tardía en las NAC por *MP* produciéndose una semana después de la sintomatología, lo que no resulta útil para determinar el tratamiento precoz del paciente (PACHÓN et al, 2009).





La aplicabilidad de técnicas nuevas como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), bien sea por la técnica convencional o PCR en tiempo real (PCR -RT), se le atribuyen algunos cambios en los conceptos epidemiológicos y clínicos que se tenían sobre el *MP* ya que permite la identificación y diagnóstico precoz del microorganismos en estudio (MENÉNDEZ et al, 2010). Para realizar el análisis post analíticos de los resultados obtenidos mediante la prueba de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), se debe saber de antemano que es la prueba con mayor porcentaje superior al 95% en cuanto sensibilidad y especificidad (MESEGUER et al, 2008) existente en el mercado para determinar la presencia o ausencia del microorganismo *MP*; pero su mayor limitante comprende su accesibilidad ya que no se encuentra al alcance de la mayoría de los laboratorios clínicos (ZHANG et al, 2011). Entonces las técnicas de biología molecular son de uso casi exclusivo de carácter investigativo o se recomiendan en los casos donde no se ha logrado establecer el diagnóstico etiológico por los métodos convencionales de serología ya mencionados y siempre y cuando el centro médico cuente con la infraestructura y experiencia para manejar estos métodos o técnicas diagnósticas (MENÉNDEZ et al, 2010). El diagnóstico de neumonía adquirida en comunidad por *MP* debe estar basado en la clínica y no solo se debe establecer por medio de las pruebas de laboratorio, ya que carecen en su gran mayoría de una baja especificidad y sensibilidad exceptuando la PCR. Debido a este fenómeno, se hace indispensable pensar en el uso de técnicas de análisis molecular como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) (DAXBOECK et al, 2008) que permite la identificación propia del microorganismo *MP* de forma rápida y no la existencia de anticuerpos circulantes; a su vez la PCR cobra protagonismo por poseer un alto porcentaje de sensibilidad y especificidad superior al 95% (HALLAMAA et al, 2008). Entonces mediante las técnicas moleculares como la PCR se estima que un 96% de los pacientes son diagnosticados precozmente y reciben el tratamiento indicado y a tiempo (PAUL et al, 2008).

Actualmente se han realizado estudios que analizan la concordancia entre la PCR y cultivo donde los cultivos celulares toman utilidad diagnóstica demostrándose que no existe una diferencia significativa en la detección entre el método microbiológico y PCR, mas sin embargo la detección de *Mycoplasmas* en cultivos celulares debe reforzarse con otra técnica para validar los resultados (Tapia et al, 2010)





Tabla 3. Aislamiento de *Mycoplasmas* por método microbiológico y PCR. (Tapia et al, 2010)

Cultivo celular	Detección microbiológica		PCR	
	Positivo	Negativo	positivo	Negativo
L929 (3)	3	0	3	0
Wien (2)	1	1	1	1
SiHa (2)	0	2	1	1
W12S (2)	0	2	0	2
Vero (4)	4	0	4	0
BT474 (2)	1	1	0	2
HeLa (1)	0	1	1	0
Jukart (1)	0	1	0	1
A431 (1)	0	1	0	1
Raw (1)	0	1	0	1
Caski (1)	0	1	0	1
Total (20)	9	11	10	10

Tabla 3. El cultivo celular **SiHa y HeLa** son negativos a presencia de *Mycoplasmas* por el método microbiológico, sin embargo por la técnica de PCR dio positivo en ambos cultivos celulares. El cultivo celular **BT474** mostró 1 de 2 muestra positivas a *Mycoplasmas* por el método microbiológico, con la técnica de PCR las dos muestras resultaron negativas, (lo anterior se puede relacionar al inocuo insuficiente inicial) (Tapia et al, 2010)

Para la interpretación del resultado serológico VS el resultado molecular aunque se han realizado muchos análisis comparativos el más completo es el análisis de Lei Zhang del 2010. En este estudio se hizo una comparación entre títulos de Acs y PCR encontrándose que el diagnóstico de *Mycoplasma pneumoniae* suele basarse en pruebas serológicas y que las pruebas de PCR gracias a su tecnología tiene algunas ventajas pero también limitaciones. En la revisión realizada por ZHANG y colaboradores se refleja que las pruebas comerciales de PCR tienen una alta especificidad mas su sensibilidad es menor y variable (LEI ZHANG et al, 2010)



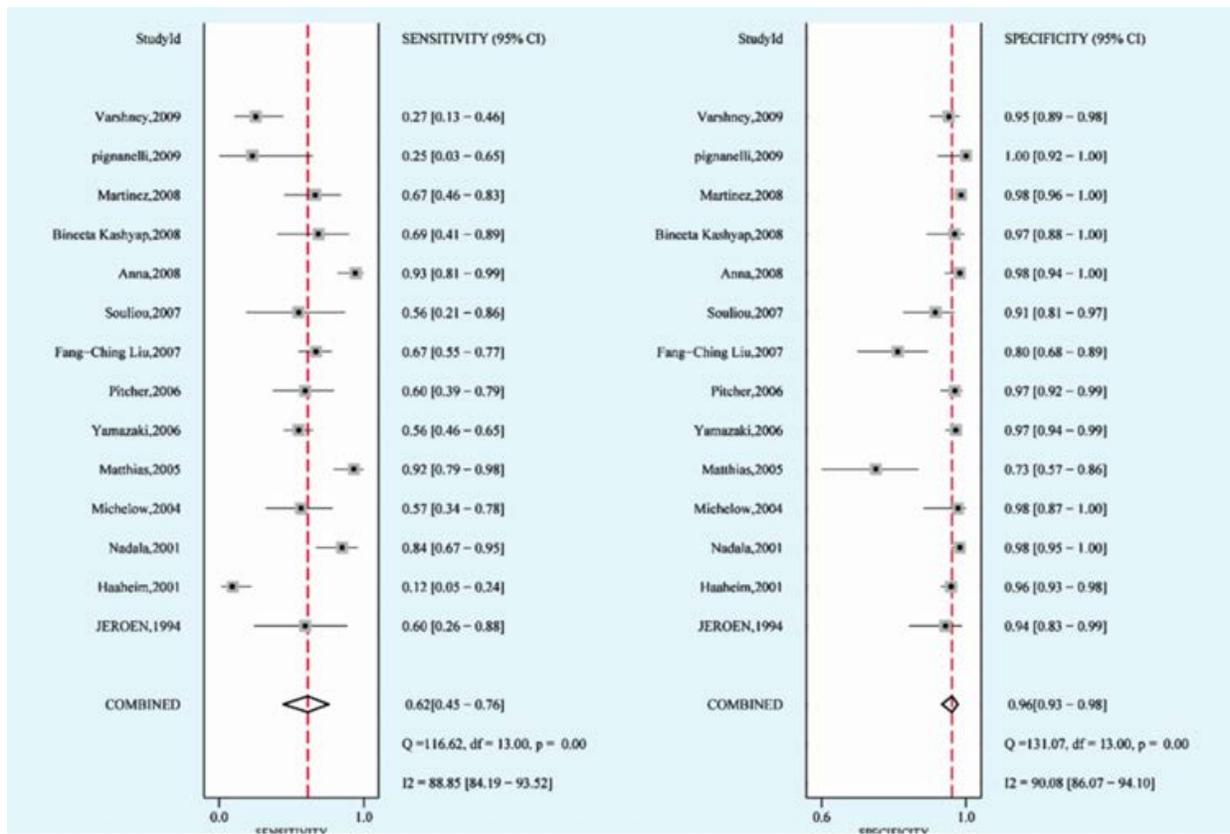
Tabla 4. Características de los estudios incluidos en la revisión de Lei Zhang y colaboradores (LEI ZHANG et al, 2010)

