



Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica

www.elsevier.es/eimc



Revisión

Diagnóstico microbiológico de las infecciones por *Mycoplasma*

María Antonia Meseguer-Peinado^{a,*}, Beatriz Acosta-Boga^b, Lurdes Matas-Andreu^c y Gemma Codina-Grau^d

^a Servicio de Microbiología, Hospital Universitario Ramón y Cajal, Madrid, España

^b Servicio de Microbiología, Hospital Universitari La Fe, Valencia, España

^c Servei de Microbiologia, Hospital Universitari Germans Trias i Pujol, Barcelona, España

^d Gemma Codina Grau, Servei de Microbiologia, Hospital Universitari Vall d'Hebron, Barcelona, España

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido el 14 de octubre de 2011

Aceptado el 18 de octubre de 2011

On-line el 27 de abril de 2012

Palabras clave:

Mycoplasma
Ureaplasma
Diagnóstico serológico
PCR
Infección respiratoria
Infección urogenital
Corioamnionitis
Infecciones del neonato

Keywords:

Mycoplasmas
Ureaplasmas
Serological diagnosis
PCR
Respiratory tract infection
Urogenital infections
Chorioamnionitis
Neonatal infections

R E S U M E N

El diagnóstico microbiológico de las infecciones causadas por micoplasmas y ureaplasmas se ha visto siempre limitado por el crecimiento muy dificultoso de estos microorganismos, la falta de medios de cultivo comercializados, la ausencia de procedimientos diagnósticos rápidos y la percepción clínica extendida de que estos microorganismos tienen una importancia menor en el contexto de las enfermedades infecciosas. Esta situación ha cambiado notablemente en los últimos años gracias a la comercialización de los medios de cultivo, al desarrollo de técnicas rápidas de diagnóstico serológico y, especialmente, por la aplicación de métodos de amplificación de ácidos nucleicos, comercializados o desarrollados en el propio laboratorio. Aunque se acusa la falta de estandarización y validación de las técnicas moleculares y serológicas, el avance en la metodología ha propiciado un aumento en su detección y, en consecuencia, en la apreciación de la importancia clínica de estos microorganismos.

© 2011 Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

Microbiological diagnosis of *Mycoplasma* infections

A B S T R A C T

The microbiological diagnosis of mycoplasma and ureaplasma infections has always been limited due to the fastidious growth of these microorganisms, as well as the lack of commercially prepared growth media, absence of rapid diagnostic procedures, and the clinical perception that these organisms are less significant in the infectious diseases setting. During the last few years, this situation has substantially improved due to the commercial availability of culture media, the development of rapid serological techniques, and, in particular, to the introduction of nucleic acid amplification assays, commercially available or “in-house” preparations. Despite the lack of proper standardisation and validation of the molecular and serological techniques, methodological advances have led to an increased detection of these microorganisms and, consequently, a greater appreciation of their clinical relevance.

© 2011 Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Introducción

Las bacterias de los géneros *Mycoplasma* y *Ureaplasma* pertenecen a la clase *Mollicutes* («piel blanda») y constituyen un grupo de microorganismos complejos, sofisticados y únicos por su naturaleza entre los procariotes. Filogenéticamente derivan

de un subgrupo de bacterias grampositivas (*Bacillus*, *Lactobacillus*, *Clostridium* y, principalmente, *Streptococcus*) de las que divergieron hace 600 millones de años mediante un largo proceso de evolución reductiva que llevó a la pérdida de la pared celular y a una acusada reducción gradual del genoma. Este proceso reductivo determinó las tres características biológicas que los hace únicos entre el resto de las bacterias, así como su comportamiento con el huésped: 1) carencia de pared celular y tamaño más pequeño conocido en un microorganismo de vida libre, tanto en la dimensión celular (0,2–0,8 µm) como genómica; 2) muy escasa dotación de vías

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: mmeseguer.hrc@salud.madrid.org (M.A. Meseguer-Peinado).

metabólicas, ausencia de genes para la síntesis de aminoácidos y muy pocos genes para la biosíntesis de vitaminas, precursores de ácidos nucleicos, ácidos grasos y colesterol, lo que implica una total dependencia de su aporte exógeno, ya a partir de las células del hospedador o de los complejos y enriquecidos medios de cultivo y, como consecuencia de lo anterior; 3) la íntima relación microorganismo-huésped, que se manifiesta como parasitismo de superficie de las células epiteliales, células del sistema inmunitario y localización intracelular, en algunas especies.

