

## Artículo original

## Seroprevalencia de anticuerpos anti-*Mycoplasma pneumoniae*: evaluación en niños menores de 12 años

### Seroprevalence of *Mycoplasma pneumoniae* in children aged under 12 years

Dres. Andrea Lezcano\*, Jeannete Balbaryski\*\*, Fernando Torres\*, Adrián Cutri\*, Alejandra Coarasa\*, María F. Ossorio\*\*\* y Fernando Ferrero\*

## RESUMEN

**Introducción.** Clásicamente, la infección por *Mycoplasma pneumoniae* se consideró propia de escolares y adolescentes, pero existe evidencia de que ocurre a edades más tempranas. Esto podría relacionarse con fenómenos sociales, como hacinamiento y concurrencia a centros de cuidado diurno más frecuentemente y tempranamente que hace dos décadas. Determinamos la prevalencia de anticuerpos anti-*Mycoplasma pneumoniae* en niños de 0-12 años de edad y evaluamos si la edad, la asistencia a centro de cuidados diurnos/escuela, el hacinamiento o la convivencia con niños incrementan el riesgo de seropositividad.

**Población, material y métodos.** Este estudio transversal incluyó niños de 0-12 años de edad que requirieron extracciones por cirugía programada. Se excluyeron aquellos con infecciones agudas, patología crónica o alteración inmunitaria conocida. En todos los casos se consignaron las variables a estudiar y se determinó IgG anti-*Mycoplasma pneumoniae* por enzimoimmunoanálisis. Se valoró la asociación entre predictores y seropositividad en un modelo de regresión logística.

**Resultados.** Se incluyeron 355 pacientes, con edad promedio  $4,8 \pm 3,1$  años. Concurrían a centro de cuidado diurno/escuela 57,6%, convivían con menores de 12 años 70,1% y presentaban hacinamiento 27,3%. El 12,4% mostró anticuerpos anti-*Mycoplasma pneumoniae*. Los seropositivos presentaban una edad significativamente mayor que los seronegativos ( $7,1 \pm 3,15$  años contra  $4,4 \pm 3,06$  años,  $p < 0,0001$ ). Luego de controlar por el resto de las variables, la edad permaneció como predictor independiente (OR: 1,19, IC95%: 1,043-1,362).

**Conclusiones.** La prevalencia de seropositividad para *Mycoplasma pneumoniae* en niños de 0-12 años de edad fue 12,4% y la edad se mostró como predictor independiente de ella.

**Palabras clave:** *Mycoplasma pneumoniae*, infección respiratoria, neumonía.

## SUMMARY

**Introduction.** Although *Mycoplasma pneumoniae* is usually assumed as an infection mainly prevalent in school aged children and adolescents, there is evidence supporting that it may occur at younger ages. This could be related to social conditions, like crowding and day care center/school attendance more frequently and at younger ages than two decades ago.

We estimated the prevalence of antibodies anti-

*Mycoplasma pneumoniae* in children aged under 12 years. We also evaluated its association with age, day care center/school attendance, crowding or other children in the household.

**Population and methods.** This cross-sectional study included children aged under 12 years that required blood sampling for surgery. Those with acute infections, chronic diseases or known immunological disorders were excluded. In all cases predictors were recorded, and IgG anti-*Mycoplasma pneumoniae* determined by enzymeimmunoassay. Association between predictors and seropositivity was evaluated by logistic regression.

**Results.** We included 355 children, aged  $4.8 \pm 3.1$  years. 57.6% attended to day care center/school, crowding was present in 27.3% and 70.1% had other children in the household. IgG antibodies anti-*Mycoplasma pneumoniae* were present in 12.4%. Seropositives were older than seronegatives ( $7.1 \pm 3.15$  years vs.  $4.4 \pm 3.06$  years,  $p < 0.0001$ ). After controlling by confounders, age remains as an independent predictor of seropositivity (OR: 1.19, CI 95%: 1.043-1.362).

**Conclusions.** Seroprevalence of *Mycoplasma pneumoniae* IgG antibodies in children aged under 12 years was 12.4%. Age is an independent predictor of seropositivity.

