

## Frecuencia de *Mycoplasma pneumoniae* y *Chlamydia pneumoniae* en pacientes con *distress* respiratorio y serología negativa para hantavirus

MARITZA NAVARRETE C.<sup>1,2</sup>, MYRA WILSON S.<sup>2</sup>, LAURA OTTH R.<sup>2</sup>,  
IGNACIO HOFFMAN H.<sup>2</sup> y LUIS ZAROR C.<sup>2</sup>

### *Mycoplasma pneumoniae* and *Chlamydia pneumoniae* frequency in respiratory distress syndrome with negative serology for hantavirus

A retrospective study by means of indirect immunofluorescence was carried out to detect IgM antibodies against *Chlamydia pneumoniae* and *Mycoplasma pneumoniae* in seronegative patients for Hantavirus, with characteristic symptoms of atypical pneumonia. The final results indicate that the prevalence of *C. pneumoniae* reaches 8,6% and *M. pneumoniae* is equivalent to 17,1% of the patients studied. By this we can be aware of the importance of these agents in our media, and the necessity of having rapid laboratory techniques that allow an opportune differential diagnosis in pulmonary syndrome for Hantavirus and other pathologies that cause similar symptoms, mainly atypical pneumonia.

**Key words:** *Mycoplasma*, *Chlamydia*, atypical pneumonia, distress.

#### Introducción

En E.U.A. se describió por primera vez en 1993, un síndrome de dificultad respiratoria aguda producido por hantavirus en pacientes previamente sanos, caracterizado por un pródromo "gripal" con calofríos, cefalea, síntomas gastrointestinales, seguido de compromiso respiratorio rápidamente progresivo, que requirió oxigenación suplementaria y que evolucionó como un *distress* respiratorio del adulto (SDRA), letal en 52% de los casos<sup>1</sup>. En Chile la infección por hantavirus representa un problema de salud pública desde 1995, fecha en la que se detectaron los primeros casos de síndrome pulmonar por hantavirus (SPH), estableciéndose en forma retrospectiva la presencia de esta enfermedad ya en 1993<sup>2</sup>. A la fecha (7 de marzo, 2003) se han diagnosticado 289 casos de la infección desde la V a la XI Región, con una letalidad global de 40%<sup>3</sup>.

Los síntomas y signos del SPH son similares a otros cuadros clínicos como gripe, gastroenteritis,

neumonías típicas, neumonías atípicas, sepsis, entre otros, por lo que se hace necesario establecer el diagnóstico diferencial en aquellos casos con serología negativa para hantavirus.

Los patógenos atípicos más comunes son *Mycoplasma pneumoniae* y *Chlamydia pneumoniae* considerados como una importante causa de neumonías adquiridas en la comunidad (NAC), siendo también responsables de un amplio espectro de manifestaciones extrapulmonares que incluyen compromiso neurológico, hepático, cardíaco y hematológico. Las tasas de infección para estos agentes no están bien establecidas por la falta de confirmación diagnóstica, ya que la mayoría de los tratamientos son empíricos<sup>4,5</sup>.

El objetivo del presente trabajo fue determinar la frecuencia de infección por *M. pneumoniae* y *C. pneumoniae* en cuadros de SDRA, con serología negativa para hantavirus, analizados en el Laboratorio de Virología del Instituto de Microbiología Clínica de la Universidad Austral de Chile.

<sup>1</sup> Hospital Clínico Regional Valdivia.

<sup>2</sup> Instituto de Microbiología Clínica, Facultad de Medicina, Universidad Austral de Chile.

## Material y Método

Muestras clínicas: Se seleccionó 35 de 107 sueros negativos en forma aleatoria para hantavirus (IgM mediante ELISA de captura empleando como antígeno virus Laguna Negra) provenientes de pacientes con diagnóstico de sospecha de SPH, y que presentaban fiebre, mialgias, síntomas respiratorios y radiografía de tórax con infiltrados intersticiales. Los datos fueron extractados del formulario de notificación inmediata y envío de muestras para casos sospechosos de infección por hantavirus (MINSAL). La distribución etaria fue de 2 a 88 años.