De las 14 especies aisladas en el hombre, 12 pertenecen al género *Mycoplasma* y 2 (*Ureaplasma biovar parvum* y *Ureaplasma urealyticum*) al género *Ureaplasma*. Seis de las 14 especies tienen el tracto genitourinario como su principal lugar de colonización.

La carencia de pared celular explica algunas propiedades que les son únicas, como la susceptibilidad al choque osmótico y a los detergentes, resistencia a los antibióticos β -lactámicos y la gran plasticidad de la célula, que da lugar a la formación de las típicas colonias en forma de «huevo frito» por penetración del microorganismo dentro de las trabéculas del agar.

Según sus capacidades metabólicas, los micoplasmas se dividen en fermentativos de la glucosa e hidrolizantes de la arginina mediante una arginina dihidrolasa, con cuya actividad degradante generan ATP por fosforilización a nivel de sustrato. Los mollicutes del género *Ureaplasma* son únicos por requerir urea para crecer y por poseer una potente ureasa cuya actividad hidrolizante de la urea está acoplada a la síntesis de ATP.

Presentan morfologías muy variables, esféricas, filamentosas y algunas especies patógenas poseen una estructura terminal u «orgánulo para la adherencia», de organización muy compleja, integrada por una red de proteínas de la membrana que conforman un citoesqueleto y, además, participan en la división celular y en la movilidad por desplazamiento.

La mayoría de los micoplasmas viven en el hospedador como comensales de los epitelios de las mucosas de los tractos respiratorio y urogenital a los que se adhieren tenazmente. La adherencia es el requisito previo para la colonización y la infección, permitiéndoles lesionar a la célula hospedadora e interferir en su metabolismo. Algunas especies son capaces de penetrar en una amplia variedad de células humanas tanto *in vitro* como *in vivo*, con supervivencia intracelular prolongada y protección frente al sistema inmunitario del huésped y la acción de los antibióticos.

La introducción de los métodos moleculares al estudio de estos microorganismos ha aumentado el conocimiento de los mecanismos de patogenicidad a nivel subcelular.

Entre los factores de virulencia conocidos figuran: orgánulos para la adherencia y la penetración celular (*M. pneumoniae*, *M. genitalium*, *M. fermentans* y *M. penetrans*); secreción de enzimas (tirosina fosfatasa, que participa en el proceso de interiorización de *M. fermentans* y de *M. pneumoniae* en las células hospedadoras); secreción de exonucleasas para el acceso a los nucleótidos de la célula hospedadora; presencia de fracciones proteicas letales (*M. fermentans*); secreción de toxinas (*M. pneumoniae*); producción de variaciones de fase y tamaño en los principales antígenos y lipoproteínas de superficie de su membrana para evadir la respuesta inmunitaria del huésped y pasar desapercibidos; efecto inmunomodulador sobre el sistema inmunitario del individuo, mediante la inducción de una respuesta de anticuerpos específicos, pero también mediante la producción de una respuesta inmunitaria exacerbada y lesiva por su capacidad de estimular o suprimir varias estirpes de linfocitos de forma policlonal e inespecífica; inducción de la expresión y secreción de una amplia variedad de citocinas (TNF- α , IL-1, IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-12, IL-16, IL-18, etc., e interferón- γ) por activación de macrófagos, monocitos, células endoteliales, células epiteliales y otras células y, por último, capacidad de penetración intracelular de algunas especies (*M. pneumoniae*, *M. genitalium*,

M. fermentans y *M. penetrans*) con distribución citoplásmica y perinuclear en una amplia gama de tipos de células humanas.