Características de los estudios incluidos en la revisión de Lei Zhang y colaboradores					
Estudio	País	Pacientes y Características clínicas*	PCR características	Muestras para PCR	Estándar de Referencia
Tjhie et al 1994	Países bajos	N + A, con RTI, no tratada	Directa/ PCR convencional, comercial rRNA 16s	Tracto respiratorio, principalmente la garganta	IgM/IgG
Haaheim et al 2001	Noruega	N + A, con RTI, no tratadas	PCR, tipo NR, comercial, ADN no específica	Nasofaríngeas	IgM/IgG/IgA
Nadala et al 2001	Suiza	N, con la NAC no tratada	PCR, tipo NR, comercial 16s rDNA	Nasofaríngeas y faríngeas	IgM/IgG
Michelow et al 2004	Estados unidos	N, con la NAC no tratada	PCR en tiempo real, gen P1 comercial	Nasofaríngeos u orofaríngeas	IgM/IgG
Beersma et al 2005	Países bajos y Bélgica	N + A, con RTI, no tratadas	PCR en tiempo real, gen P1 comercial	Frotis de garganta	IgM/IgG/IgA
Yamazaki et al 2006	Japón	N, con la NAC no tratada	La PCR anidada, gen P1 comercial	Espuito	IgM/IgG/IgA
Pitcher et al 2006	Reino unido	A, con la NAC no tratada	PCR en tiempo real, gen P1 comercial	Vías respiratorias, principalmente la garganta	IgM/IgG
Liu et al 2007	Taiwán	N, con la NAC no tratada	PCR, tipo NR, gen P1 comercial	Vías respiratorias, principalmente la garganta	IgM/IgG
Souliou et al 2007	Grecia	N, con RTI, no tratada	PCR, tipo NR, gen P1 comercial	Frotis de garganta	IgM/IgG/IgA
Nilsson et al 2008	Suecia	N + A, con RTI, más tratados	Anidada en tiempo real PCR comercial ADN no especificado	Orofaringeas	IgM/IgG
Kashyap et al 2008	India	N, con RTI, no tratada	PCR, tipo NR, gen P1 comercial	Nasofaríngeo	IgM/IgG
Martínez et al 2008	Chile	A, con la NAC no tratada	PCR, tipo NR, Comercial 16s rDNA y 16s rRNA	Frotis de garganta	IgM/IgG
Pignanelli et al 2009	Italia	N + A, con RTI, no tratada	PCR en tiempo real, Gen P1 Comercial	BAL	IgM/IgG
Varshney et al 2009	India	N, con asma, no tratada	PCR, tipo NR, gen P1 Comercial	Frotis de garganta	IgM

Tabla 4. Todos los estudios son de casos y controles de diseño y recolección de datos prospectivos; * N: niños, A: adulto; RTI, infecciones del tracto respiratorio, NAC: neumonía adquirida en la comunidad. (LEI ZHANG et al, 2010).



Tabla 5. Resumen de las estimaciones de rendimiento (análisis de subgrupos 1 y 2) donde la precisión diagnóstica global fue de 0,62 (IC del 95%: 0,45 a 0,76) por la sensibilidad (SEN) y 0,96 (0,93 a 0,98) por la especificidad (SPE). Casi todos los estudios mostraron estimaciones especificidad casi perfectos. Por el contrario, las estimaciones de la sensibilidad fue menor y más variable (rango 0,12 -0,93).



Los resultados de la revisión de Lei Zhang y colaboradores estiman que las pruebas de PCR comerciales generan resultados estables con una alta especificidad, mas sin embargo los cálculos demuestran que la sensibilidad es variable y en menor rango. Las variaciones pueden producirse por diferentes motivos Ej.: posiblemente por las diferentes técnicas empleadas de PCR, por el estándar de referencia usado, por el tipo de muestra empleado, por el tiempo en el que se realizo el muestreo o por el tipo de sujetos incluidos en el estudio, etc. el autor y colaboradores sugieren que a pesar de la superioridad que representan las técnicas moleculares es aun irremplazable la serología. Más aun los autores sugieren que las técnicas moleculares y de serología deberían implementarse conjuntamente para obtener un diagnostico fiable y exacto del *Mycoplasma pneumoniae* (LEI ZHANG et al, 2010)



e) **SIGNIFICADO Y CORRELACION CLINICA DE LAS PRUEBAS DE LABORATORIO RESPECTO A LA CLINICA**

Para complementar el objetivo general se realizó una revisión general donde se pretende correlacionar la clínica del paciente con las pruebas de laboratorio serológicas y moleculares empleadas para el diagnóstico de la NAC por *MP*. E identificar las técnicas inmunológicas y moleculares más usadas y diferenciarlas entre las rentables y útiles para el diagnóstico.

El diagnóstico del NAC causado por el *MP* se sustenta en la clínica de la infección aguda generada por el microorganismo, más sin embargo la demostración del agente etiológico en las infecciones respiratorias por *MP* representa una dificultad notoria dado que clínicamente la NAC por el agente biológico en cuestión, no tiene manifestaciones clásicas y concluyentes como una neumonía típica, (GONZALES et al, 2008), las manifestaciones clínicas pueden ser desde una fiebre leve, cefalea, dificultad respiratoria no diferenciable respecto a la ocasionada por otros microorganismos. Lo que hace la utilización de pruebas complementarias útiles dependiendo de la anamnesis del paciente y la gravedad de la neumonía (ÁLVAREZ et al, 2010). Para determinar el agente etiológico mediante pruebas de laboratorio, es de carácter definitivo saber la forma de patogénesis del microorganismo que se sospecha por clínica sea responsable de la NAC, y saber de ante mano, como se establece la respuesta inmune en el huésped una vez es infectado por el microorganismo (YANG et al, 2008). Una vez ingresa el microorganismo *MP* en el huésped este último dispone de un sistema mucociliar y unos factores humorales (inmunoglobulinas, complemento, lactoferrina, lisozima) que destruyen el microorganismo evitando la adhesión de este al epitelio bronquial, más sin embargo el *MP* posee la capacidad de limitar la eficiencia del sistema mucociliar permitiendo así su adherencia y continuar el curso de la NAC. El sistema inmune por su parte dispone el macrófago célula fagocítica básica, para que se encargue de la eliminación de los microorganismos que logran llegar al alvéolo si el inóculo es pequeño. Si por el contrario, el inóculo es mayor o el microorganismo es agresivo, se inicia una respuesta inflamatoria dada por el macrófago reclutando polimorfonucleares circulantes al espacio alveolar, con participación del complemento y diversas citocinas. (VON BAUM et al, 2009; Med Clin, 2010). La aparición de IgM es después de unos 7 a 9 días iniciada la infección su descenso inicia a partir de los 4 a 6 meses, de ahí se considera diagnóstico el aumento de cuatro veces el título de IgM entre muestras de suero en fase aguda y en fase de convalecencia. (Donalísio et al, 2011). Para la aplicabilidad de las técnicas serológicas se debe tener en cuenta la clínica del paciente versus los resultados arrojados por las técnicas escogida propiamente, (ISOZUMI et al,