**Estudio serológico específico para *M. pneumoniae* y *C. pneumoniae*.** Tanto para *C. pneumoniae* como *M. pneumoniae*, se investigó la presencia de anticuerpos IgM en el suero de los pacientes mediante IFI. Se eligió esta técnica porque no se contaba con muestras pareadas y como lo describe la literatura, la presencia de ella es indicativa de infección actual o reciente<sup>6-10</sup>.

*Chlamydia pneumoniae*: Se utilizó un kit de IFI (Fuller Laboratories). Las placas de IFI utilizan como sustrato antigénico, células de cultivo Hep 2 en los cuales se ha propagado *C. pneumoniae* y se encuentran por lo tanto con cuerpos elementales. El suero del paciente fue inicialmente diluido para *screening* en una solución diluyente de IgM (1:16) en la cual los anticuerpos IgG fueron removidos por inmunoprecipitación selectiva. Luego de una incubación apropiada, las láminas se lavaron con el fin de remover las proteínas séricas no reactivas y enseguida se agregó un conjugado fluorescente anti IgM humana. Este conjugado se unió al complejo antígeno-anticuerpo y la reacción resultante se visualizó con un microscopio de fluorescencia, observándose en caso positivo, los cuerpos elementales intensamente teñidos verde manzana en el citoplasma en 10 a 20% de las células infectadas.

*Mycoplasma pneumoniae*. Se utilizó el kit IgM Antibody Test System de Zeus Scientific, Inc. La técnica de IFI utiliza en este caso un sustrato antigénico de *M. pneumoniae* fijado en los pocillos de un portaobjeto. El suero a testar se diluyó 1:8 y se incubó con el sustrato y si el anticuerpo estaba presente, se pudo observar fluorescencia después de haber teñido con un conjugado fluorescente anti IgM humana. A las muestras positivas se les hizo, posteriormente, diluciones 1:16 y 1:32, para confirmar la positividad.

Tanto para *C. pneumoniae* como para *M. pneumoniae* se consideró la muestra positiva si se observó fluorescencia a un título de 1:16 o más.

## Resultados

En nuestro estudio, de 35 sueros negativos para hantavirus, 3 (8,6%) y 6 (17,1%) de estos tenían anticuerpos del tipo IgM anti *C. pneumoniae* y anti *M. pneumoniae* respectivamente, con títulos  $\geq 1/16$  (Tabla 1). No se detectó una distribución etaria de los seropositivos.

## Discusión

En nuestro estudio en 25,7% de los sueros estudiados se encontró anticuerpos del tipo IgM para *M. pneumoniae* o *C. pneumoniae*. El 8,6% de los sueros (Tabla 1) presentó anticuerpos IgM anti *C. pneumoniae* con título  $\geq 1/16$ . Este resultado es similar al reportado por otros autores, quienes informan a *C. pneumoniae* como responsable de 6 a 10 y hasta 15% de las neumonías adquiridas en la comunidad<sup>7,11-13</sup>. No encontramos datos de la incidencia de infecciones por *C. pneumoniae* en Chile. Sin embargo, Martínez et al<sup>14</sup> reportan 60% de seroprevalencia en individuos asintomáticos, sugiriendo que la infección por *C. pneumoniae* en Chile es endémica. Peeling y Brunham<sup>12</sup>, sostienen que ello representa un problema de salud pública al establecer que entre 50 y 70% de las infecciones son clínicamente silentes.

Gran parte de la información epidemiológica de la infección por *C. pneumoniae* deriva de estudios serológicos específicos por inmunofluorescencia. Estos estudios indican que *C. pneumoniae* es un agente frecuente de infección en el mundo, con una seroprevalencia mayor al 50% en adultos en E.U.A. y otros países. Neumonía y bronquitis son los cuadros clínicos mayormente asociados a *C. pneumoniae*, alcanzando a 6 a 10% de las NAC<sup>12</sup>. La infección es frecuentemente leve o asintomática pero puede ser severa, especialmente en el anciano, probablemente favorecida por enfermedades de base, daño del clearance mucociliar y senescencia inmunológica. Casos de infección extrapulmonar

**Tabla 1. Número y porcentaje de muestras positivas para anticuerpos IgM anti *Mycoplasma pneumoniae* y *Chlamydia pneumoniae*. Valdivia, Chile.**

Microorganismos	Nº/n	%
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	6/35	17,1
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	3/35	8,6

severa por *C. pneumoniae* han sido esporádicamente reportados como, eritema nodoso, síndrome de Guillain Barre, endocarditis con cultivo negativo, tiroiditis, artritis, encefalitis y meningoencefalitis<sup>8,15-17</sup>.