**Key words:** *Mycoplasma pneumoniae*, respiratory infection, pneumonia.

\* Docencia e Investigación.

\*\* División Inmunología.

\*\*\* Departamento Consultorios Externos.

Hospital de Niños "Dr. Pedro de Elizalde", Buenos Aires.

Correspondencia:

Dr. Fernando Ferrero  
fferrero@intramed.net

Recibido: 17-10-2007

Aceptado: 26-11-2007

## INTRODUCCIÓN

Las infecciones respiratorias agudas son importante causa de morbimortalidad en la infancia.<sup>1</sup> Desde 1963, cuando *Mycoplasma pneumoniae* se identificó como uno de los agentes responsables de esta patología y recibió su denominación actual,<sup>2</sup> su significativa prevalencia ha sido claramente establecida.<sup>3-5</sup>

La infección por *Mycoplasma pneumoniae* se consideró durante años como propia del escolar, adolescente o adulto joven, pero datos más recientes indican que ocurre a edades más tempranas.<sup>6</sup> Esto podría estar relacionado con cambios sociales, como la concurrencia a centros de

cuidado diurno con más frecuencia y a edades más tempranas que dos décadas atrás.<sup>7</sup>

Hasta el momento, los esquemas de tratamiento vigentes en nuestro medio se muestran adecuados para enfrentar el problema de la neumonía adquirida en la comunidad,<sup>8</sup> pero es posible que de producirse cambios en el patrón epidemiológico de *Mycoplasma pneumoniae* resultara necesario adecuar dichos tratamientos a esa realidad. Esto hace necesario llevar a cabo estudios epidemiológicos específicos para monitorear las condiciones antes mencionadas.

El presente estudio se llevó a cabo para estimar la prevalencia de anticuerpos anti-*Mycoplasma pneumoniae* en niños de 0-12 años de edad. Como objetivos secundarios se estableció evaluar si la edad constituye un predictor de seropositividad para *Mycoplasma pneumoniae* y si la asistencia a un centro de cuidados diurnos/escuela, el hacinamiento o la convivencia con niños de 0-12 años incrementan el riesgo de ser seropositivo para *Mycoplasma pneumoniae*.

## POBLACIÓN, MATERIAL Y MÉTODOS

Este estudio transversal incluyó niños de 0-12 años de edad, que requirieron extracciones de sangre para estudios prequirúrgicos de cirugía programada en un hospital pediátrico y cuyos responsables (madre, padre o tutor legal) otorgaron el consentimiento escrito para participar en el estudio. Se excluyeron los niños que presentaron procesos infecciosos agudos, cualquier patología crónica o alteración conocida de la inmunidad.

Se seleccionó a los pacientes de la espera del servicio de extracciones del hospital, en forma consecutiva, hasta alcanzar el tamaño muestral calculado para cada uno de los tramos etarios (0-2 años, 3-5 años y 6-12 años). Luego de obtener el correspondiente consentimiento se interrogó sobre los predictores elegidos, se realizó la extracción e identificó la muestra de sangre.

Se definieron las siguientes variables:

Variable de predicción: Edad, expresada en años (calculada a partir de fecha de nacimiento y fecha de extracción).

Variable de resultado: Serología para *Mycoplasma pneumoniae*, considerada como "positiva" o "negativa" de acuerdo al valor límite o de corte ("cut-off") expresado en el apartado correspondiente a la prueba diagnóstica.

Variables de control:

- Asistencia a centro de cuidado diurno/escuela (se consideró como tal asistencia a centros de cuidado o educación, mayor de 4 h diarias du-

rante al menos 3 veces por semana en los últimos 2 meses).

- Hacinamiento (se consideró como tal más de 3 convivientes por habitación distinta de baño y cocina).
- Convivencia con niños de 0-12 años (se consignó el número de convivientes de esa franja etaria).

Enmascaramiento: El responsable de laboratorio fue ciego a los datos de los sujetos.