Consideraciones clínicas

No cabe duda de que la aplicación de los métodos moleculares ha revolucionado el conocimiento de estos microorganismos, de sus bases patológicas moleculares y de su interacción con el sistema inmunitario del hospedador. Ello ha permitido que se vaya perfilando con mayor exactitud el papel etiológico de las diferentes especies de micoplasmas y *Ureaplasma* en diversos procesos infecciosos con los que, con anterioridad, solo presentaban una relación de asociación. Además, en la actualidad, es un hecho reconocido que la intensidad de las manifestaciones clínicas de las infecciones por micoplasmas están directamente relacionadas con el grado de respuesta inmunitaria del hospedador a la infección.

Infecciones por *Mycoplasma pneumoniae*

M. pneumoniae es un patógeno respiratorio significativo (responsable de hasta el 40% de las neumonías de adquisición comunitaria) en personas de todas las edades, en ocasiones causante de infecciones pulmonares graves e inductor de manifestaciones clínicas extrapulmonares importantes (neurológicas, cardiológicas, cutáneas, hematológicas, etc.) originadas por invasión directa, con detección/cultivo del microorganismo, y/o por efectos inmunológicos¹⁻⁴.

M. pneumoniae es un microorganismo intracelular facultativo, dotado con un «orgánulo» (principal factor de virulencia) mediante el cual establece una íntima unión con las células de los epitelios respiratorios y de otras localizaciones extrapulmonares¹. Posee otros factores de virulencia, como la secreción de H₂O₂ y O₂⁻ responsables de la lesión oxidativa de la membrana de la célula hospedadora², y la secreción de una toxina (CARDS) ADP-ribosilante de las proteínas de la célula hospedadora⁵, factores, ambos, productores de efectos histopatológicos superponibles de ciliostasis, vacuolización y descamación de las células del epitelio bronquial a las 48-72 horas; secreción de una nucleasa citotóxica (Mpn 133) que contiene la región (EKS), única entre las demás especies de micoplasmas, esencial para su paso a través de las membranas citoplásmica y nuclear de la célula hospedadora⁶, y, por último, la capacidad de penetración y supervivencia intracelular en una amplia variedad de células y tejidos⁷.

En cuanto al diagnóstico microbiológico de las infecciones por *M. pneumoniae*, a pesar de los progresos técnicos, todavía presenta limitaciones y adolece de falta de estandarización de los métodos⁸. En la actualidad, la PCR en tiempo real combinada con la serología constituye la mejor opción diagnóstica. El cultivo, la detección de antígenos y las sondas de ADN no son aconsejables por su baja sensibilidad.

Aunque la serología es la metodología más empleada y su especificidad ha mejorado considerablemente presenta limitaciones, como la alta seroprevalencia de anticuerpos IgG a títulos bajos en la población y la potencial ausencia de anticuerpos IgM en los adultos, lo que en muchos casos hace necesario el estudio de ambos tipos de anticuerpos en los sueros de las fases aguda y de convalecencia.

El individuo inmunocompetente produce una respuesta rápida de anticuerpos (frente a la proteína P1 y los glicolípidos de la membrana de *M. pneumoniae*), que llega a su máximo en 21-40 días para ir disminuyendo en meses o años⁹. La respuesta inicial de IgM específica aparece durante la primera semana de la infección y unas 2 semanas antes de la IgG. La respuesta de IgM, importante en la población infantil, puede no observarse en la población adulta, que generalmente ha sido infectada repetidamente por *M. pneumoniae*. Así, la ausencia de IgM no descarta la infección ni

tampoco su presencia la confirma, dado que puede persistir meses o incluso años^{1,10}. Los anticuerpos IgG específicos pueden permanecer elevados durante un tiempo prolongado de hasta cuatro años. Así, títulos bajos de anticuerpos IgG pueden indicar infección reciente o pasada. En esta situación, una segunda determinación a las 2-3 semanas permite demostrar un aumento significativo en el título de anticuerpos. Las determinaciones de IgM e IgG realizadas en el suero de la fase de convalecencia proporcionan un aumento importante de los resultados positivos respecto de las determinaciones en el suero de la fase aguda (80 y 50%, respectivamente)¹⁰, por lo que la tendencia es realizar técnicas que detecten ambos tipos de anticuerpos conjuntamente en la fase aguda y, si es necesario, en la fase de convalecencia, como las actuales técnicas de aglutinación de partículas sensibilizadas que, además, pueden proporcionar el resultado en cuatro horas¹¹. Los ensayos inmunoensayos (EIAS) cuantitativos son las pruebas más empleadas, sobre todo para la IgM, si bien la detección de IgG requiere siempre la demostración de un incremento significativo de los títulos en sueros pareados.

