



DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO DE LAS INFECCIONES POR MYCOPLASMA PNEUMONIAE

Muñoz Hiraldo ME. Grupo de Patología Infecciosa de la Asociación Española de Pediatría de Atención Primaria. Diagnóstico microbiológico de las infecciones por *Mycoplasma pneumoniae*. Febrero 2019. [Disponible en: <http://www.aepap.org/grupos/grupo-de-patologia-infecciosa/contenido>]

INTRODUCCIÓN

La neumonía adquirida en la comunidad (NAC) es una enfermedad frecuente en la infancia con una incidencia en nuestro país de 30-36 casos/año/1000 niños menores de 5 años y 11-16 casos/año/1000 niños mayores de 5 años, siendo necesario el ingreso hospitalario en el 15-23% de los < 5 años con NAC¹. Se detecta coinfección viral-bacteriana hasta en el 45-50% de las NAC^{2,3}. El neumococo es la principal bacteria causal. Clásicamente *Mycoplasma pneumoniae* (MN), *Chlamydia pneumoniae* (*C. pneumoniae*) y *Legionella* se consideran los microorganismos causales de la neumonía bacteriana atípica¹. La NAC atípica en niños <4-5 años habitualmente es de etiología viral, en los > 4-5 años la etiología por MN es más frecuente y en mucha menor medida la *C. pneumoniae*. Sin embargo, en estudios recientes se ha detectado MN con más frecuencia en edad preescolar, 21,5% en un estudio español y 30% en Dinamarca, e incluso en < 2 años, encontrándose en 8,6% y 4% respectivamente^{4,5}.

La etiología de la NAC ha sufrido variaciones desde la introducción de la vacuna antineumocócica en la última década. MN es responsable del 27-36% de las NAC de niños ingresados⁶. En niños mayores de 5 años es el principal agente etiológico y el cuarto por orden de prevalencia en los menores de 5 años². Desde 2010, varios países europeos han experimentado un mayor número de infecciones por MN, y también MN se ha publicado como la causa bacteriana más frecuente en niños hospitalizados por NAC en EEUU⁷. Presentaciones más leves de infecciones por MN (traqueobronquitis) son más frecuentes. La incidencia aumenta con la edad, aunque puede infectar a cualquiera edad, es más frecuente en niños de 5-15 años.

Presenta una alta transmisibilidad por gotitas respiratorias que requieren contacto muy próximo. Tiene un período de incubación de 3 semanas⁸. Se observan infecciones en todo el mundo de forma endémica y son más frecuentes durante la primavera-verano y el otoño, sin clara estacionalidad. Cada 3-7 años surgen epidemias cíclicas, posiblemente por declive de la inmunidad de grupo y por cambios en los genotipos circulantes⁴, donde la evolución es más tórpida. Son frecuentes los brotes en colegios e instituciones cerradas⁹. Las tasas de infección secundarias son altas en los contactos familiares, hasta el 90%⁸.

El tratamiento de elección del MN son los macrólidos¹⁰, si bien según una revisión Cochrane, no existe clara evidencia de su beneficio en la curación clínica¹¹. La resistencia del MN a macrólidos es emergente. Desde el año 2000 se ha aislado un tipo de MN resistente a macrólidos debido a una mutación puntual del gen 23S ARNr, con prevalencia elevada en los últimos años en Asia (en algunas regiones de China tasas del 90%)¹⁰ pero no en nuestro medio. En Europa han permanecido en torno al 10% (en Francia se ha publicado un 9,8%¹²),



excepto en Italia donde se han publicado tasas del 26%¹³. En estos casos hay que recurrir a tetraciclinas o quinolonas.

PATOGÉNESIS

MN es una de las 3 especies del género *Mycoplasma* patógenas en humanos (MN, *M hominis*, *M genitalium*) que se caracteriza por carecer de pared celular, ser la bacteria más pequeña de vida libre y relación con el huésped de parasitismo^{8,13,14}. Es una bacteria intracelular facultativa. Se engloban dentro de la clase *Mollicutes*. Los factores de virulencia del MN son: adhesión a las células del epitelio respiratorio principalmente por la proteína adhesina P1 (según variaciones en la secuencia genética diferencia en dos subtipos de MN 1 y 2), producción de radicales peróxido de hidrógeno y superóxido, la toxina CARDS (siglas en inglés de síndrome de dificultad respiratoria adquirida en la comunidad), ambos con efectos citopáticos y la capacidad de penetración intracelular (a través de una lipoproteína) dando lugar a una enfermedad crónica^{8,14}.