Procedimiento de laboratorio: Se obtuvo al menos 1,5 cm<sup>3</sup> de sangre por venopunción a partir de la muestra necesaria para los estudios prequirúrgicos solicitados. El suero resultante se fraccionó en dos alícuotas; una de ellas, de al menos 0,3 cm<sup>3</sup>. Las muestras se almacenaron en criotubos de 1,5 cm<sup>3</sup>, en envases distintos para ambas alícuotas de un mismo paciente, y congeladas a -20 °C hasta su procesamiento.

La determinación de anticuerpos anti-*Mycoplasma pneumoniae* (IgG) se efectuó por medio de enzimoimmunoanálisis (EIA), con el equipo de Vircell S.L. (Granada, España). Se procesaron las muestras con un valor límite de 0,71 (establecido por el fabricante).

De acuerdo a lo establecido en el protocolo, se procedió a informar los resultados de la serología a los pacientes cuando estuvieron disponibles.

Consideraciones estadísticas: El tamaño muestral se determinó en base a la prevalencia de anticuerpos anti-*Mycoplasma pneumoniae* (IgG) conocida, para 3 diferentes tramos etarios (0-2, 3-5 y 6-12 años). Dicho cálculo se efectuó a partir de datos de un estudio anterior llevado a cabo en nuestro medio, en el que la prevalencia de seropositividad fue, aproximadamente, 10% para el grupo de 0-2 años, 25% para el de 3-5 años y 30% para el de 6-12 años.<sup>6</sup> A los fines del presente cálculo se tuvo en cuenta un número aproximado de 400 pacientes potencialmente elegibles asistidos trimestralmente por el servicio de cirugía, con una distribución etaria de 25% entre 0 y 2 años, 38% entre 3 y 5, y 35% entre 6 y 12. De esta manera, para una precisión de  $\pm 10\%$  y un nivel de confianza de 95%, se requerían 96 sujetos de 0-2 años, 128 de 3-5 años y 98 de 6-12 años. Asumiendo la posibilidad de hasta un 5% de sueros no evaluables, se decidió incorporar 100, 135 y 104 sujetos, respectivamente, seleccionados en forma consecutiva.

Se determinó la prevalencia de seropositividad para *Mycoplasma pneumoniae* en cada grupo etario. Se analizó la diferencia entre las edades de seropositivos y seronegativos por medio de la prueba de t. Se evaluó la asociación entre los predictores

y el estado serológico por medio de chi cuadrado, calculando los correspondientes OR y sus intervalos de confianza al 95%. Finalmente, se valoró la edad como predictor de seropositividad por medio de regresión logística, en un modelo que incluyó asistencia a centro de cuidado diurno/escuela, hacinamiento y convivientes menores como variables de control. Se consideró un nivel de significación  $< 0,05$ . Para el procesamiento estadístico se utilizó SPSS 10.0 (SPSS Inc, Chicago, 1999).

Consideraciones éticas: El estudio se guió por las normas de buenas prácticas clínicas, la Declaración de Helsinki y la normativa del Gobierno de la Ciudad de Buenos Aires vigente. Se obtuvo la aprobación del Comité de Ética y del Comité de Docencia e Investigación del Hospital y el proyecto fue registrado en el Consejo de Investigaciones en Salud del Gobierno de la Ciudad de Buenos Aires. En todos los casos se obtuvo el consentimiento informado de los responsables de los pacientes para participar en el estudio y se garantizó la confidencialidad de la identidad de los sujetos, de acuerdo a los procedimientos establecidos en el protocolo.

## RESULTADOS

Se incluyeron 355 pacientes (65,4% varones), con una edad promedio de  $4,8 \pm 3,1$  años. De ellos,

109 (30,7%) pertenecían al grupo de 0-2 años de edad, 137 (38,6%) al de 3-5 años y 109 (30,7%) al de 6-12 años.

Concurrían a centro de cuidado diurno/escuela 205 pacientes (57,6%), convivían con menores de 12 años de edad 249 (70,1%), presentaban hacinamiento 97 pacientes (27,3%).

