

Ús de la PCR de bacteris atípics en el maneig ambulatori de pacients amb pneumònia adquirida a la comunitat que acudeixen a urgències

Sandra Bustamante-Hernández¹, Elena May-Llanas¹, Emiliano Mora-Muñoz¹, Roger García-Puig¹, Ana Blanco-Suárez²

¹ Servei de Pediatria. Fundació Assistencial Mútua Terrassa. Terrassa (Barcelona). ² CATLab (Parc Logístic de Salut). Viladecavalls (Barcelona)

RESUM

Fonament. *Mycoplasma pneumoniae* i *Chlamydomphila pneumoniae* són agents causals freqüents de la pneumònia adquirida a la comunitat (PAC) en pediatria, i les tècniques com la reacció en cadena de la polimerasa (PCR) poden facilitar-ne el diagnòstic etiològic precoç, adequant l'antibioteràpia emprada.

Objectiu. Descriure l'ús d'aquesta tècnica en el maneig ambulatori dels pacients pediàtrics amb PAC que acudeixen a urgències.

Mètode. Estudi observacional, retrospectiu i descriptiu de pacients pediàtrics diagnosticats de PAC a urgències amb maneig ambulatori.

Resultats. De 67 pacients, el 32,8% va obtenir un resultat positiu per a bacteris atípics. El percentatge de resultats positius en <4 anys va ser del 10,0% i en ≥4 anys del 42,6% ($p=0,021$). Van rebre antibiòtic empíric a l'alta 49 pacients dels 67 (73,1%): 31 macròlids, 12 betalactàmics i 6 ambdós. Amb el resultat de la PCR, per resultat negatiu es van retirar els macròlids a 25 dels 37 als quals se'ls havia pautat (67,6%) i es va pautar a 10 dels 22 casos positius que no els estaven rebent (45,5%).

Conclusions. La PCR de bacteris atípics facilita el diagnòstic microbiològic ràpid i l'adequació de l'antibioteràpia, i, sobretot, evita l'excés de tractament amb macròlids a les urgències pediàtriques.

Paraules clau: *Mycoplasma pneumoniae*. *Chlamydomphila pneumoniae*. *Pneumònia*. *Reacció en cadena de la polimerasa*. *Macròlids*.

USO DE LA PCR DE BACTERIAS ATÍPICAS EN EL MANEJO AMBULATORIO DE PACIENTES CON NEUMONÍA ADQUIRIDA EN LA COMUNIDAD QUE ACUDEN A URGENCIAS

Fundamento. *Mycoplasma pneumoniae* y *Chlamydomphila pneumoniae* son agentes causales frecuentes de la neumonía adquirida en la comunidad (NAC) en pediatría, y las técnicas como la reacción

en cadena de la polimerasa (PCR) pueden facilitar su diagnóstico etiológico precoz, adecuando la antibioterapia utilizada.

Objetivo. Describir el uso de esta técnica en el manejo ambulatorio de los pacientes pediátricos con NAC que acuden a urgencias.

Método. Estudio observacional, retrospectivo y descriptivo de pacientes pediátricos diagnosticados de NAC en urgencias manejados ambulatoriamente.

Resultados. De 67 pacientes, el 32,8% obtuvo resultado positivo para bacterias atípicas. El porcentaje de resultados positivos en <4 años fue del 10,0% y en ≥4 años de 42,6% ($p=0,021$). Recibieron antibiòtico empírico 49 pacientes de los 67 (73,1%): 31 macròlidos, 12 betalactàmics y 6 ambos. Con el resultado de la PCR, por resultado negativo se retiraron los macròlidos a 25 de los 37 a los que se les había pautado (67,6%) y se pautó a 10 de los 22 casos positivos que no los estaban recibiendo (45,5%).

Conclusiones. La PCR de bacterias atípicas facilita el diagnóstico microbiológico rápido y la adecuación de la antibioterapia, evitando sobre todo el exceso de tratamiento con macròlidos en urgencias.

Palabras clave: *Mycoplasma pneumoniae*. *Chlamydomphila pneumoniae*. *Neumonía*. *Reacción en cadena de la polimerasa*. *Macròlidos*.

USE OF PCR FOR ATYPICAL BACTERIA IN THE AMBULATORY MANAGEMENT OF PATIENTS WITH COMMUNITY-ACQUIRED PNEUMONIA SEEN IN THE EMERGENCY DEPARTMENT

Background. *Mycoplasma pneumoniae* and *Chlamydomphila pneumoniae* are frequent causative agents of community-acquired pneumonia (CAP) in children. Techniques such as the polymerase chain reaction (PCR) can facilitate early diagnosis and adequacy of antibiotic therapy.

Objective. To describe the use of this test in the ambulatory management of children with CAP seen in the emergency room.

Method. Observational, retrospective and descriptive study of children diagnosed with CAP in the emergency room and managed as outpatients.