Las características y la magnitud de la respuesta inmune y la inmunocompetencia del huésped pueden afectar el resultado clínico de la enfermedad respiratoria por MN y la gran cantidad de complicaciones extrapulmonares que pueden ocurrir. MN estimula linfocitos B y T e induce la formación de anticuerpos específicos que pueden actuar como autoanticuerpos y reaccionar con una variedad de tejidos del huésped y el antígeno I de los eritrocitos, responsable de la producción de las crioprecipitinas. Este efecto inmunomodulador sobre el huésped puede causar fenómenos autoinmunes y dar lugar a parte de los síntomas de la infección aguda y de las manifestaciones extrapulmonares^{8,10,13,14}.

Tras la infección, MN puede persistir en el tracto respiratorio, quedando como reservorio o estado de portador, a pesar del tratamiento.

La inmunidad producida por la infección no es duradera y las reinfecciones a lo largo de la vida son frecuentes⁸.

CLÍNICA

MN es causa de infecciones del tracto respiratorio en niños y en adultos, que pueden variar en un amplio espectro, desde leve o asintomáticas (20%) hasta potencialmente mortales. Las manifestaciones respiratorias más comunes son traqueobronquitis, faringitis y otitis. El inicio de la enfermedad es gradual con cefalea, malestar y fiebre no alta. Es característica la tos seca, no productiva. Alrededor de un 10% de los niños desarrollan neumonía con tos que pasa a ser productiva, dolor torácico (característico), subcrepitantes generalizados y pueden auscultarse crepitantes y sibilancias que persisten 3-4 semanas. La tos intratable puede persistir semanas o meses. La duración de la fiebre es más larga que en otras NAC^{8,10}. El 10% de los niños con neumonía presenta exantema maculopapuloso, vesicular o urticarial. Los hallazgos radiográficos son variables, los más comunes son los infiltrados intersticiales difusos, pero puede haber consolidación unilateral, adenopatía hilar (34%) o derrame pleural (20%)⁸. De todas formas, la radiografía de tórax no se recomienda de forma rutinaria ante la sospecha de NAC en Atención Primaria².

Los pacientes con drepanocitosis, síndrome de Down, inmunodeficiencias y enfermedad cardiopulmonar crónica pueden desarrollar neumonía grave y derrame pleural¹⁴.



Las manifestaciones extrapulmonares son inusuales en la infancia y son debidas a la acción directa del germen y a mecanismos inmunes. Consisten en: anemia hemolítica, afectación del SNC en 0,1% (meningitis aséptica, encefalitis, mielitis transversa, síndrome de Guillain-Barré, neuropatía periférica, ataxia cerebelosa), manifestaciones mucocutáneas en 25% (exantemas, síndrome de Stevens-Johnson), síntomas gastrointestinales, artralgias y mialgias, artritis, miocarditis, pericarditis y glomerulonefritis^{8,10,14}.

Se postula una **relación del MN con el asma**: en la patogenia de una hiperreactividad bronquial, en las exacerbaciones agudas de asma y en la persistencia de esta enfermedad inflamatoria incluso en ausencia de exacerbación, ya que se ha descrito una prevalencia de MN en pacientes con asma crónica mayor que en la población general. Sin embargo, no hay acuerdo sobre si el tratamiento con macrólidos afecta a la gravedad y la frecuencia de las exacerbaciones de los asmáticos^{8,13}.

JUSTIFICACIÓN

Un diagnóstico específico de la NAC sería esencial para decidir la indicación y tipo de antibiótico. El diagnóstico de neumonía por MN basado en síntomas y signos es difícil³ y puede dar lugar a una prescripción de antibiótico inapropiada (el tratamiento con betalactámicos es ineficaz) y a aumentar la resistencia a antibióticos. Tampoco hay hallazgos clínicos ni radiológicos que permitan un diagnóstico seguro de MN frente a neumonía viral o por *C. pneumoniae*^{2,8}. Según una revisión de la Cochrane es imposible un diagnóstico certero de neumonía por MN en niños basado en síntomas y signos clínicos¹⁵. Por tanto, sería necesario un test diagnóstico seguro, rápido y coste-efectivo.

DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO

Tradicionalmente el diagnóstico microbiológico se veía limitado por la ausencia de procedimientos rápidos, pero en los últimos años ha cambiado debido a los avances en los métodos de diagnóstico serológico y, sobre todo, por la aplicación de los métodos de amplificación de ácidos nucleicos, comercializados o desarrollados en el propio laboratorio que permiten un diagnóstico microbiológico rápido^{13,14}.

La muestra para detectar MN del tracto respiratorio por cultivo o métodos moleculares se obtiene con hisopo naso u orofaríngeo, de aspirado traqueal, líquido pleural, o esputo. También se puede detectar en muestras extrapulmonares (LCR, orina, sangre)^{8,13,16}.

Cultivo de muestra respiratoria

MN requiere un medio de cultivo complejo y su crecimiento es dificultoso. Baja sensibilidad (60%) y tarda 2-3 semanas o más, por lo que resulta poco práctico con fines diagnósticos y no se realiza de forma rutinaria^{3,14}.

Serología

La seroconversión o elevación de los títulos de IgG ha sido y sigue siendo el método diagnóstico más ampliamente aplicado para las infecciones por MN¹⁴. La proteína P1 es la diana habitual de respuesta de anticuerpos y el antígeno más usado en técnicas serológicas.



En el individuo inmunocompetente a los 7-9 días de la infección se produce una respuesta rápida de anticuerpos que llega a su máximo en 21-40 días, para ir disminuyendo en meses o años. La respuesta inicial de IgM específica aparece después de la primera semana de infección y puede persistir semanas o meses. La detección de IgM es importante en la población infantil pero no se observa en la población adulta, que generalmente ha sido infectada repetidamente por MN. Así la ausencia de IgM no descarta la infección aguda, ni tampoco su presencia la confirma dado que puede persistir durante 2-3 meses. Los anticuerpos IgG específicos siguen a la respuesta IgM unas 1- 2 semanas después y permanecen elevados durante un tiempo prolongado de hasta cuatro años. Por tanto, títulos bajos de anticuerpos IgG pueden indicar infección reciente o pasada y en este caso, una segunda determinación a las 2-3 semanas permite demostrar, un aumento de niveles de IgG si existe infección aguda. La producción de anticuerpos puede estar ausente en pacientes inmunodeprimidos^{10,13,14}.

Las principales desventajas de la serología son el requisito de 2 muestras pareadas de suero (fase aguda y convalecencia) para confirmar la seroconversión y/o el aumento ≥ 4 veces del título de anticuerpos ("gold standard" ¹⁰), y la espera de 1-2 semanas desde el inicio de la infección hasta que se desarrollan anticuerpos detectables¹⁶.

Se han usado diferentes técnicas serológicas:

- **Crioaglutininas:** miden anticuerpos IgM hacia el antígeno I del eritrocito, aparecen en 50-60%. Baja sensibilidad y especificidad, actualmente no se considera útil¹⁴.
- **Fijación de complemento:** determina conjuntamente IgM e IgG. Es una técnica laboriosa y difícilmente reproducible por lo que no se suele utilizar. Presenta baja sensibilidad (65-90%), especificidad 88-97%, VPP 87% y VPN 89%¹⁴.
- **Enzimoimmunoanálisis (EIA):** es la técnica que utilizan la mayoría de laboratorios. Permite la cuantificación precisa de IgA, IgM e IgG. Requiere muy poco volumen de suero y puede proporcionar datos específicos de isotipo. En niños la detección de IgM tiene una sensibilidad del 81-89%. En adultos refieren un valor predictivo positivo (VPP) de 60-80% y valor predictivo negativo (VPN) de 83-94%. En el mercado hay una amplia variedad de reactivos comerciales en base a diferentes antígenos con resultados y criterios de interpretación variados. El principal problema en la valoración de los diferentes equipos comerciales es el gold standard comparativo (la mayoría de autores proponen la PCR pero tiene el inconveniente de los portadores asintomáticos) así como la falta de estandarización entre estudios con diferentes reactivos comerciales^{8,13,14}. Existe un EIA comercial para detección rápida cualitativa de IgM (Sistema Meridian InmunoCard Mycoplasma IgM®) en sólo 10 minutos, pero con una sensibilidad variable (alrededor 60%)^{9,17,18}. Puede resultar útil como técnica de cribado en brotes.
- **Otras:** aglutinación de partículas sensibilizadas, inmunofluorescencia indirecta, inhibición metabólica.