2009). Para el uso de pruebas serológicas donde se buscan anticuerpos específicos contra el *MP* en una neumonía aguda se pueden emplear técnicas de aglutinación de micropartículas (MAG) donde un título de anticuerpos de IgM debe ser $\geq 1:160$ para considerarse positiva la prueba. Otra técnica empleada para determinación de anticuerpos IgM o IgG es la de fijación de complemento (FC) donde se debe analizar sueros pareados y demostrarse un aumento de cuatro veces en el título para considerarse positivo. (REYES et al, 2011). Entonces Los estudios serológicos, son reservados para diagnosticar patógenos atípicos mas sin embargo no arrojan un diagnostico con la rapidez requerida, encaminando a establecer un tratamiento profiláctico empírico, (MESEGUER et al, 2008). En una reinfección no hay respuesta de IgM pero si una elevación de IgG que se acompaña de producción de IgA. De modo que, en el adulto la detección IgM puede no corresponder a una infección reciente, lo que arroja que una primoinfección las técnicas de detección de IgM tienen una sensibilidad y una especificidad buenas, mientras que, en las reinfecciones, la falta de detección de IgM específica no permite descartar una infección aguda por *MP*. (MESEGUER et al, 2008; ANDREU et al, 2008). Con cierto realismo, parecen de mayor utilidad las técnicas que detectan tanto IgM como IgG, permitiendo el diagnóstico de la primera infección (Kashyap et al, 2010).

7) CONCLUSIONES

- a) El diagnóstico etiológico de las infecciones bacterianas por *MP* del tracto respiratorio inferior presenta limitaciones; ya que dependiendo del cuadro clínico, del tratamiento profiláctico que le antecede (Antibióticoterapia) y del diagnóstico clínico correcto, se puede llegar a encontrar la etiología correcta (MESEGUER et al, 2008)
- b) Actualmente el diagnóstico de neumonía por *Mycoplasma* se sospecha por los antecedentes epidemiológicos, la edad de la paciente, el cultivo negativo de esputo por bacterias y principalmente por la no respuesta a la terapia antibiótica con penicilina y gentamicina, en neumonía bibasal de origen extrahospitalario unida a la detección de anticuerpos específicos.
- c) Si bien existen diferentes métodos diagnósticos es de saber que no todos tienen una sensibilidad y especificidad alta, como los métodos serológicos (GOURIET et al, 2008) Los estudios serológicos, son reservados para diagnosticar patógenos atípicos como *MP*, mas sin embargo no arrojan un diagnóstico con la rapidez requerida, encaminando a establecer un tratamiento profiláctico





empírico (MESEGUER et al, 2008). Por el contrario las pruebas moleculares como la PCR siguen siendo el método diagnóstico más sensible y preciso para la determinación etiológica de la NAC causada por *MP* y se espera proliferen en los sistemas de salud, para así permitir el diagnóstico etiológico precoz de las neumonías. Aunque en la realidad el diagnóstico serológico persistirá únicamente ya que los métodos moleculares representan un alto costo a los sistemas de salud (Anastasakou et al, 2010).

- d) Durante la revisión efectuada para la elaboración de este documento (monografía), se observó que los sistemas de salud no están preparados teóricamente, económicamente ni en infraestructura para la implementación de técnicas moleculares, y que este tipo de técnicas son más utilizadas en el ámbito investigativo que el área clínica como tal. Y que en Colombia no se encuentran documentos que sustenten el uso de este tipo de técnicas a nivel nacional como diagnóstico etiológico.
- e) La realidad que nos involucra en el aspecto clínico, es que el personal tratante debe estar en constante preparación académica para no omitir aspectos clínicos de vital importancia que ayudan al diagnóstico de la NAC ya que no solo basta los resultados del laboratorio, si no una debida correlación de la clínica del paciente con los análisis efectuados, para así poder dar el tratamiento indicado.

8) .REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS:

1. Mandell G, Bennett J, Dolin R. Enfermedades Infecciosas Principios y Practica. 6 ed. Vol. 2 Madrid. España; 2006. P 2269.
2. Reyes, M. Aristizabal G. Leal F. Neumología Pediátrica Infección, alergia y enfermedad Respiratoria en el niño. 5 ed. Colombia. 2006. P 258-259.
3. Moya M. Normas de Actuación en Urgencias. 4 ed. Madrid. 2009. P 79.
4. American Academy of Pediatrics. Red Book: Atlas de enfermedades Infecciosas en Pediatría. Editorial Médica Panamericana S.A. 1 ed. Argentina. 2009 P 204-205.
5. Souliou E, Almasri M, Papa A, Theodoridou A, Diza E. Laboratory Diagnosis of Mycoplasma pneumoniae Respiratory Tract Infections In Children. Eur J Clin Microbiology Infect Dis 2007; 26: 513-5.
6. Paul A, García C, Vega L. infección por Mycoplasma pneumoniae Interna, Escuela de Medicina. Pontificia Universidad Católica de Chile. Departamento de Pediatría y Radiología. 2007; 2(3): 122-176.
7. I. Rozas Gómez y T. Gómez Gascó. Urgencias en atención primaria neumonía. EAP Puerta Bonita II. Madrid 2008.
8. A. Díaz, F.J. Álvarez, A. Romero. Medina Gallardo. protocolos de práctica asistencial. protocolo de tratamiento empírico de las neumonías adquiridas en la comunidad. unidad Médico-Quirúrgica de Enfermedades Respiratorias (UMQUER). Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla. España. Medicine. 2010;10(67):4618-20.