La infección es más común en niños de 5 a 14 años de edad y la mayoría de los adultos tiene evidencia serológica de infección antigua. La prevalencia aumenta dramáticamente desde los 5 años; a los 20 años aproximadamente el 50% de las personas tiene niveles detectables de anticuerpos contra *C. pneumoniae*. La seroprevalencia continúa aumentando y alcanza el 75% en la población anciana. Estas tasas de prevalencia existen a pesar que la primera infección induce una respuesta de anticuerpos limitada (3 a 5 años), sugiriendo que la mayoría de las personas se reinfecta a lo largo de la vida<sup>7</sup>.

Se han identificado dos patrones de respuesta de anticuerpos a infección aguda por *C. pneumoniae*, uno está asociado a infección primaria y el otro a reinfección. En la infección primaria se detectan anticuerpos específicos por FC, apareciendo a las tres semanas de iniciada la enfermedad, IgM medible por micro IF Twar. IgG puede no aparecer hasta 6 a 8 semanas del inicio. En la reinfección la IgM puede no aparecer o estar con títulos bajos, aumentando rápidamente en 1 a 2 semanas, comienza a caer dentro de 2 meses y generalmente desaparece 4 a 6 meses después de la infección aguda. La IgG persiste y puede ser detectada aún a 3 o más años de ocurrida la infección aguda. Es recomendable remover la IgG del factor reumatoide<sup>7</sup>, ya que según Peeling et al<sup>18</sup> pueden fallar en definir falsos positivos por IgM.

El análisis de una segunda muestra en el período de convalecencia es necesario para establecer diagnóstico. Siendo éste un estudio retrospectivo, no fue posible obtener en estos pacientes una segunda muestra, por lo que se optó por detectar IgM.

En relación a *M. pneumoniae* 17,1% de los sueros fueron positivos para IgM (título  $\geq 1/16$ ). Resultados semejantes han sido reportados por otros autores<sup>4,19</sup>. *Mycoplasma pneumoniae* es agente etiológico de infecciones respiratorias altas y bajas de variada intensidad, más común en pacientes entre 5 y 9 años de edad<sup>13</sup> de éstas sólo 3 a 5% corresponden a neumonías<sup>20</sup>, siendo también responsable de un amplio espectro de manifestaciones extrapulmonares, que incluyen enfermedad neurológica (neuropatía óptica, encefalitis, meningitis)<sup>21-25</sup>, dermatológica (síndrome de Stevens Johnson), hematológica (trombocitopenia), esplenomegalia, coagulación intravas-

cular diseminada, anemia hemolítica<sup>26</sup>, gastrointestinal (vómitos, diarrea, pancreatitis), renal (nefritis intersticial, glomerulonefritis), hepática, cardíaca (pericarditis, miocarditis)<sup>27</sup>. La sospecha precoz de esta enfermedad puede facilitar el diagnóstico temprano y por lo tanto el inicio precoz y apropiado de tratamiento que puede modificar el curso de la enfermedad<sup>28-31</sup>.

En una serie clínica de 11 casos fatales de infección por *M. pneumoniae* se describen 10 casos con neumonía, 5 de 11 desarrollaron trombosis vascular, asociada a infarto en sitios como pulmón, bazo, riñón y cerebro. La coagulación intravascular diseminada ha sido asociada con infección por *M. pneumoniae* tanto en casos fatales como no fatales. Puede haber anemia hemolítica Coombs positivo, sugiriendo un desorden autoinmune. En la serie referida, el diagnóstico de infección por *M. pneumoniae* fue establecido por crioaglutininas, FC e IFI positiva, y en cuatro casos, por cultivo<sup>28</sup>.