Respuesta de células secretoras de anticuerpos

La detección de anticuerpos por serología tiene el inconveniente de requerir muestras pareadas. En cambio, la respuesta de las células B es mucho más rápida y de corta duración, por lo que parece un objetivo óptimo para determinar la etiología de la NAC. Pueden ser



detectadas por EIA. El rendimiento de las pruebas que tienen como objetivo detectar la respuesta de células secretoras de anticuerpos (ASC) específicas de MN sería mayor pues sólo circulan en la sangre periférica durante la NAC. La detección de ASC, actualmente en fase de investigación, podría servir en un futuro como prueba diagnóstica que discrimine infección por MN de estado de portador¹⁰.

Técnicas moleculares de diagnóstico rápido

Estas técnicas de laboratorio han desplazado al cultivo, que es menos sensible y mucho más lento. La gran ventaja que aportan es su rapidez, ya que en pocas horas tras la toma de la muestra se puede tener el resultado.

- **Técnicas de detección de antígenos no amplificados y Sondas de ADN**
 - Test de detección de antígenos: Existen varias y la más usada ha sido el enzoinmunoanálisis (Ag-EIA). El test es más a menudo positivo dentro de los 7 días del inicio⁸. Presenta baja sensibilidad (60-68%) porque el límite de detección es aproximadamente 1000 UFC/ml y baja especificidad debido a reacciones cruzadas, por lo que no se usa.
 - Sondas de ADN: Baja sensibilidad.

Ambas técnicas no se recomiendan para el diagnóstico.

- **Técnicas de amplificación de ácidos nucleicos (NAATs)**

Se basan en crear múltiples copias de una secuencia diana del ADN o ARN. La mayoría detectan el gen que codifica la proteína adhesina P1 (y subtipos), pero otros equipos utilizan otras dianas, entre ellas el gen de la toxina CARDS, 16S rADN, 16S rARN. La técnica de preparación de la muestra previa a la técnica es clave y depende de las instrucciones del fabricante y de cada laboratorio^{10,16}. Las pruebas moleculares para MN están más extendidas en Europa que en EEUU. Las principales son:

- 1. Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)**

Con la PCR convencional o a tiempo final, el resultado tarda 2-3 días y es una técnica laboriosa por lo que no se usa en los laboratorios clínicos.

- 2. PCR en tiempo real (PCR-RT)**

Es más rápida que la anterior y es considerada como el nuevo "gold standard"^{10,13}.

Técnica: detecta ADN de MN, con una sonda dirigida a uno o más genes diana y cebadores (primers) específicos para las secuencias flanqueantes, durante el proceso de amplificación usando fluorescencia. Esta técnica, comercial o desarrollada en el laboratorio, ha desplazado a la PCR convencional debido a la precisión, especificidad, menor tiempo con resultados en el día y sensibilidad variable, aunque en general elevada^{13,16}.

La existencia de equipos comerciales ha facilitado que esta técnica se introduzca en algunos laboratorios. Proporciona resultados cualitativos (positivo o negativo) o cuantitativos (nº de



copias/ml de muestra), en este caso aunque no existe evidencia respecto al valor umbral a partir del cual se puede hacer una interpretación pronóstica, a mayor carga bacteriana, puede indicar mayor gravedad¹⁴. La sensibilidad de la técnica depende en gran parte de una correcta toma de muestra y de una buena extracción de ácidos nucleicos. Se disponen de kits comerciales “monoplex” (detectan ADN sólo de MN) y “multiplex” (detectan simultáneamente diferentes patógenos respiratorios) tanto en Europa como en EEUU. Dentro de los equipos multiplex destacan: 1) los que emplean la PCR-RT (que suelen detectar MN junto con *C. pneumoniae*); 2) los basados en la tecnología DPO™ (Dual Priming Oligonucleotide), como el sistema Seeplex® PneumoBacter ACE Detection, que detecta 6 patógenos bacterianos; y 3) los basados en microchips arrays, como el *PneumoCLART bacteria*® de Genomica, que incluye la detección de 11 patógenos bacterianos respiratorios, o el Filmarray respiratory® panel que integra de forma automatizada la extracción de ácidos nucleicos, amplificación y detección de hasta 20 patógenos respiratorios, 3 bacterianos y 17 virales, en un solo proceso que requiere alrededor de una hora. A pesar de la gran sensibilidad y especificidad de estos métodos, una limitación importante es el elevado coste de los reactivos fungibles, así como el coste de compra o alquiler del equipo necesario para realizar el análisis. Es por ello que el uso en España de estos sistemas queda restringido a algunos grandes hospitales^{13,14,16}.