9. F.J. Álvarez, A. Díaz, J.F. Medina. A. Romero. Actualización Neumonías adquiridas en la comunidad. Unidad Médico-Quirúrgica de Enfermedades Respiratorias (UMQUER). Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla. España. *Medicine*. 2010;10(67):4573-81
10. Swapan K. Nath, Sanjay G Revankar. *Microbiología Basada En La Resolución De problemas*. Es una publicación ELSEVIER. Elsevier España. S.A. 2007. P 46 – 47
11. Sanm , Weissfeld. Bailey & Scott Diagnóstico Microbiológico. Editorial Medica Panamericana. 12 Ed. Buenos aires Argentina. 2009. P. 526.
12. María Antonia Meseguera, Juana Begoña Cachob, Antonio Oliverc y Jorge Puig. Diagnóstico microbiológico de las infecciones bacterianas del tracto respiratorio inferior. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2008;26(7):430-6
13. J. Wendelien Dorigo-Zetsma, Roel P. Verkooyen, H. Pieter van Helden, Hans van der Nat, and Jules M. van den Bosch. Molecular Detection of Mycoplasma pneumoniae in Adults with Community-Acquired Pneumonia Requiring Hospitalization. 2000.
14. Daxboeck F, Krause R y Wenisch C *Clinical Microbiology and Infection* 9:263-273, Abr 2008.
15. Antoni Torres y Rosario Menéndez. Decisión de ingreso hospitalario en la neumonía adquirida en la comunidad. *Med Clin (Barc)*. 2008;131(6):216-7.
16. Pachón J, Alcántara Bello J, Cordero Matía E, Camacho Espejo A, Lama Herrera C, Rivero Roma A. Estudio y tratamiento de las neumonías de adquisición comunitaria en adultos. por la Sociedad Andaluza de Enfermedades Infecciosas (SAEI) y la Sociedad Andaluza de Medicina Familiar y Comunitaria (SAMFYC). . J. Pachón et al / *MedClin (Barc)* .2009;133(2):63–73.
17. Capelastegui A y España E. ¿Dónde tratar a los pacientes diagnosticados de neumonía adquirida en la comunidad?. *Med Clin(Barc)*.2010;135(2):63–64.
18. Vila A, Ochoa O, y Rodríguez T. Utilidad de la escala CRB-65 en la evaluación pronóstica de los pacientes mayores de 65 años con neumonía adquirida en la comunidad *Med Clin(Barc)*.2010;135(3):97–102.
19. Menéndez R, Torres A, Aspa J, Capelastegui A, Prat C y Rodríguez F. Neumonía adquirida en la comunidad. Nueva normativa de la Sociedad Española de Neumología y Cirugía Torácica (SEPAR) *Arch Bronconeumol*.2010;46(10):543–558.
20. Huerta Arturo, Domingo Rebeca y Soler Néstor. EPOC y neumonía. *Arch Bronconeumol*. 2010;46(Supl 3):28-31.
21. Blanquer José y Sanz Francisco. Neumonía adquirida en la comunidad. *Arch Bronconeumol*. 2010;46(Supl 7):26-30.
22. Rodríguez F y Solé-Violán J. Corticoides en la neumonía adquirida en la comunidad. *Argumentos en contra*. *Arch Bronconeumol*. 2011;47(5):219–221.
23. Sibila Oriol. Corticoides en la neumonía: argumentos a favor *Arch Bronconeumol*. 2011;47(5):222–223.
24. Simmons Susan. Reconocer y prevenir la Neumonía por mycoplasma. *Nursing*. 2010, Agosto-Septiembre.
25. Dobbin Kathleen. Esté atento a la detección de la Neumonía adquirida en los centros ambulatorios y Sociosanitarios. *Nursing*. 2011, Noviembre.
26. Chacón A, Ruigómez A y García L. Incidencia de neumonía adquirida en la comunidad en la cohorte poblacional de la base de datos en atención primaria (BIFAP). *Aten Primaria*.2010;42(11):543–551.
27. Meseguera M, Begoña Cachob J, Oliverc A y Puig de la Bellacasad J. Diagnóstico microbiológico de las infecciones bacterianas del tracto respiratorio inferior. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2008;26(7):430-6.
28. García C, Carratalá J, Díaz V, Dorca J, Verdaguer R c, Manresa F y Gudiol F. Factores relacionados con una estancia media hospitalaria prolongada en la neumonía adquirida en la comunidad *Enferm InfeccMicrobiolClin*.2009;27(3):160–164.
29. Fernández de Sevilla M, Alayeto J, Fernández Y, Muñoz -Almagro C, Luaces C y García - García J. Baja prevalencia de la infección por Mycoplasma pneumoniae en niños con faringoamigdalitis aguda *Enferm InfeccMicrobiolClin*.2009;27(7):403–405.
30. F. del Castillo Martín, B. Lodoso Torrecilla, F. Baquero Artigao, M.J. García Miguel, M.I. de José Gómez, J. Aracil Santos y A. Méndez Echevarría. Incremento de la incidencia de neumonía bacteriana entre 2001 y 2004. Unidad de Enfermedades Infecciosas. Hospital Universitario Infantil La Paz. Madrid. España. *An Pediatr (Barc)*. 2008;68(2):99-102.
31. F. Boada Sencialesa, E. Moreno Arrebolaa, J.C. Buñuel Álvarezb y C. Vila Pablos Impacto de las guías de práctica clínica sobre el coste del control de la neumonía extrahospitalaria. *An Pediatr (Barc)*. 2008;69(2):154-8.





32. Martín A, Moreno-Pérez D, Alfayate Miguélez, Couceiro Gianzo J, García García M, J. Korta Muruac, et al. Etiología y diagnóstico de la neumonía adquirida en la comunidad y sus formas complicadas. *An Pediatr (Barc)*. 2012;76(3):162.e1--162.e18.
33. Carles Llor. Neumonía en la comunidad. *FMC*. 2008;15(7):451-3.
34. Sicilia-Urbán J.J., Sanz-Rojas P. y Serrano-Heranz R. Protocolo diagnóstico de la neumonía adquirida en la comunidad y neumonía nosocomial. Servicio de Medicina Interna. Hospital del Henares. Coslada. Madrid. España. *Medicine*. 2010;10(50):3389-93.
35. Serrano-Heranz R., Sanz-Rojas P.y. Sicilia-Urbán J.J. Tratamiento antibiótico empírico de la neumonía adquirida en la comunidad. Servicio de Medicina Interna. Hospital del Henares. Coslada. Madrid. España. *Medicine*. 2010;10(50):3394-6.
36. Geijo Martínez M.P., Bermejo Saiz E y A.J. García Imbroda. Infecciones por Mycoplasma y Chlamydia. *Medicine*. 2010;10(56):3837-46.
37. Machín J., Torralba M. y Rodríguez M. Manejo general y extrahospitalario del paciente con infección de las vías respiratorias. Unidad de Pluripatología. Servicio de Medicina Interna. Hospital Universitario de Guadalajara. Guadalajara. España. *SESCAM. Departamento de Medicina. Universidad de Alcalá Medicine*. 2010;10(56):3847-52.
38. Álvarez Gutiérrez F., Díaz Baquero A, Medina Gallardo J y Romero Falcón A. Neumonías adquiridas en la comunidad. *Medicine*. 2010;10(67):4573-81.
39. Díaz Baquero A, Álvarez Gutiérrez F, Romero Falcón A y Medina Gallardo J. Protocolo de tratamiento empírico de las neumonías adquiridas en la comunidad. Unidad Médico-Quirúrgica de Enfermedades Respiratorias (UMQUER). Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla. España. *Medicine*. 2010;10(67):4618-20.
40. García M, Macías B, Martín L y Martínez E. Infecciones Respiratorias. Servicio de Urgencias. Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid. España. Facultad de Medicina. Departamento de Medicina. Universidad Complutense de Madrid. Madrid. España. *Medicine*. 2011;10(88):5947-54.
41. García M, Gallego M, Sánchez D y Fernández M. Protocolo de tratamiento empírico de las neumonías intrahospitalarias y extrahospitalarias Servicio de Urgencias. Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid. España. Facultad de Medicina. Departamento de Medicina. Universidad Complutense de Madrid. Madrid. España. *Medicine*. 2011;10(88):5976-9.
42. Rodríguez M, Caro N, Pérez P y Girón J. Mujer de 54 años con fiebre y elevación de transaminasas. Unidad de Gestión Clínica de Medicina Interna. Hospital Universitario Puerta del Mar. Cádiz. España. *Medicine*. 2012;11(9):572e1-e4.
43. Sabatier C, Peredo R, Villagrà A, Bacelar N, Mariscal D, Ferrer R, Gallego M y Vallés J. Neumonía comunitaria grave. Estudio descriptivo de 7 años y utilidad de los criterios de la Infectious Diseases Society of America y la American Thoracic Society 2007 en la identificación de los pacientes que requieren ingreso en una unidad de cuidados intensivos. *Med Intensiva*. 2010;34(4):237-245.
44. Blanquer J, Solé J, Carvajal J y Lucena F. Infecciones comunitarias que requieren ingreso en UCI. *Med Intensiva*. 2010;34(6):388-396.
45. Romero Y, Bascuñana J, Vicuña I, Maínez C, Criado C y Moya Mir M. Tiempo hasta la administración de la primera dosis de antibiótico en las neumonías adquiridas en la comunidad en un Servicio de Urgencias Hospitalario. *Rev Clin Esp*. 2009; 209(9):409-414.
46. Hinojosa J, Hinojosa C, González E, Almaráz A, Martín S y Zapatero A. Adecuación de los ingresos y de la asistencia facilitada a los pacientes con neumonía adquirida en la comunidad. *Rev Clin Esp*. 2011;211(4):179-186.
47. Fernández J, Miguel J, A. del Castillo-Rueda, Bellón-Cano J, Jiménez-García R y Álvarez-Sala-Walther L. . Influencia de la administración de corticoides sistémicos en el pronóstico de los pacientes con neumonía adquirida en la comunidad. *Rev Clin Esp*. 2012;212(7):337-343.
48. Torres O y Ruiz D. ¿Es adecuado ingresar a los ancianos con neumonía en las Unidades de Corta Estancia? Unidad de Geriátrica, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, España *Rev Esp Geriatr Gerontol*. 2011;46(4):181-182.
49. Pastor A, Ferré C, Llopis F, Jacob J, Bardés I y Salazar A. La unidad de corta estancia como alternativa a la hospitalización convencional en el tratamiento de la neumonía adquirida en la comunidad en la población mayor de 75 años. *Rev Esp Geriatr Gerontol*. 2011;46(4):213-216.
50. Bereciartua E, Medina C, Capelastegui A, España P, Ajuria I y Vrotsou K. Proteína C reactiva, procalcitonina y proadrenomedulina en la evolución de neumonías hospitalizadas. *Rev Lab Clin*. 2011;4(1):23-29.