El empleo cada vez más extendido de la PCR en tiempo real (casera o comercial) frente a la adhesina P1 (la diana más escogida) proporciona resultados rápidos, específicos y de sensibilidad variable, dependiendo de las técnicas empleadas y el «gold standard» con el que se comparen, aunque en general elevada^{11,12}. La disponibilidad de equipos comerciales (siempre con la marca CE) con amplificación simultánea de múltiples dianas, controles internos y, cada vez más frecuentemente, automatizados, supone una aproximación diagnóstica muy atractiva para el diagnóstico de los diferentes agentes etiológicos de la neumonía de adquisición comunitaria (*M. pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae*, *Legionella* spp. y otros agentes)¹³.

La PCR está especialmente indicada para la detección de *M. pneumoniae* en los síndromes extrapulmonares, especialmente cuando no hay infección respiratoria manifiesta, siempre que se aplique a muestras representativas de los órganos afectados (líquido cefalorraquídeo, pericárdico, articular, sangre, etc.).

La reciente demostración de la potente inmunogenicidad de la toxina CARDS, muy superior a la observada con la proteína P1, así como de la sensibilidad del gen de la toxina CARDS 10 veces superior a la del gen de la proteína P1, cuando se utilizan como dianas de la PCR, abren nuevas expectativas para el diagnóstico serológico y por PCR de las infecciones por *M. pneumoniae*¹⁴. Igualmente, la aplicación de la espectroscopia RAMAN realizada con nanobastones de plata¹⁵ y de la tecnología PLEX-ID (combinación de la PCR con la espectrometría de masas) para la detección rápida y muy sensible de *M. pneumoniae* en muestras clínicas proporcionan atractivas estrategias diagnósticas para el futuro.

Infecciones por micoplasmas urogenitales

El grupo de microorganismos denominados «micoplasmas genitales» por su localización en las mucosas del tracto urogenital incluye las especies *M. hominis* y *M. genitalium*, y el género *Ureaplasma* spp. (con sus dos biovariedades *U. parvum* y *U. urealyticum*). Estos microorganismos, así como *M. fermentans*, además de colonizar normalmente las mucosas urogenitales de las personas sanas sexualmente activas, se asocian con infecciones de dicho tracto en el hombre y en la mujer, además de producir patología infecciosa que afecta al embarazo, parto, feto y neonato. *M. spermophilum* y *M. penetrans* (especie estrictamente asociada a la positividad al VIH) son también colonizadores, pero se desconoce el tipo de implicación clínica.

M. genitalium y *M. penetrans* poseen orgánulos para la adhesión y la penetración intracelular. *M. hominis* y *Ureaplasma* spp. poseen antígenos (Vaa y MB, respectivamente), que presentan una elevada variabilidad de fase, alta inmunogenicidad y se relacionan

con la respuesta inflamatoria del hospedador. Ambas especies producen toxicidad local por liberación de radicales amonio, como producto final de su metabolismo. Otros factores de virulencia son la secreción de proteasas que escinden la IgA y la secreción de fosfolipasas A1, A2 y C por *Ureaplasma* spp. (que por una parte, actúan sobre los fosfolípidos de la placenta e indirectamente sobre la síntesis de las prostaglandinas desencadenantes del parto y, por otra parte, alteran la función surfactante del pulmón del feto). Actualmente, la información disponible sobre el grado de asociación de estos microorganismos con diferentes entidades clínicas permite establecer un papel etiológico definitivo con algunas de ellas.