La presencia de anticuerpos anti-*Mycoplasma pneumoniae* fue positiva en 44 (12,4%) pacientes.

Al estratificar por grupos de edad se verificó que la proporción de seropositivos en el grupo de 0-2 años era de 3,6%, en el de 3-5 años de 9,4% y en el de 6-12 años 24,7%.

Los niños seropositivos para *Mycoplasma pneumoniae* presentaron una edad significativamente mayor que los seronegativos ( $7,1 \pm 3,15$  años contra  $4,4 \pm 3,06$  años,  $p < 0,0001$ ). Mediante análisis de curva ROC se estimó a 4,5 años como el mejor valor límite o punto de corte para predecir la seropositividad para *Mycoplasma pneumoniae* (Figura 1). Este valor presenta sensibilidad de 84,1% (IC 95%: 69,3-92,8), especificidad de 55,3% (IC 95%: 49,6-60,9), valor predictivo positivo de 21,0% (IC 95%: 15,4-27,9), valor predictivo negativo de 96,1% (IC 95%: 91,8-98,3), razón de verosimilitud positiva 1,88 (IC 95%: 1,51-2,33) y razón de verosimilitud negativa 0,29 (IC 95%: 0,25-0,35).

Al efectuar el análisis bivariado de las variables a controlar, sólo se encontró asociación entre seropositividad para *Mycoplasma pneumoniae* y asistencia a centro de cuidado diurno/escuela (Tabla 1). Más aun, en los menores de 5 años, la proporción de seropositivos fue significativamente mayor entre los que concurrían a guardería (8/58) que entre los que no lo hacían (5/146) ( $p = 0,006$ ) (OR: 4,5 IC 95%: 1,2-16,7).

Sin embargo, al efectuar el análisis multivariado, una vez realizados los ajustes por asistencia a centro de cuidado diurno/escuela, convivientes menores de 12 años y hacinamiento, sólo la mayor edad permaneció como predictor independiente de seropositividad para *Mycoplasma pneumoniae* (Tabla 2).

FIGURA 1. Estimación del mejor punto en que la edad predice seropositividad para *Mycoplasma pneumoniae* por medio de la curva de eficacia diagnóstica (ROC)

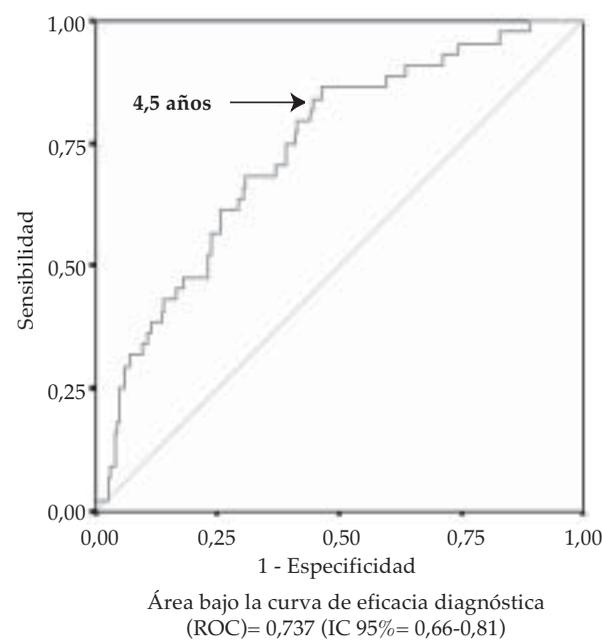


TABLA 1. Análisis bivariado de la asociación entre los predictores establecidos y la seropositividad para *Mycoplasma pneumoniae*

	p	OR	IC 95%
Asistencia a guardería/escuela	$< 0,0001$	6,83	2,61 - 17,74
Hacinamiento	0,14	0,54	0,24 - 1,23
Conviviente $< 12$ años de edad	0,16	1,15	0,57 - 2,34

## DISCUSIÓN

*Mycoplasma pneumoniae* ha demostrado ser una causa frecuente de infecciones respiratorias en niños. En nuestro estudio, la prevalencia de anticuerpos anti-*Mycoplasma pneumoniae* en niños de 0-12 años de edad fue 12,4%.