51. Rocamora P, y Alonso S. Neumonía grave tratada con homeopatía en un servicio de urgencias hospitalario. Relación coste-beneficio. *Rev Med Homeopat*. 2010;3(2):111-115.
52. Hermida J y Hernández J. Neumonía adquirida en la comunidad en pacientes adultos con síndrome de Down. Presentación de tres casos clínicos y revisión de la literatura. *Rev Med Int Sindr Down*. 2010;14(2):25-30.
53. Sociedad chilena de neumología pediátrica. IX congreso de la sociedad Latinoamericana de Neumología Pediátrica. *neumología pediátrica*. Volumen 7. Numero 1. Marzo 2012. Pag. 1-38.
54. BMJ Group. *Pneumonia*. © BMJ Publishing Group Limited 2012. All rights reserved.
55. López M y Guerra F. Avances en la interacción entre micoplasmas y espermatozoides de humano. Volumen 33 No. 3 Julio-Septiembre 2008. p. 115-121.
56. Estrella Cervantes. *Micoplasmas patógenos para el humano*. Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina, UNAM. *Rev Fac Med UNAM* Vol. 52 No. 6 Noviembre-Diciembre, 2009.
57. Díaz Parodi G y Musacchio H. Evaluación de predictores clínicos de bacteriemia en adultos hospitalizados por neumonía adquirida en la comunidad. Díaz Parodi y Musacchio • *Predictores clínicos de bacteriemia en adultos hospitalizados por neumonía* *Rev Panam Salud Publica* 29(6), 2011.
58. Lozano J, Yáñez L, Lapadula M, Lafourcade M, Burgos F, Budnik I Y Herrada L. Infecciones respiratorias agudas bajas en niños: Estudio etiológico prospectivo. *Rev Chil Enf Respir* 2008; 24: 107-112.
59. Pérez C, García P, Calvo M, Labarca J, Bustos M, Beroiza T et al. Etiología de la neumonía en pacientes chilenos infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana. *Rev Chil Infect* 2011; 28 (4): 343-348.
60. Von Baum H, Welte T, Marre R, Suttrop N, Lück C, y Ewig S. *Mycoplasma pneumoniae* Neumonía revisarse dentro de la Red de Competencia Alemana de neumonía extrahospitalaria (CAPNETZ). *BMC Infect Dis*. 2009; 9: 62.
61. Bjerre LM, Verheij TJM, Kochen MM. *Antibióticos para la neumonía adquirida en la comunidad en pacientes adultos ambulatorios*. Copyright © John Wiley & Sons Ltd. Usado con permiso de John Wiley & Sons, Ltd. Reproducción de una revisión Cochrane, traducida y publicada en La Biblioteca Cochrane Plus, 2008, Número 2.
62. Robenshtok E, Shefet D, Gafter-Gvili A, Paul M, Vidal L, Leibovici L. Cobertura antibiótica empírica contra patógenos atípicos para la neumonía adquirida en la comunidad en adultos hospitalizados Copyright © John Wiley & Sons Ltd. Usado con permiso de John Wiley & Sons, Ltd. Reproducción de una revisión Cochrane, traducida y publicada en La Biblioteca Cochrane Plus, 2008, Número 2.
63. Kabra SK, Lodha R, Pandey RM. *Antibióticos para la neumonía adquirida en la comunidad en niños*. Copyright © John Wiley & Sons Ltd. Usado con permiso de John Wiley & Sons, Ltd. Reproducción de una revisión Cochrane, traducida y publicada en La Biblioteca Cochrane Plus, 2008, Número 2.
64. Hemilä H, Louhiala P. *Vitamina C para la prevención y el tratamiento de la neumonía*. Copyright © John Wiley & Sons Ltd. Usado con permiso de John Wiley & Sons, Ltd. Reproducción de una revisión Cochrane, traducida y publicada en La Biblioteca Cochrane Plus, 2008, Número 2.
65. Martí-Carvajal AJ, Conterno L. *Antibióticos para el tratamiento de la neumonía adquirida en la comunidad en personas con drepanocitosis*. Copyright © John Wiley & Sons Ltd. Usado con permiso de John Wiley & Sons, Ltd. Reproducción de una revisión Cochrane, traducida y publicada en La Biblioteca Cochrane Plus, 2008, Número 2.
66. Miyashita N, Sugiu T, Kawai Y Oda K, Yamaguchi T, Ouchi K, Kobashi Y, y Oka M. Las características radiográficas de *Mycoplasma pneumoniae* Neumonía: diagnóstico diferencial y el rendimiento de sincronización. *BMC Medical Imaging*. 2009; 9: 7.
67. González A, Baudagna G, Cremaschi M, Serrano R, Cabral G, Monteverde A. Características de la neumonía adquirida en la comunidad por neumococo y micoplasma. *Rev Am Med Resp* 2010; 4: 154-159 ISSN 1852 - 236X.
68. Donalísio M, Mamud Ark C, Madureira P. Perfil pacientes clínicos, epidemiológicos y etiológicos con neumonía extrahospitalaria ingresados en un hospital general de la región de Sumaré, SP. *J. bras. Pneumol*. vol.37 no.2 São Paulo marzo / abril En el año 2011.
69. Julián A, González J y Candel F. ¿Cuándo, dónde y cómo ingresar al paciente con neumonía adquirida en la comunidad?. *Rev Clin Esp*. 2012;xxx(xx):xxx---xxx.
70. Reyes I, Venzant M, García M y Miró J. Tratamiento de pacientes inmunocompetentes con neumonía adquirida en la Comunidad. *MEDISAN* 2012; 16(4):581.
71. Reyes I, Venzant M, García M y Miró J. Actualización del diagnóstico de la neumonía adquirida en la comunidad. *MEDISAN* 2011; 15(7):964.
72. Pinoa R, Jordanb I y García J. Biomarcadores en la neumonía. *An Pediatr Contin*. 2011;9(4):259-62.