Ureaplasma spp. es causa de uretritis y prostatitis crónicas en proporciones aún no claramente determinadas. Por el contrario, la detección por PCR ha demostrado el papel indiscutible de *M. genitalium* en la uretritis aguda en ambos sexos (8-29% en varones y 4,5% en mujeres)¹⁶⁻¹⁸, así como su fuerte asociación con la cervicitis (superior al 20%)^{17,19}, endometritis y enfermedad inflamatoria pélvica.

Ni *Ureaplasma* spp. ni *M. hominis* están implicados en la vaginitis, aunque *M. hominis* puede ser un cofactor de la vaginosis bacteriana considerada a su vez como factor de riesgo para los efectos adversos en el embarazo¹⁸. Ambas especies se asocian a enfermedad inflamatoria de la pelvis y a la pielonefritis crónica de reflujo (7-9%). La ureasa de *Ureaplasma* spp. induce la cristalización del fosfato amónico magnésico de la orina, formando cálculos de estruvita.

M. hominis y, con mayor preponderancia, *Ureaplasma* spp. se asocian con una serie de condiciones que pueden afectar, en determinadas subpoblaciones, a la mujer embarazada, al feto en desarrollo y al neonato. Está demostrado clínicamente y experimentalmente que *Ureaplasma* spp. puede invadir desde la vagina el saco amniótico e inducir en las membranas una respuesta inflamatoria mediada por citocinas que da lugar a corioamnionitis. La corioamnionitis, crónica y silenciosa, es el eje de la patología materno-fetal y se asocia a complicaciones maternas, como aborto, rotura prematura de membranas, parto pretérmino y endometritis posparto, y a complicaciones fetales y neonatales, como parto prematuro, neumonía congénita y displasia broncopulmonar^{17,18,20,21}. La asociación de *Ureaplasma* spp. (en especial *U. parvum*) con la displasia broncopulmonar del recién nacido de bajo peso es indiscutible. *Ureaplasma* spp. induce lesiones en el pulmón y cerebro pretérmino mediadas por la respuesta inflamatoria de la placenta, en las que el momento, la duración y la intensidad de la respuesta inflamatoria son los principales determinantes del tipo de desenlace²². La exposición prolongada del feto a las citocinas inflamatorias inhibe el desarrollo alveolar, contribuyendo a la septación anormal del pulmón pretérmino y a la fibrosis pulmonar²³.

Por otra parte, tanto *M. hominis* como *Ureaplasma* spp. pueden causar infecciones sistémicas como bacteriemia postparto y posparto en la madre y bacteriemia y meningitis en el recién nacido¹⁸. También, infecciones de heridas quirúrgicas, mediastinitis tras cirugía torácica, artritis en niños y adultos, así como infecciones oportunistas en pacientes inmunodeprimidos.

Diagnóstico microbiológico

El diagnóstico de las infecciones por *M. pneumoniae* se basa en su detección por PCR combinada con la serología. El cultivo reservado para laboratorios especializados es lento y de baja sensibilidad.

Por el contrario, el diagnóstico de las infecciones por micoplasmas urogenitales se basa en el cultivo y en la detección por PCR, pero no en la serología.

Obtención, transporte y conservación de las muestras

Las muestras respiratorias adecuadas para el cultivo/detección por PCR de *M. pneumoniae* o *Ureaplasma* spp. son todas las

procedentes de los tractos respiratorios superior e inferior. Las muestras para cultivo/detección de *M. pneumoniae* en localizaciones extrapulmonares son las representativas del órgano afectado: líquido cefalorraquídeo, pericárdico, articular, etc⁸.

Las muestras adecuadas para el estudio de la uretritis son el exudado uretral y para el estudio de la prostatitis crónica los exudados uretral, prostático y/o semen⁸.

En la mujer, el exudado endocervical o la orina son muestras válidas para el diagnóstico de cervicitis por *M. genitalium*, mientras que las muestras para el diagnóstico de endometritis y enfermedad inflamatoria de la pelvis deben obtenerse por métodos invasivos (laparoscopia o durante la cirugía). Igualmente, para el diagnóstico de la pielonefritis, la orina deberá obtenerse por punción suprapúbica para evitar la contaminación con micoplasmas colonizadores de la uretra. Las muestras de sangre deberán recogerse sin heparina (inhibición de la PCR)⁸.