Ventajas: resultado en pocas horas, trabajo técnico mínimo y cada vez más automatizado en los equipos comerciales que usan un aparato termociclador.

Inconvenientes: precio elevado, puede no distinguir enfermedad por MN de portador asintomático^{8,19}, precisa personal técnico cualificado dentro del laboratorio, se disponen de pocos estudios que comparen si un formato es mejor que otro y resultados dispares cuando se comparan con cultivo o serología.

Los análisis de PCR-RT son instrumento y protocolo específico y es importante que cada laboratorio realice una validación de todos sus pasos antes de aplicarlo^{14,16}.

3. LAMP (loop-mediated isothermal amplification)

La amplificación isotérmica mediada por bucle es más simple y menos costosa que la PCR, por lo que es adecuada para laboratorios que no cuentan con instalaciones o personal experimentado para realizar pruebas complejas de base molecular. Presenta resultados favorables en términos de sensibilidad diagnóstica. La tecnología LAMP ahora se recomienda como método de diagnóstico de primera línea para detectar infecciones agudas de MN en Japón¹³.

Interpretación de los resultados

- La presencia de IgM en la población infantil es, en general, indicador de infección aguda, aunque puede persistir meses o incluso años y su detección puede no corresponder con infección reciente.
- La detección de IgG o de inmunoglobulinas totales a título bajo pueden significar una infección pasada o incipiente. Por ello es necesario repetir la determinación en una muestra de suero obtenida al cabo de 2-3 semanas. Se considera diagnóstico de infección por MN la seroconversión o elevación al menos 4 veces del título de anticuerpos entre las dos muestras¹⁶.

- Las técnicas de PCR parecen ser los métodos más sensibles para diagnosticar la infección aguda, obtienen resultados positivos (presencia de ADN de MN) en infecciones de pocos días de evolución, pero no distingue entre infección aguda y portadores asintomáticos. No se sabe con certeza si existe una cantidad umbral específica de MN en los tejidos del tracto respiratorio que pueda diferenciar la colonización frente a la infección. Por lo tanto, confiar únicamente en un resultado positivo por PCR puede sobreestimar la importancia clínica de MN como patógeno¹³. La PCR es más sensible al comienzo de la enfermedad (1-7 días) y disminuye después de ≥ 7 d del inicio²⁰, mientras que la serología se hace más sensible a medida que la infección evoluciona. Sin embargo, en la primoinfección la detección de IgM tiene una sensibilidad y una especificidad buenas, mientras que, en las reinfecciones, la falta de detección de IgM específica no permite descartar una infección aguda¹⁴.
- Ningún test disponible aislado es seguro para atribuir la relación causal del MN^{10,18}. Los test disponibles son variables en sensibilidad y especificidad y no parecen diferenciar entre enfermedad y colonización asintomática^{8,10}.
Un estudio holandés observacional del 2013 en niños de 3 meses a 16 años detecta MN a través de PCR-RT o cultivo y serología en n= 405 niños asintomáticos y n = 321 niños con infección de vías respiratorias inferiores y no encuentra diferencias entre ambos grupos. Aunque tiene limitaciones (tamaño muestra limitado, realizado en una única ciudad) concluyen que la presencia de MN en niños asintomáticos es frecuente (21,2%) y que las pruebas diagnósticas actuales (PCR y serología) no diferencian entre portadores e infección sintomática¹⁹. Según diferentes autores la prevalencia de portadores asintomáticos de MN se sitúa entre 5,1% y 13,5%, o hasta el 56%^{10,13,19}, aunque se desconoce la prevalencia real en niños sanos²¹.
- Numerosos estudios comparan PCR y serología con resultados dispares:
 - Thurman et al comparan PCR con serología en 2 brotes de NAC y obtienen que la PCR-RT es > 2,5 veces más sensible si las muestras se obtienen en los primeros 21 días desde el inicio de los síntomas y que la prueba IgM mediante Sistema Meridian es útil en la identificación precoz de brotes¹⁸.
 - Un meta-análisis del 2011 que incluye 14 estudios comparando PCR con serología en diagnóstico de MN estima para la PCR una sensibilidad inicial de 62% (IC 95%: 45-76%) y una especificidad de 96% (IC 95%: 93-98%). En el análisis por subgrupos los ensayos que utilizan PCR-RT con diana 16s ADNr y el subgrupo de adultos tienen mejores resultados²².
 - Medjo et al en un estudio de 166 niños con NAC realizan serología, cultivo y PCR siendo positivo por alguno de los métodos en 14,5% a MN. Considerando la serología IgG en muestras pareadas como gold standard, la sensibilidad y especificidad de serología IgM, PCR y cultivo fue similar (sensibilidad 81,8% con los 3 métodos, especificidad 100%, 98,6% y 100% respectivamente). En la fase aguda la detección de IgM junto con la PCR permite el diagnóstico más seguro de MN²³.
 - Chang et al estudian 290 niños y considerando PCR como gold standard encuentran que la IgM muestra una baja sensibilidad de 62,2% y una especificidad de 85,5%, con un VPP de 52,3% y VPN de 89,9%. En niños con IgM positiva y PCR negativa se asoció a coinfección con otros patógenos²¹.
 - Wang et al en estudio de 3146 niños con NAC, detectan 243 muestras (7,72%) positivas con ambos métodos: PCR multiplex (detecta ADN de MN) y serología con muestras pareadas. Un 6,29% mostraron resultados inconsistentes y éstos los reanalizan mediante análisis de PCR con detección de ARN (método SAT) y en