73. Lezcano A, Balbarysk J, Torres F, Cutri A, Coarasa A, Ossorio M y Ferrero F. Seroprevalencia de anticuerpos anti-*Mycoplasma pneumoniae*: evaluación en niños menores de 12 años. *Arch Argent Pediatr* 2008; 106(1):6-10 / 6.
74. García E, Soto S, Gómez J and Herrero J. Simple criteria to assess mortality in patients with community-acquired pneumonia. *Med Clin (Barc)*. 2008;131(6):201-4.
75. Shoji H, Takuma T, Yoshida K, Miyashita N and Niki Y. Usefulness of Serum C-reactive Protein in the Management of Adult Community-acquired Pneumonia. *Showa Univ J Med Sci* 24(1),1-9, March 2012.
76. Capelastegui A, España P, Bilbao A, Gamazo J, Mendel F, Salgado J, et al. Etiology of community-acquired pneumonia in a population-based study: Link between etiology and patients characteristics, process-of-care, clinical evolution and outcomes. *BMC Infectious Diseases* 2012, 12:134.
77. Ramirez J, Cooper A, Wiemken T, Gardiner D, Babinchak T, Switch therapy in hospitalized patients with community-acquired pneumonia: Tigecycline vs. Levofloxacin. *BMC Infectious Diseases* 2012, 12:159.
78. Suter I, Christ M, Zimmerli W, Albrich W, Mueller B, Schuetz P. Predictors for length of hospital stay in patients with community-acquired Pneumonia: Results from a Swiss Multicenter study. *BMC Pulmonary Medicine* 2012, 12:21.
79. Fabien Dorange, Frédéric Le Goff, Nicolas Dumey. Evaluation of three commercial kits for mycoplasma NAT assays: selection and quality improvement. Dorange et al. *BMC Proceedings* 2011, 5(Suppl 8):P127.
80. Meghan May and Daniel Brown. Retrospective survey for sialidase activity in *Mycoplasma pneumoniae* isolates from cases of community-acquired pneumonia. May and Brown *BMC Research Notes* 2011, 4:195.
81. Josefin Ekloef, Thomas A Schmidt. Community-acquired pneumonia: a comparison of clinical treatment failure in patients treated with either penicillin or cefuroxime. Ekloef and Schmidt *Scandinavian Journal of Trauma, Resuscitation and Emergency Medicine* 2012, 19(Suppl 2):P10.
82. Josefin Ekloef, Thomas A Schmidt. Community-acquired pneumonia: a comparison of clinical treatment failure in patients treated with either penicillin or cefuroxime. Ekloef and Schmidt *Scandinavian Journal of Trauma, Resuscitation and Emergency Medicine* 2012, 20(Suppl 2):P10.
83. Hohenthal U, Vainionpa R, Meurman O, Vahtera A, Katiskalahti T, Nikoskelainen J & Kotilainen P. Aetiological diagnosis of community acquired pneumonia: Utility of rapid microbiological methods with respect to disease severity. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, 2008; 40: 131_138.
84. Yang E, Altes T & Anupindi S. Early *Mycoplasma pneumoniae* infection presenting as multiple pulmonary masses: an unusual presentation in a child. *Pediatr Radiol* (2008) 38:477–480 DOI 10.1007/s00247-007-0718-4.
85. Otomo S, Yamamura J, Hayashi E, Nakamura T, Kakinuma H, Nakamoto Y, Takahashi H And Karasawa T. Analysis of children with *Chlamydia* (Chlamydia) pneumoniae and *Mycoplasma pneumoniae* respiratory infections by real-time PCR assay and serological tests. *APMIS* 116: 477–83, 2008 C 2008.
86. Kashyap B, Kumar S, Sethi G, Das B & Saigal S. Comparison of PCR, culture & serological tests for the diagnosis of *Mycoplasma pneumoniae* in community-acquired lower respiratory tract infections in children. *Indian J Med Res* 128, August 2008, pp 134-139.
87. Gouriet F, Levy P, Samson L, Drancourt M, and Raoult D. Comparison of the new InoDiag automated fluorescence multiplexed antigen microarray to the reference technique in the serodiagnosis of atypical bacterial pneumonia. *Journal Compilation _ 2008 European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 10.1111/j.1469-0691.2008.02119.x.
88. Cosentini R, Tarsia P, Canetta C, Graziadei G, Brambilla A, Aliberti S, et al. Severe asthma exacerbation: role of acute *Chlamydia pneumoniae* and *Mycoplasma pneumoniae* infection. *Respiratory Research* 2008, 9:48.
89. Falguera M, Carratalà J, Ruiz A, Garcia C, Gazquez I, Dorca J, et al. Risk factors and outcome of community-acquired pneumonia due to Gram-negative bacilli. *Respirology* (2009) 14, 105–111 doi: 10.1111/j.1440-1843.2008.01371.x.
90. Jason M. Cloward and Duncan C. Krause. *Mycoplasma pneumoniae* J-domain protein required for terminal organelle function. *Molecular Microbiology* (2009) 71(5), 1296–1307.
91. Kate McKeage and Gillian M. Keating. Tigecycline In Community-Acquired Pneumonia. *Drugs* 2008; 68 (18): 2633-2644 0012-6667/08/0018-2633/\$53.45/0.
92. Hallamaa K, Tang S, Ficorilli N and Browning G. Differential expression of lipoprotein genes in *Mycoplasma pneumoniae* after contact with human lung epithelial cells, and under oxidative and acidic stress. *BMC Microbiology* 2008, 8:124.