Llamamos la atención respecto del conocimiento deficiente de la epidemiología y las manifestaciones clínicas de estas dos infecciones y su diagnóstico no se tiene en cuenta, debido entre otras causas a lo difícil de cultivar que son *Chlamydia* y *Mycoplasma*. Sin embargo, es importante, establecer el diagnóstico, ya que según Fang et al<sup>29</sup>, 13,9% de los pacientes con neumonía muere en el hospital, aun cuando sólo fallecen 4,5 y 0% de los casos debidos a *C. pneumoniae* y *M. pneumoniae* respectivamente.

## Conclusión

Se hace necesario ampliar el abanico de exámenes para otros agentes en el estudio etiológico de pacientes con síntomas respiratorios bajos e infiltrados pulmonares, procedentes de áreas endémicas para infección por hantavirus, contribuyendo a un mejor diagnóstico diferencial y evitando así tratamientos empíricos inadecuados.

## Resumen

Se realizó un estudio retrospectivo por medio de IFI, para detectar anticuerpos IgM anti *Chlamydia pneumoniae* y *Mycoplasma pneumoniae*, en pacientes seronegativos para hantavirus, con sintomatología de neumonía atípica y distress respiratorio. *Chlamydia pneumoniae* alcanzó una prevalencia de 8,6% y *M. pneumoniae* de 17,1% en los pacientes estudiados. Se enfatiza la importancia que estos agentes tienen en nuestro medio

y la necesidad de contar con técnicas de laboratorio rápidas, que permitan un diagnóstico diferencial oportuno entre el síndrome pulmonar por hantavirus y otras patologías que producen cuadros similares, principalmente con neumonía atípica.