Para la toma y conservación de las muestras deben seguirse las normas convencionales con algunas consideraciones⁸. 1) Las tomas con torundas se harán mediante frotado vigoroso, ya que los micoplasmas se encuentran firmemente adheridos a las células epiteliales. 2) No utilizar torundas de algodón con vástago de madera (efecto inhibitorio). 3) Transporte inmediato al laboratorio, en especial de las torundas (sensibilidad a la desecación). 4) Las torundas deberán inocularse inmediatamente en el medio de cultivo (cultivos cuantitativos) o en medio de transporte, al igual que los tejidos. 5) Los esputos y líquidos orgánicos (LCR, amniótico, semen, orina, etc.) no requieren medio de transporte si se van a procesar en el plazo de una hora desde su obtención.

Para la determinación de anticuerpos específicos deberán obtenerse sueros de la fase aguda y de la fase de convalecencia (3 semanas).

Antes de la inoculación, las muestras pueden mantenerse a 4 °C durante 24 horas. Para períodos de tiempo mayores, se congelarán a -70 °C. No archivar a -20 °C.

Los criterios de aceptación y rechazo serán los considerados para otros tipos de muestras

Procesamiento

Las torundas introducidas directamente en los medios de transporte o caldos de cultivo se exprimrán contra las paredes del tubo y luego se desecharán. En los líquidos orgánicos se inoculará el sedimento obtenido previa centrifugación a 600-1.000 rpm durante 15 minutos. Los tejidos se trocearán con bisturí en pequeñas piezas (nunca se homogeneizarán). Las muestras de sangre se diluirán 1/10 en medio de transporte o en el medio de cultivo. Se inocularán caldos y placas de agar simultáneamente para mayor rapidez de detección⁸.

Para la realización de la PCR, el volumen mínimo aceptable es de 200 µl.

Medios de cultivo y condiciones de incubación

Para el cultivo de *M. pneumoniae* se utilizan los medios SP-4 de Tully (caldo y agar) o el agar de Hayflicks, preparados en el propio laboratorio o comerciales (Medio SP-4, Remel Laboratorios, Lenexa, o el medio bifásico Mycotrim RS. Irving Scientific)⁸.

Para el cultivo de *Ureaplasma* spp. y *M. hominis* se utilizan el caldo 10B o 10C de Shepard y el caldo arginina, respectivamente. El agar diferencial A7 y sus modificaciones A7B y A8 son particularmente útiles porque permiten la diferenciación de ambas especies por la morfología de las colonias. También existen formulaciones comerciales, como los caldos Mycotrim Triphasic® y el kit U/A LYO bioMeriëux (combinación urea-arginina), útiles para la detección y cuantificación simultánea de *Ureaplasma* spp. y *M. hominis* en los

laboratorios que solo realizan cultivos de micoplasmas de forma ocasional⁸.

Los caldos se incuban a 37 °C en aerobiosis durante 6 semanas para *M. pneumoniae* y 5 días para el crecimiento de los micoplasmas urogenitales. Las placas de agar se incuban con 5-10% de CO₂, imprescindible para el crecimiento de las colonias de *Ureaplasma* spp. y beneficioso para el crecimiento de las colonias de *M. hominis* y *M. pneumoniae*. Los caldos se observarán diariamente en el caso de *Ureaplasma* spp. y cada 5 días en el caso de *M. pneumoniae*, y ante cualquier cambio de color del medio se realizarán subcultivos a placas de agar para visualización de las colonias.

Además de en los cultivos cuantitativos, se deben realizar siempre diluciones seriadas de la muestra en el caldo de cultivo para evitar el efecto inhibitorio del crecimiento de los anticuerpos o los antibióticos presentes en la muestra⁸.

Precauciones y criterios para la interpretación de los resultados

El aislamiento de *M. pneumoniae* de muestras respiratorias se informará sin indicar el título de crecimiento, ni realizar pruebas de sensibilidad a los antibióticos.