93. Carrillo J, Gutiérrez J, García F, Muñoz A, Villegas E, Rojas J, Sorlózano A and Rojas A. Development and evaluation of a multiplex test for the detection of atypical bacterial DNA in community-acquired pneumonia during childhood. *Clinical Microbiology and Infection*, Volume 15 Number 5, May 2009.
94. Baum H, Welte T, Marre R, Suttorp N, Lück C and Ewig S. Mycoplasma pneumoniae pneumonia revisited within the German Competence Network for Community-acquired pneumonia (CAPNETZ). *BMC Infectious Diseases* 2009, 9:62.
95. Schwartz S, Thurman K, Mitchell S, Wolff B and Winchell J. Genotyping of Mycoplasma pneumoniae isolates using real-time PCR and high-resolution melt analysis. *Clinical Microbiology and Infection*, Volume 15 Number 8, August 2009.
96. Maysaa El Sayed Zaki and Tarek Goda. Clinico-pathological study of atypical pathogens in community-acquired pneumonia: a prospective study. *J Infect Developing Countries* 2009; 3(3):199-205.
97. Isozumi R, Yoshimine H, Morozumi M, Ubukata K And Ariyoshi K. Adult community-acquired pneumonia caused by macrolide resistant Mycoplasma pneumoniae resp_ *Respirology* (2009) 14, 1206–1216 doi: 10.1111/j.1440-1843.2009.01619.x.
98. García C, Carratalá J, Fernández N, Dorca J, Verdaguer R, Manresa F and Gudiol F. Aetiology of, and risk factors for, recurrent community-acquired pneumonia. *Clinical Microbiology and Infection*, Volume 15 Number 11, November 2009.
99. Hohenthal U, Hurme S, Helenius H, Heiro M, Meurman O, Nikos J and Kotilainen P. Utility of C-reactive protein in assessing the disease severity and complications of community-acquired pneumonia. *Clinical Microbiology and Infection*, Volume 15 Number 11, November 2009.
100. Jane E. Sykes. Feline hemotropic mycoplasmas. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care* 20(1) 2010, pp 62–69 doi:10.1111/j.1476-4431.2009.00491.x.
101. InnovAiT. Community-acquired Pneumonia. *InnovAiT*, Vol. 3, No. 1, pp. 13 – 19, 2010 doi:10.1093/innovait/inp184.
102. Kamizono S & Ohya H, Higuchi S, Okazaki N & Narita M. Three familial cases of drug-resistant Mycoplasma pneumoniae infection. *Eur J Pediatr* (2010) 169:721–726 DOI 10.1007/s00431-009-1100-3.
103. Dumke R, von Baum H, Luck P, and Jacobs E. Occurrence of macrolide-resistant Mycoplasma pneumoniae strains in Germany. *Clinical Microbiology and Infection*, Volume 16 Number 6, June 2010.
104. Zer Y, Bayram N, Balcl I, Filiz A. Investigation of the causative agents for community-acquired pneumonia in adult patients. *Turk J Med Sei* 2010; 40(1): 47-52 doi:10.3906/sag-0812-12.
105. Strålin K, Olcén P, Törnqvist E & Holmberg H. Definite, probable, and possible bacterial aetiologies of community-acquired pneumonia at different CRP-65 scores. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, 2010; 42: 426–434.
106. Jason M. Cloward and Duncan C. Krause. Functional domain analysis of the Mycoplasma pneumoniae co-chaperone TopJ. *Molecular Microbiology* (2010) 77(1), 158–169.
107. Surender Kashyap, Malay Sarkar. Mycoplasma pneumoniae: Clinical features and Management. *Lung India* • Vol 27 • Issue 2 • Apr - Jun 2010.
108. K. Loens, H. Goossens and M. Ieven. Acute respiratory infection due to Mycoplasma pneumoniae: current status of diagnostic methods. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* (2010) 29:1055–1069 DOI 10.1007/s10096-010-0975-2.
109. Nuyttens H, Cyncynatus C, Renaudin H, Pereyre S, Bébéar C. Identification, expression and serological evaluation of the recombinant ATP synthase beta subunit of Mycoplasma pneumoniae. Nuyttens et al. *BMC Microbiology* 2010, 10:216.
110. Don M, Canciani M, Korppi M. Community-acquired pneumonia in children: what's old? What's new? a2010 The Author(s)/Journal Compilation a2010 Foundation Acta Pædiatrica/Acta Pædiatrica 2010 99, pp. 1602–1608.
111. Cao B, Ren L, Zhao F, Gonzalez R, Song S, Bai L et al, Viral and Mycoplasma pneumoniae community-acquired pneumonia and novel clinical outcome evaluation in ambulatory adult patients in China. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* (2010) 29:1443–1448 DOI 10.1007/s10096-010-1003-2.
112. Montagnani F, Paolis F, Beghetto E and Gargano N. Use of recombinant chimeric antigens for the serodiagnosis of Mycoplasma pneumoniae infection. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* (2010) 29:1377–1386 DOI 10.1007/s10096-010-1010-3.





113. Sudha R. Somarajan, Thirumalai R. Kannan and Joel B. Baseman. *Mycoplasma pneumoniae* Mpn133 is a cytotoxic nuclease with a glutamic acid-, lysine- and serine-rich region essential for binding and internalization but not enzymatic activity. *Cellular Microbiology* (2010) 12(12), 1821–1831 doi:10.1111/j.1462-5822.2010.01513.x.
114. Mermond S, Berlioz A, Estivals M, Baumann R, Levenes H and Martin P. Aetiology of community-acquired pneumonia in hospitalized adult patients in New Caledonia. *Tropical Medicine and International Health* doi:10.1111/j.1365-3156.2010.02653.x volume 15 no 12 pp 1517–1524 december 2010.
115. Slănină A, Albuț I, Felea D, Mățăsaru S. Aspecte clinico-etiologice ale pneumoniilor comunitare atipice *Clinical Etiological Aspects of Community-acquired Atypical Pneumonia*. PRACTICA MEDICALĂ – VOL. V, NR. 3(19), AN 2010.
116. Papaetis GS, Anastasakou E, Tselou T, Sotiriou A, Rarra VC, Roussou P, et al. Serological evidence of *Mycoplasma pneumoniae* infection in patients with acute exacerbation of COPD: analysis of 100 hospitalizations. *Advances in Medical Sciences* • Vol. 55(2) • 2010 • pp 235-241 • DOI: 10.2478/v10039-010-0031-6.
117. Tabassum I, Chaudhry R, Kumar Chourasia B, Malhotra P. Identification of an N-terminal 27 kDa fragment of *Mycoplasma pneumoniae* P116 protein as specific immunogen in *M. pneumoniae* infections. Tabassum et al. *BMC Infectious Diseases* 2010, 10:350.
118. N. Miyashita, Y. Kawai, T. Yamaguchi, K. Ouchi, M. Oka, Atypical Pathogen Study Group. Clinical potential of diagnostic methods for the rapid diagnosis of *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia in adults. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* (2011) 30:439–446 DOI 10.1007/s10096-010-1107-8.
119. Reynolds J, McDonald G, Alton H, Frerking and Gordon S. *Pneumonia* In the immunocompetent patient. *The British Journal of Radiology*, 83 (2010), 998-1009.
120. Hennigan S, Driskell J, Dluhy R, Zhao Y, Tripp R, Waites K, et al. Detection of *Mycoplasma pneumoniae* in Simulated and True Clinical Throat Swab Specimens by Nanorod Array- Surface-Enhanced Raman Spectroscopy. October 2010 | Volume 5 | Issue 10 | e13633.
121. Lai J, Zindl C, Duffy L, Atkinson T, Jung J, Rooijen N. Critical Role of Macrophages and Their Activation via MyD88-NFκB Signaling in Lung Innate Immunity to *Mycoplasma pneumoniae*. December 2010 | Volume 5 | Issue 12 | e14417.
122. Harold Neimark, Matthew Gesner. Is *Mycoplasma pneumoniae* Adherence to Erythrocytes a Factor in Extrapulmonary Dissemination? December 2010 | Volume 6 | Issue 12 | e1001219.
123. Takashi Shimizu, Yutaka Kida and Koichi Kuwano. Cytoadherence-dependent induction of inflammatory responses by *Mycoplasma pneumoniae*. _ 2011 The Authors. *Immunology* _ 2011 Blackwell Publishing Ltd, *Immunology*, 133, 51–61.
124. Chalker V, Stocki T, Mentasti M, Fleming D, Sadler C, Ellis J, et al. *Mycoplasma pneumoniae* infection in primary care investigated by real-time PCR in England and Wales. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* (2011) 30:915–921 DOI 10.1007/s10096-011-1176-3.
125. Almasri M, Diza E, Papa A, Eboriadou M, Souliou E. *Mycoplasma pneumoniae* respiratory tract infections among Greek children. *HIPPOKRATIA* 2011, 15, 2: 147-152.
126. Hirao S, Wada H, Nakagaki K, Saraya T, Kurai D, Mikura S, et al. Inflammation provoked by *Mycoplasma pneumoniae* extract: implications for combination treatment with clarithromycin and dexamethasone. *FEMS Immunol Med Microbiol* 62 (2011) 182–189.
127. Dan Xu, Shuxian Li, Zhimin Chen, Lizhong Du. Detection of *Mycoplasma pneumoniae* in different respiratory specimens. *Eur J Pediatr* (2011) 170:851–858 DOI 10.1007/s00431-010-1360-y.
128. Averbuch D, Hidalgo C, Moses A, Engelhard D, and Nir R. Macrolide Resistance in *Mycoplasma pneumoniae*, Israel, 2010. *Emerging Infectious Diseases* • www.cdc.gov/eid • Vol. 17, No. 6, June 2011.
129. Feng Xu, Chao-Liu Dai, Xing-Mao Wu and Peng Chu. Overwhelming postsplenectomy infection due to *Mycoplasma pneumoniae* in an asplenic cirrhotic patient: Case report. Xu et al. *BMC Infectious Diseases* 2011, 11:162.
130. Jason M. Cloward and Duncan C. Krause. Loss of co-chaperone TopJ impacts adhesin P1 presentation and terminal organelle maturation in *Mycoplasma pneumoniae*. *Molecular Microbiology* (2011) 81(2), 528–539 _ doi:10.1111/j.1365-2958.2011.07712.x .
131. Meghan May and Daniel R Brown. Retrospective survey for sialidase activity in *Mycoplasma pneumoniae* isolates from cases of community-acquired pneumonia. May and Brown *BMC Research Notes* 2011, 4:195.
132. Thiem U, Heppner H and Pientka L. Elderly Patients with Community-Acquired Pneumonia optimal Treatment Strategies. *Diagn Aging* 2011; 26 (7); 519-537 1170-229X/11/0007-0519/M9.95/0.