97,8% coincide con el resultado de PCR multiplex pero no con la serología. Concluyen que el diagnóstico es más sensible y seguro con PCR comparada con la serología²⁰.

- Montagnani et al analizan 2592 pacientes, de ellos 382 eran niños y concluyen que asumiendo la IgM positiva como el gold standard, la PCR mostró una sensibilidad de 20% en < 15 años con ausencia de la misma en los mayores de esta edad y una especificidad del 95% en ambos grupos²⁴.

En la tabla 1 se comparan los métodos de diagnóstico microbiológico^{10,13,16}.

CONCLUSIONES

1. Dado el curso clínico relativamente leve de las infecciones del tracto respiratorio por MN y la buena respuesta en general de las neumonías por MN a tratamiento con macrólidos, la falta de una amplia disponibilidad de pruebas de diagnóstico rápido y sus costes asociados, es preferible el tratamiento empírico cuando se sospeche esta entidad (basado en clínica, edad y contexto epidemiológicos)^{10,15,16}. Por otro lado, en los niños con NAC que no respondan a tratamiento con betalactámicos, se debe considerar el MN¹⁰.
2. Según la guía de la Sociedad de Enfermedades Infecciosas de América la realización de pruebas diagnósticas para MN tiene recomendación débil y evidencia de moderada calidad²⁵. El diagnóstico microbiológico no debe ser considerado de forma rutinaria en la enfermedad por MN leve⁶.
3. Está indicado un diagnóstico microbiológico (incluido PCR si disponible) en^{1,10,16}:
 - Enfermedad grave que requiere hospitalización
 - Mala respuesta clínica al tratamiento con macrólidos, que puede indicar una cepa resistente
 - Pacientes con comorbilidad subyacente o inmunodeficiencia, en los que es más probable la enfermedad grave y diseminada
 - Si se asocian síntomas extrapulmonares significativos
 - Aparición de brote institucional
4. Los métodos de **PCR-RT** serían el método diagnóstico etiológico de elección de infección aguda^{8,10,13} pero, con los test disponibles actualmente, **no pueden sustituir a la serología**. Son caros, no se encuentran en la mayoría de laboratorios y presentan resultados heterogéneos. Se podría disponer de equipos comerciales automatizados, que precisan poco personal, en algunos laboratorios de urgencias. Son interesantes los equipos múltiples que detectan varios patógenos respiratorios dada la alta prevalencia de coinfección viral^{14,16,20}.
5. La **serología** de muestras pareadas tiene mejor relación coste-efectividad, no requiere instrumentos específicos de PCR y es más probable que esté disponible en la rutina de la mayor parte de laboratorios^{1,8,10}. En determinadas situaciones (brotes) se puede plantear la prueba rápida de IgM como técnica de cribado para efectuar el diagnóstico presuntivo, presenta aceptable coste y sensibilidad^{9,17,18}, e incluso se podría realizar en Atención Primaria si se dispone de centrífuga.
6. La **combinación de PCR con serología** IgM en niños con síntomas sospechosos de MN se sugiere como el método más seguro y rápido para distinguir la colonización de la infección aguda y la diferenciación con otros microorganismos causales de