Este valor es sensiblemente inferior al comunicado por Ponka<sup>9</sup> (alrededor de 70%), y Rastawicki<sup>10</sup> (hasta 42%). Sin embargo, debe contemplarse que ambos estudios utilizaron determinación de anticuerpos por medio de fijación de complemento y que las muestras fueron obtenidas de niños con sintomatología respiratoria. Además, se debe tener en cuenta que la prueba de fijación de complemento tiene baja especificidad<sup>11</sup> y que el valor de corte asumido por Ponka no es exigente. Mediante un método más específico (aglutinación de micropartículas), Daxboeck<sup>12</sup> refiere 26% de seropositividad en menores de 10 años.

Cuando se considera seroprevalencia para *Mycoplasma pneumoniae* en niños sanos, al igual que en este estudio, existe menos información para comparar. Tuuminen en Finlandia<sup>13</sup> comunicó una prevalencia de 13-19% en menores de 4 años y Ferrero, en Argentina, de 10-23% en menores de 13 años.<sup>6</sup> En ambos estudios se utilizó una EIA, pero en el último se determinaron anticuerpos totales y no sólo IgG específica.

La proporción de niños seropositivos en nuestro estudio se incrementó significativamente con la edad, hecho que concuerda con lo observado por Tuuminen<sup>13</sup>. Esta asociación se verificó de manera independiente de la asistencia a centros de cuidado diurno, la convivencia con menores o el hacinamiento.

Nuestro estudio encontró que la asociación entre incremento de la edad y seropositividad para *Mycoplasma pneumoniae* se torna evidente a partir de los 4,5 años de edad, dato que coincide con lo observado por estudios anteriores.<sup>6,13</sup>

Tabla 2. Análisis multivariado de la asociación entre los predictores establecidos y la seropositividad para *Mycoplasma pneumoniae*

	Significación	OR	IC 95%
Asistencia a guardería/escuela	0,090	2,790	0,853 - 9,129
Hacinamiento	0,175	0,548	0,230 - 1,306
Conviviente			
< 12 años de edad	0,792	1,110	0,510 - 2,417
Edad	0,010	1,192	1,043 - 1,362
Constante $\beta$	0,000	0,025	

Los cambios sociales,<sup>14</sup> específicamente la concurrencia a centros de cuidado diurno más temprana y frecuentemente que hace dos décadas,<sup>7</sup> se han mencionado como responsables de la infección por *Mycoplasma pneumoniae* a edades menores. Nuestro estudio, efectivamente, encontró que la asistencia a estos centros incrementa el riesgo de seropositividad, especialmente en menores de 5 años de edad. Sin embargo, luego de controlar por edad esta asociación deja de verificarse. La interpretación de este hecho es compleja, pero es posible que el incremento de la interacción social con la edad juegue un papel de importancia, aunque no puede descartarse la intervención de factores estrictamente biológicos.

Una potencial debilidad de nuestro estudio es que no se desarrolló con base poblacional. Sin embargo, los estrictos criterios de exclusión adoptados deben haber limitado considerablemente el posible sesgo que ello representa.

No debe olvidarse que la neumonía sigue siendo una importante causa de morbimortalidad en la infancia<sup>15</sup> y *Mycoplasma pneumoniae* puede ser responsable de 15-20% de ellas.<sup>5,16,17</sup> Incrementar el conocimiento sobre su epidemiología es consistente con un manejo adecuado del problema.<sup>18</sup>

A pesar de sus limitaciones, este estudio colabora con datos actuales sobre la prevalencia de un microorganismo de reconocida trascendencia. Debido a que el estudio abarcó un año, incorporó niños de diferentes intervalos etarios y se trató de pacientes sin síntomas respiratorios, es razonable asumir que nuestros datos reflejan la línea de base de seroprevalencia para nuestra población.