Los resultados de la detección por PCR pueden expresarse en términos cualitativos (positivo o negativo) o bien cuantificados en copias/ml de muestra.

El aislamiento/detección por PCR de *M. pneumoniae* del tracto respiratorio es clínicamente significativo en la mayoría de los casos, pero deberá relacionarse con la enfermedad clínica y corroborarse por las pruebas serológicas, ya que puede corresponder a infección pasada o a portador asintomático (aunque en este caso el número de copias será de baja cantidad). El aislamiento de *M. pneumoniae* de cualquier líquido orgánico o tejido estéril es siempre significativo.

La PCR es más sensible al comienzo del curso de la enfermedad (1-7 días), mientras que la serología se hace más sensible a medida que la enfermedad persiste.

La ausencia de IgM en la población adulta no descarta la infección por micoplasma y la detección de IgG o de inmunoglobulinas totales a título bajo en una muestra de suero de la fase aguda pueden significar una infección pasada o incipiente. Para discernir la situación, una segunda determinación de ambas IgG e IgM a las 2-3 semanas permite demostrar un aumento significativo en el título de anticuerpos.

Dada la elevada prevalencia de *Ureaplasma* spp. en el tracto genitourinario, el diagnóstico microbiológico de la uretritis y prostatitis crónicas debe establecerse siempre mediante cultivos cuantitativos, valorándose los recuentos del microorganismo superiores a 10⁴ unidades cambiadoras de color/ml (UCC/ml). Además, para el estudio de prostatitis crónica, es necesaria la demostración previa de la presencia de ≥ 10 leucocitos por campo (20X) en la orina obtenida después de masaje prostático antes de proceder a la inoculación del sedimento. Sin embargo, el aislamiento de *Ureaplasma* spp. o *M. hominis* en cualquier cantidad de un líquido o tejido normalmente estéril se asocia significativamente con enfermedad.

Aunque habitualmente se suele informar del aislamiento de *U. urealyticum*, es más correcto informar del aislamiento de *Ureaplasma* spp., a menos que se puedan diferenciar las biovariedades mediante PCR.

Observaciones y procedimientos no aceptables

En las manifestaciones extrapulmonares por *M. pneumoniae* que cursan sin clínica respiratoria no está indicada la aplicación de la PCR a las muestras respiratorias, ya que su detección podría significar, simplemente, un estado de portador, siendo más apropiada la demostración de seroconversión en el título de anticuerpos

específicos o la detección por PCR en las muestras representativas del órgano afectado.

Los sistemas automatizados de hemocultivo, con monitorización continua del cultivo, no son eficaces para la detección de crecimiento de *M. hominis* y *Ureaplasma* spp., debiéndose realizar en caso de sospecha de infección por este microorganismo un subcultivo a ciegas en el medio específico para crecimiento de micoplasmas.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