### Bibliografía

- 1.- Khan A S, Khabbaz R F, Armstrong L R et al. Hantavirus pulmonary syndrome: The first 100 cases. *J Infect Dis* 1996; 173: 1297-303.
- 2.- Navarrete M, Saldías F, Mancilla R, Zaror L, Ferres M. Evidencia clínicoepidemiológica de la existencia de síndrome pulmonar por hantavirus en Valdivia-Chile desde 1993. *Rev Chil Infect* 2000; 17: 233-40.
- 3.- MINSAL: [Http://epi.minsal.cl/Reportes/Hantavirus/Hantavirus.htm](http://epi.minsal.cl/Reportes/Hantavirus/Hantavirus.htm)
- 4.- TAN J S. Role of atypical pneumonia pathogens in respiratory tract infections. *Can Respir J* 1999; 6 (A): 15-9.
- 5.- Smith R, Viatar L. Neurologic manifestations of *Mycoplasma pneumoniae* infections: diverse spectrum of diseases. A report of six cases and review of the literature. *Clin Pediatr (Phila)* 2000; 39: 195-201.
- 6.- Carter J B, Carter S L. Acute-phase, indirect fluorescent antibody procedure for diagnosis of *Mycoplasma pneumoniae* infection. *Ann Clin Lab Sci* 1983; 13: 150-55.
- 7.- Kuo C C, Jackson L A, Campbell L A, Grayston T. *Chlamydiae pneumoniae* (TWAR). *Clin Microbiol Rev* 1995; 8: 451-61.
- 8.- Blasi F. Clinical features of *Chlamydia pneumoniae* acute respiratory infection. *Clin Microbiol Infect* 1996; 1 (Suppl 1): 14-118.
- 9.- Roitt I M, Brostoff J, Male D K. *Inmunología* 1997; 4º ed.: 4.1 - 4.2, Harcourt Brace, Madrid.
- 10.- Jackson L A, Grayston T. *Chlamydia pneumoniae* En Mandell, Douglas and Bennett's: Principles and Practice of Infectious Diseases. Mandell G L, Bennett J E, Dolin R, eds 5º ed 2000, Churchill Livingstone, Philadelphia, pp: 2007-14.
- 11.- Grayston J T. Infections caused by *Chlamydia pneumoniae* strain TWAR. *Clin Infect Dis* 1992; 15: 757-63.
- 12.- Peeling R W, Brunham R C. *Chlamydiae* as pathogens: New species and new issues. *Emerg Infect Dis* 1996; 2: 307-17.
- 13.- Bartlett J G, Breinam R F, Mandell L A, FILE T M. Community-acquired pneumonia in adults: Guidelines for management. *Clin Infect Dis* 1998; 26: 811-38.
- 14.- Martínez M A, Kogan R, Silva J J et al. Seroprevalence of *Chlamydia pneumoniae* in Chile. *Scand J Infect Dis* 1999; 31: 103-4.
- 15.- Socan M, Beovic B, Kese D. *Chlamydia pneumoniae* and meningoencephalitis. *N Engl J Med* 1994; 331: 406.
- 16.- Gieffers J, Reusche E, Solbach W et al. Failure to detect *Chlamydia pneumoniae* in brain sections of Alzheimer disease patients. *J Clin Microbiol* 2000; 38: 881-2.
- 17.- Saikku P. Epidemiologic association of *Chlamydia pneumoniae* and atherosclerosis: The initial serologic observation and more. *J Infect Dis* 2000; 181 (Suppl.3): S411-13.
- 18.- Peeling R W, Wang S P, Grayston J T et al. *Chlamydia pneumoniae* serology: Interlaboratory variation in microimmunofluorescence assay results. *J Infect Dis* 2000; 181 (Suppl 3): S426-9.
- 19.- Dorigo-Zetsma J W, Zaat SAJ, Van Wertheim PME et al. Comparison of PCR, culture, and serological test for diagnosis of *Mycoplasma pneumoniae* respiratory tract infection in children. *J Clin Microbiol* 1999; 37: 14-7.
- 20.- Noriega L M. Alternativas terapéuticas en neumonía atípica. *Rev Chil Infect* 1996; 13: 104-9.
- 21.- Milla E, Zoógrafos L, Piguet B. Bilateral optic papillitis following *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia. *Ophthalmol* 1998; 212: 344-6.
- 22.- Andrade C, Muñoz D, Koukoulis A, Martínez-Cueto P, Gómez Alonso J. Encephalopathy with focal lesions due to *Mycoplasma pneumoniae*. *Neurology* 1999; 14: 131-4.
- 23.- Cano A, Cano H, Fernández J, Artero J M, González L. Aseptic meningitis caused by *Mycoplasma pneumoniae* in a 19 year old woman. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1999; 18: 228-9.
- 24.- Cambonie G, Sarran N, Leboucq N et al. *Mycoplasma pneumoniae* meningoencephalitis. *Arch Pediatr* 1999; 6: 275-8.
- 25.- Smith R, Eviatar L. Neurologic manifestations of *Mycoplasma pneumoniae* infections: diverse spectrum of diseases. A report of six cases and review of the literature. *Clin Pediatr (Phila)* 2000; 39: 195-201.
- 26.- Fu M, Wong K S, Lam W W, Wong G W. Middle cerebral artery occlusion after recent *Mycoplasma pneumoniae* infection. *J Neurol Sci* 1998; 157: 113-5.
- 27.- Farraj R S, Mccully R B, Oh J K, Smith T F. *Mycoplasma* associated pericarditis. *Mayo Clin Proc* 1997; 72: 33-6.
- 28.- Koletsky R, Weinstein A. Case Reports. Fulminant *Mycoplasma pneumoniae* infection. *Am Rev Resp Dis* 1980; 122: 491-6.
- 29.- Fang G d, Fine M, Orloff J et al. New and emerging etiologies for community-acquired pneumonia with implications for therapy. A prospective multicenter study of 359 cases *Medicine* 1990; 69: 307-16.
- 30.- Scully R E, Mark E J, Mcneely W F, Mcneely B V. Case records of the Massachusetts General Hospital. Case 5- 1992. *N Engl J Med* 1992; 326: 324-36.
- 31.- Berger R, Wadowsky R M. Rhabdomyolysis associated with infection by *Mycoplasma pneumoniae*: a case report. *Pediatrics* 2000; 105: 433-6.

Correspondencia a:  
Maritza Navarrete C.  
E-mail: maritzanavarrete@uach.cl