neumonía atípica o viral^{5,10,14,22}. La Sociedad Americana de Enfermedades Infecciosas sugiere serología o PCR para el diagnóstico microbiológico de MN²⁶. Cuando se plantea el diagnóstico de laboratorio se debe seleccionar la técnica en función de la disponibilidad, coste y grupo poblacional. Es esencial para el clínico conocer qué le ofrece su laboratorio de referencia, es decir, técnica disponible, cuál es su sensibilidad y su especificidad, y como interpretar los resultados^{10,14}. De cualquier forma, los pediatras deben saber interpretar los resultados del o los tests diagnósticos en combinación con la clínica y la ausencia de respuesta a betalactámicos¹⁰.

Tabla 1. Comparación de los métodos de diagnóstico microbiológico

CRITERIO	DIAGNÓSTICO MOLECULAR: PCR	CULTIVO	SEROLOGÍA: EIA
Disponibilidad	Algunos equipos de PCR (diferentes dianas) en laboratorios de referencia de Europa, Asia y EEUU	Medios de cultivo no disponibles en general	Equipos comerciales de anticuerpos cuali y cuantitativos. Disponibilidad amplia
Coste	Elevado Requiere personal entrenado en técnicas moleculares	Caro. Se añade el coste de personal por crecimiento lento y test adicional que identifique especie de Mycoplasma	Bajo. Variable, depende del volumen de muestras y de los equipos
Tiempo del resultado	Pocas horas	Semanas	Minutos a pocas horas. Requiere 2ª muestra a las 2-3 semanas
Sensibilidad	Alta. Detecta <100 UFC/ml (algunos 5-50) ó 100 copias genoma	Baja. Puede detectar 100-1000 organismos viables.	Moderada-Alta (si aumento significativo en 2ª muestra). Algo menor que PCR
Especificidad	Alta (si gen diana adecuado)	Alta	Moderada-Alta (variable)

UFC: unidades formadoras de colonias.

BIBLIOGRAFÍA

1. Andrés Martín A, Moreno-Pérez D, Alfayate Miguélez S 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.
2. Úbeda Sansano MI, Murcia García J, Asensi Monzó MT y Grupo de Vías Respiratorias. Neumonía adquirida en la comunidad. *El pediatra de Atención Primaria y la Neumonía. Protocolo del GVR 2017 (publicación P-GVR-8)* [consultado 10 Dic 2018]. Disponible en: <http://www.respirar.org/index.php/grupo-vias-respiratorias/protocolos>
3. Barson WJ. Community-acquired pneumonia in children: Clinical features and diagnosis. [Disponible en: <http://www.uptodate.com/contents/community-acquired-pneumonia-in-children-clinical-features-and-diagnosis>]