## CONCLUSIÓN

En nuestro estudio, la prevalencia de anticuerpos anti-*Mycoplasma pneumoniae* en niños de 0-12 años de edad fue 12,4%. La mayor edad se mostró como predictor independiente de seropositividad para *Mycoplasma pneumoniae*, luego de controlar por asistencia a centro de cuidado diurno/escuela, convivientes menores de 12 años y hacinamiento. ■

## BIBLIOGRAFÍA

- McIntosh K. Community-acquired pneumonia in children. *N Engl J Med* 2002; 346(6):429-37.
- Chanock R, Hayflick L. *Mycoplasma pneumoniae*: Proposed nomenclature for atypical pneumonia organism (Eaton agent). *Science* 1963;140.
- Hammerschlag MR. *Mycoplasma pneumoniae* infections. *Curr Opin Infect Dis* 2001; 14(2):181-6.
- Principi N, Esposito S. *Mycoplasma pneumoniae* and *Chlamydia pneumoniae* cause lower respiratory tract disease in paediatric patients. *Curr Opin Infect Dis* 2002; 15(3):295-300.

5. Michelow IC, Olsen K, Lozano J, et al. Epidemiology and clinical characteristics of community-acquired pneumonia in hospitalized children. *Pediatrics* 2004; 113(4):701-7.
6. Ferrero F, Ossorio M. Prevalencia de anticuerpos anti-*Mycoplasma pneumoniae* en pediatría. *Rev Chil Pediatr* 1995; 66(3):167-168.
7. Lind K, Benzon MW, Jensen JS, Clyde WA, Jr. A seroepidemiological study of *Mycoplasma pneumoniae* infections in Denmark over the 50-year period 1946-1995. *Eur J Epidemiol* 1997; 13(5):581-6.
8. Comités Nacionales de Neumonología, Epidemiología, Infectología y Medicina Interna. Recomendaciones para el diagnóstico y tratamiento de las infecciones respiratorias agudas bajas en menores de 2 años. *Arch Argent Pediatr* 2006; 104(2):159-176.
9. Ponka A, Ukkonen P. Age-related prevalence of complement-fixing antibody to *Mycoplasma pneumoniae* during an 8-year period. *J Clin Microbiol* 1983; 17(4):571-5.
10. Rastawicki W, Kaluzewski S, Jagielski M. Occurrence of serologically verified *Mycoplasma pneumoniae* infections in Poland in 1970-1995. *Eur J Epidemiol* 1998; 14(1):37-40.
11. Daxboeck F, Krause R, Wenisch C. Laboratory diagnosis of *Mycoplasma pneumoniae* infection. *Clin Microbiol Infect* 2003; 9(4):263-73.
12. Daxboeck F, Kircher K, Krause R, et al. Effect of age on antibody titer to *Mycoplasma pneumoniae*. *Scand J Infect Dis* 2002; 34(8):577-9.
13. Tuuminen T, Varjo S, Ingman H, et al. Prevalence of *Chlamydia pneumoniae* and *Mycoplasma pneumoniae* immunoglobulin G and A antibodies in a healthy Finnish population as analyzed by quantitative enzyme immunoassays. *Clin Diagn Lab Immunol* 2000; 7(5):734-8.
14. Rastawicki W, Kaluzewski S, Jagielski M, Gierczynski R. Changes in the epidemiological pattern of *Mycoplasma pneumoniae* infections in Poland. *Eur J Epidemiol* 2003; 18(12):1163-4.
15. Mulholland K. Global burden of acute respiratory infections in children: implications for interventions. *Pediatr Pulmonol* 2003; 36(6):469-74.
16. Ferrero F, Ossorio M, Eriksson P, et al. Epidemiology of *Mycoplasma pneumoniae* in children. *Pediatr Res* 1999; 43(3):426.
17. Heiskanen-Kosma T, Korppi M, Jokinen C, et al. Etiology of childhood pneumonia: serologic results of a prospective, population-based study. *Pediatr Infect Dis J* 1998; 17(11):986-91.
18. Mulholland K. Childhood pneumonia mortality-a permanent global emergency. *Lancet* 2007; 370(9583):285-9.