133. Pejčić T, Đorđević I, Stanković I, Nastasijević Borovac D, Rađenović Petković T. Prognostic Mortality Factors of Community - Acquired Pneumonia in the Elderly. *Scientific Journal of the Faculty of Medicine in Niš* 2011;28(2):71-76.
134. Lei Zhang, Zhi-Yong Zong, Yan-Bin Liu, Hui Ye and Xiao-Ju Lv. PCR versus serology for diagnosing Mycoplasma pneumoniae infection: A systematic review & meta-analysis. *Indian J Med Res* 134, September 2011, pp 270-280.
135. Christopher J. Haines, DO,. Community-acquired Pneumonia in Pediatric Populations. *Pediatric Emergency Medicine Reports / April 2012. Volume 17, Number 4 / April 2012.*
136. Coreen Johnson, T. R. Kannan, Joel B. Baseman. Cellular Vacuoles Induced by Mycoplasma pneumoniae CARDS Toxin Originate from Rab9-Associated Compartments. July 2011 | Volume 6 | Issue 7 | e22877.
137. SUÁREZ M, ELORZA M, DONADO J, LONDOÑO L, ESPINAL D. Clinical and epidemiological characteristics of pediatric patients with positive serology for Mycoplasma pneumoniae, treated in the third level hospital from 2006 to 2008. *Colombia Médica Vol. 42 N° 2, 2011 (Abril-Junio).*
138. Schnee C, Schulse S, Hotzel H, Ayling R, Nicholas R, Schubert E, et al. A Novel Rapid DNA Microarray Assay Enables Identification of 37 Mycoplasma Species and Highlights Multiple Mycoplasma Infections. March 2012 | Volume 7 | Issue 3 | e33237.
139. Liu w, Fang L, Li M, Li S, Guo S, Luo R, et al. Comparative Genomics of Mycoplasma: Analysis of Conserved Essential Genes and Diversity of the Pan-Genome. April 2012 | Volume 7 | Issue 4 | e35698.
140. Villegas D, Echandía C, Echandía C. Afebrile pneumonia (whooping cough) syndrome in infants at Hospital Universitario del Valle, Cali, 2001-2007. Villegas D et al /*Colombia Médica - Vol. 43 N° 2, 2012 (Abril-junio)*
141. Cabre M, Serra M, Palomera E, Almirall J, Pallares R, Clavé P. Prevalence and prognostic implications of dysphagia in elderly patients with pneumonia. *Age and Ageing* 2010; 39: 39–45 doi: 10.1093/ageing/afp100 Published electronically 26 June 2009.
142. S A Uldum, J M Bangsborg, B Gahrn-Hansen, R Ljung, M Mølvadgaard, R Føns Petersen, C Wiid Svarrer1. Epidemic of Mycoplasma pneumoniae infection inDenmark, 2010 and 2011. *Euro Surveill.* 2012;17(5):pii=20073.
143. Holmes T,Campbell A, Sinha J and Wise M. The importance of diagnostic testing in the management of community-acquired respiratory infection during infl uenza season. Holmes et al. *Critical Care* 2012, 16:401.
144. Coelho L, Salluh J, Soares M, Bozza F, Verdeal J, Castro H, et al. Patterns of c-reactive protein RATIO response in severe community-acquired pneumonia: a cohort Study. *Coelho et al. Critical Care* 2012, 16:R53.
145. Marti C, Garin N, Grosgrin O, Poncet A, Combesure C, Carballo S, et al. Prediction of severe community-acquired pneumonia: a systematic review and meta-analysis. Marti et al. *Critical Care* 2012, 16:R141.
146. Daniel Curcio. Tigecycline in the Treatment of Community-Acquired Pneumonia. *Clinical Medicine: Therapeutics* 2009:1.
147. Fine M, Auble T, Yealy D, Hanusa B, Weissfeld L, Singer D et al. A PREDICTION RULE TO IDENTIFY LOW-RISK PATIENTS WITH COMMUNITYACQUIRED PNEUMONIA. *The New England Journal of Medicine.* Volume 336 Number 4.
148. Hadi N, Kashef S, Moazzen M, Shamooun Pour M. Rezaei N. Survey of Mycoplasma pneumoniae in Iranian children with acute lower respiratory tract infections. [*Braz J Infect Dis* 2011;15(2):97-101]cElsevier Editora Ltda.
149. Alves L , Moreira P, Fernandes D, Oliveira G, Oliveira J. Clinical, radiographic and hematological characteristics of Mycoplasma pneumoniae pneumonia. *Jornal de Pediatria - Vol. 86, N° 6, 2010.*
150. Iraní Pérez, María Gómez, Susana González Rico. El diagnóstico convencional de Mycoplasma pneumoniae como agente causal de Neumonías Adquiridas en la Comunidad (NAC). *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología* 2007; 27:73-78.
151. Lurdes Matas y Vicenç Ausina. DIAGNÓSTICO SEROLÓGICO DE LAS INFECCIONES POR Mycoplasma pneumoniae. *DIAGNÓSTICO SEROLÓGICO DE LAS INFECCIONES POR Mycoplasma pneumoniae.* 2008.
152. Rivera Tapia J, Castillo Viveros L, Sánchez Hernández J. DIAGNÓSTICO SEROLÓGICO DE LAS INFECCIONES POR Mycoplasma pneumoniae. Recibido para revisión: junio – 12 – 2010 – Aceptado para publicación: octubre – 10 – 2010.
153. Angeles Paul M, García C), Vega L. Infección por Mycoplasma pneumoniae. ISSN 0718-3321.