4. Aguilera-Alonso D, et al. Características clínicas y epidemiológicas de las neumonías adquiridas en la comunidad por *Mycoplasma pneumoniae* en una población española, 2010-2015. *An Pediatr (Barc)*. 2018. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.anpedi.2018.07.016>
5. Søndergaard MJ, Friis MB, Hansen DS, Jørgensen IM (2018) Manifestaciones clínicas en lactantes y niños con infección por *Mycoplasma pneumoniae*. *PLoS ONE* 13 (4): e0195288. Disponible en: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0195288>
6. Harris M, Clark J, Coote N, et al. British Thoracic Society guidelines for the management of community acquired pneumonia in children: update 2011. *Thorax*. 2011;66 Suppl 2:ii1–23.
7. Jain S, Williams DJ, Arnold SR, et al.; CDC EPIC Study Team. Community-acquired pneumonia requiring hospitalization among U.S. children. *N Engl J Med*. 2015;372:835–845.
8. Vallejo JG. *Mycoplasma pneumoniae* infection in children. Disponible en: <https://www.uptodate.com/contents/mycoplasma-pneumoniae-infection-in-children>
9. Olavide Sánchez M, Sánchez Pina C, García Bermejo I, Carrasco Sanz A. Brote de neumonía y urticaria por *Mycoplasma pneumoniae* en dos colegios de un municipio de la Comunidad de Madrid. *Rev Pediatr Aten Primaria*. 2008; 10: 627-41.
10. Sauter PM, Unger WWJ, van Rossum AMC et al. The Art and Science of Diagnosing *Mycoplasma pneumoniae* Infection. *ESPID Reports and Reviews*. *Pediatr Infect Dis J*. 2018; 37(11): 1192-1195.
11. Gardiner SJ, Gavranich JB, Chang AB. Antibiotics for community-acquired lower respiratory tract infections secondary to *Mycoplasma pneumoniae* in children. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2015, Issue 1. Art. No.: CD004875. DOI: 10.1002/14651858.CD004875.pub5.
12. Peuchant O, Ménard A, Renaudin H et al. Increased macrolide resistance of *Mycoplasma pneumoniae* in France directly detected in clinical specimens by real-time PCR and melting curve analysis. *J Antimicrob Chemother*. 2009 Jul;64(1):52-8.
13. Waites KB, Xiao L, Liu Y, et al. *Mycoplasma pneumoniae* from the respiratory tract and beyond. *Clin Microbiol Rev*. 2017;30:747–809.
14. Acosta Boga B, Codina Grau MG, Matas Andreu L, Meseguer Peinado MA. Diagnóstico microbiológico de las infecciones por *Mycoplasma* spp. y *Ureaplasma* spp. 2011 [Disponible en: <http://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia40.pdf>]
15. Wang K, Gill P, Perera R, Thomson A, Mant D, Harnden A. Clinical symptoms and signs for the diagnosis of *Mycoplasma pneumoniae* in children and adolescents with community-acquired pneumonia. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2012, Issue 10. Art. No.: CD009175. DOI: 10.1002/14651858.CD009175.pub2.
16. Waites KB, Xiao L, Paralanov V, Viscardi RM, Glass JI. Molecular methods for the detection of *Mycoplasma* and *ureaplasma* infections in humans: a paper from the 2011 William Beaumont Hospital Symposium on molecular pathology. *J Mol Diagn*. 2012; 14(5):437-50.
17. Lara M. Diagnóstico serológico de un brote epidémico de neumonía por *Mycoplasma pneumoniae* en un municipio de Santa Cruz de Tenerife. *Rev Esp Quimioter*. 2013; 26(1): 70-1.
18. Thurman KA, Walter ND, Schwartz SB, Mitchell SL, Dillon MT, Baughman AL et al. Comparison of laboratory diagnostic procedures for detection of *Mycoplasma pneumoniae* in community outbreaks. *Clin Infect Dis*. 2009; 48(9):1244-9.
19. Spuesens EB, Fraaij PL, Visser EG, Hoogenboezem T, Hop WC, van Adrichem LN et al. Carriage of *Mycoplasma pneumoniae* in the upper respiratory tract of symptomatic and asymptomatic children: an observational study. *PLoS Med*. 2013; 10(5):e1001444.



20. Wang L, Feng Z, Zhao M et al. A comparison study between GeXP-based multiplex-PCR and serology assay for *Mycoplasma pneumoniae* detection in children with community acquired pneumonia. *BMC Infectious Diseases* (2017) 17:518. DOI 10.1186/s12879-017-2614-3
21. Chang HY, Chang LY, Shao PL et al. Comparison of real-time polymerase chain reaction and serological tests for the confirmation of *Mycoplasma pneumoniae* infection in children with clinical diagnosis of atypical pneumonia. *J Microbiol Immunol Infect* 2014;47:137-44
22. Zhang L, Zong ZY, Liu YB, Ye H, Lv XJ. [PCR versus serology for diagnosing *Mycoplasma pneumoniae* infection: a systematic review & meta-analysis.](#) *Indian J Med Res.* 2011; 134:270-80.
23. Medjo B, Atanaskovic-Markovic M, Radic S et al. *Mycoplasma pneumoniae* as a causative agent of community-acquired pneumonia in children: clinical features and laboratory diagnosis. *Ital J Pediatr* 2014;40:104.
24. Montagnani F, Rossetti B, Vannoni A et al. Laboratory diagnosis of *Mycoplasma pneumoniae* infections: data analysis from clinical practice. *New Microbiol* 2018;41:203-207.
25. Bradley JS, Byington CL, Shah SS, Alverson B, Carter ER, Harrison C et al. The management of community-acquired pneumonia in infants and children older than 3 months of age: clinical practice guidelines by the Pediatric Infectious Diseases Society and the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis.* 2011; 53(7):e25-76.
26. Miller JM, Binnicker MJ, Campbell S et al. A Guide to Utilization of the Microbiology Laboratory for Diagnosis of Infectious Diseases: 2018 Update by the Infectious Diseases Society of America and the American Society for Microbiology, *Clin Infect Dis* 2018, 67:e1