1. Waites KB, Talkington DF. *Mycoplasma pneumoniae* and its role as a human pathogen. Clin Microbiol Rev. 2004;17:697–728.
2. Waites KB, Balish MF, Atkinson PT. New insights into the pathogenesis and detection of *Mycoplasma pneumoniae* infections. Future Microbiol. 2008;3:635–48.
3. Narita M. Pathogenesis of extrapulmonary manifestations of *Mycoplasma pneumoniae* infection with special reference to pneumonia. J Infect Chemother. 2010;16:162–9.
4. Narita M. Pathogenesis of neurologic manifestations of *Mycoplasma pneumoniae* infection. Pediatr Neurol. 2009;41:159–66.
5. Kannan TR, Baseman JB. ADP-ribosylating and vacuolating cytotoxin of *Mycoplasma pneumoniae* represents unique virulence determinant among bacterial pathogens. Proc Natl Acad Sci USA. 2006;103:6724–9.
6. Somarajan SR, Thirumalai R, Kannan TR, Baseman JB. *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. Cell Microbiol. 2010;12:1821–31.
7. Meseguer MA, Álvarez A, Rojas MT, Sánchez C, Pérez-Díaz JC, Baquero F. *Mycoplasma pneumoniae*: a reduced-genome intracellular bacterial pathogen. Infect Genet Evol. 2003;3:47–55.
8. Waites KB, Bébér CM, Robertson JA, Talkington DF, Kenny GE. Laboratory diagnosis of mycoplasmal infections. Cumitech 34. Washington: ASM Press; 2001.
9. Daxboeck F, Krause R, Wenisch C. Laboratory diagnosis of *Mycoplasma pneumoniae* infection. Clin Microbiol Infect. 2003;9:263–73.
10. Talkington DF, Shott S, Fallon MT, Schwartz SB, Thacker WL. Analysis of eight commercial enzyme immunoassay tests for detection of antibodies to *Mycoplasma pneumoniae* in human serum. Clin Diag Lab Immunol. 2004;11:862–7.
11. Templeton KE, Scheltinga SA, Graffelman AW, Van Schie JM, Crielaard JW, Sillekens P, et al. Comparison and evaluation of real-time PCR, real-time nucleic sequence-based amplification, conventional PCR and serology for diagnosis of *Mycoplasma pneumoniae*. J Clin Microbiol. 2003;41:4366–71.
12. Dumke R, Jacobs E. Comparison of commercial and in-house real-time PCR assays used for detection of *Mycoplasma pneumoniae*. J Clin Microbiol. 2009;47:441–4.
13. Welti M, Jatón K, Altwegg M, Sahli R, Wenger A, Bille J. Development of a multiplex real-time quantitative PCR assay to detect *Chlamydia pneumoniae*, *Legionella pneumophila* and *Mycoplasma pneumoniae* in respiratory tract secretions. Diagn Microbiol Infect Dis. 2003;45:85–95.
14. Muir MT, Cohn SM, Loudon C, Kannan TR, Baseman JB. Novel toxin assays implicate *Mycoplasma pneumoniae* in prolonged ventilator course and hypoxemia. Chest. 2011;139:305–10.
15. Hennigan SL, Driskell JD, Dluhy RA, Zhao Y, Tripp RA, Waites KB, et al. Detection of *Mycoplasma pneumoniae* in simulated and true clinical throat swab specimens by nanorod array-surface-enhanced Raman spectroscopy. PLoS ONE. 2010;5:e13633.
16. Horner PJ, Thomas B, Gilroy CB, Egger M, Taylor-Robinson D. Role of *Mycoplasma genitalium* and *Ureaplasma urealyticum* in acute and chronic nongonococcal urethritis. Clin Infect Dis. 2001;32:995–1003.
17. Larsen B, Hwang J. *Mycoplasma*, *Ureaplasma*, and adverse pregnancy outcomes: a fresh look. Infect Dis Obst Gynecol. 2010. doi:10.1155/2010/521921, pii: 521921 Epub 2010 jul 12.
18. Taylor-Robinson D, Lamont RF. Mycoplasmas in pregnancy. BJOG. 2011;118:164–74.
19. Gaydos CH, Maldeis NE, Hardick A, Hardick J, Quinn TC. *Mycoplasma genitalium* as a contributor to the multiple etiologies of cervicitis in women attending sexually transmitted disease clinics. Sex Transm Dis. 2009;36:598–606.
20. Cassell GH, Waites KB, Watson HL, Crouse DT, Harasawa R. *Ureaplasma urealyticum* Intrauterine Infection: Role in prematurity and disease in newborn. Clin Microbiol Rev. 1993;6:69–87.
21. Waites KB, Schelonka RL, Xiao Li, Grigsby PL, Novy MJ. Congenital and opportunistic infections: *Ureaplasma* species and *Mycoplasma hominis*. Seminars in Fetal and Neonatal Medicine. 2009;14:190–9.
22. Viscardi RM. *Ureaplasma* species: Role in diseases of prematurity. Clin Perinatol. 2010;37:393–409.
23. Viscardi RM, Hasday JD. Role of *Ureaplasma* species in neonatal chronic lung disease: epidemiologic and experimental evidence. Pediatr Res. 2009;65:84R–90R.