Results. Sixty-seven patients were recruited and 22 (32.8%) had a positive PCR for atypical bacteria. The percentage of positive results in children <4 years was 10.0% and it was 42.6% in children ≥4 years ($p=0.021$). Forty-nine (73.1%) patients received antibiotic

Correspondència: Sandra Bustamante Hernández
Servei de Pediatria, Hospital Universitari MútuaTerrassa
Pl. Dr. Robert, 5. 08224 Terrassa
sbustamante@mutuaterrassa.es

Treball rebut: 02.09.2019
Treball acceptat: 16.11.2020

Bustamante-Hernández S, May-Llanas E, Mora-Muñoz E, García-Puig R, Blanco-Suárez A.
Ús de la PCR de bacteris atípics en el maneig ambulatori de pacients amb pneumònia adquirida a la comunitat que acudeixen a urgències.
Pediatr Catalana. 2020;80(4):163-7.

treatment: 31 received macrolides, 12 beta-lactams and 6 both. The results of the PCR test resulted in discontinuation of macrolide treatment in 25 of 37 patients (67.6%) after a negative PCR test and in its prescription to 10 of the 22 (45.5%) positive cases that were not receiving it.

Conclusions. The use of PCR for atypical bacteria in the emergency department facilitates rapid microbiological diagnosis and the adequacy of antibiotic therapy, avoiding over-treatment with macrolides.

Keywords: *Mycoplasma pneumoniae*. *Chlamydia pneumoniae*. *Pneumonia*. *Polymerase Chain Reaction*. *Macrolides*.

Introducció

La pneumònia adquirida a la comunitat (PAC) és una entitat clínica molt freqüent en la infància que s'associa a una morbiditat important en països desenvolupats i a una alta mortalitat en països en vies de desenvolupament, amb una incidència anual observada en estudis fets a Espanya de 30-36 casos/1.000 infants menors de 5-6 anys¹⁻², i més baixa (11-16 casos/1.000 infants) en més grans de 5 anys.

Es defineix com una infecció aguda del parènquima pulmonar que afecta un pacient immunocompetent exposat a un microorganisme fora de l'hospital, amb clínica de tos i/o dificultat respiratòria i amb evidència radiològica d'infiltrat pulmonar agut. Es considera com a condició que no hagi estat hospitalitzat entre els 7 i els 14 dies previs a l'inici dels símptomes o que aquests comencin en les primeres 48 hores des de la seva hospitalització.

La pneumònia atípica és una causa freqüent de PAC, que es caracteritza per un inici lent de símptomes catarrals amb febre moderada i tos irritativa, i en ocasions dificultat respiratòria. L'auscultació sol ser d'afectació generalitzada, de característiques bronquials, acompanyada d'espasticitat. L'etiologia és freqüentment vírica en menors de 3 anys i bacteriana en majors de 3 anys, i provoca infeccions que es poden cronificar sense l'ús d'una antibioteràpia adequada.

Diversos estudis demostren que tot i que la major part dels processos respiratoris observats en infants de fins a 5 anys són d'origen víric, aquest grup de població és el més exposat a l'ús d'antibiòtics, juntament amb el de més grans de 85 anys³⁻⁵. L'existència de resistències bacterianes és molt important, i tractar amb antibioteràpia innecessària comporta riscos d'al·lèrgies i toxicitat innecessàries; l'impacte ecològic sobre la flora respiratòria i intestinal és considerable, ja que elimina els bacteris sensibles i permet el creixement i la colonització de bacteris resistents⁶⁻⁷.

A causa de l'escassa sensibilitat d'alguns estudis microbiològics utilitzats fins al moment, la dificultat per obtenir mostres adequades, la característica invasiva de proves diagnòstiques específiques i la poca relació cost/benefici, no es recomana fer de rutina estudis microbiològics en pacients sans amb PAC amb clínica lleu-moderada que seran tractats a nivell extrahospita-

lari^{1, 8-9}, de manera que el diagnòstic etiològic de la PAC pot significar un repte.

En els últims anys, ha augmentat l'ús de la tecnologia molecular de forma exponencial: és més sensible que els mètodes microbiològics convencionals, i augmenta el rendiment microbià en els pacients amb PAC¹⁰⁻¹¹. En els centres que disposen d'una àmplia bateria de proves es pot aconseguir conèixer l'agent etiològic fins al 85% dels casos^{10, 12-16}, i aquestes tècniques s'utilitzen cada vegada més. No obstant això, cal anar amb precaució amb els resultats obtinguts, ja que s'ha vist que es poden obtenir casos positius de PCR per a bacteris atípics en pacients asimptomàtics¹⁷.

Una de les tècniques utilitzades que incrementen significativament la sensibilitat d'aquestes proves moleculares és la reacció en cadena de la polimerasa (PCR) de bacteris atípics en secrecions nasofaríngees, que permet la detecció qualitativa per PCR a temps real de l'ADN de *M. pneumoniae* y *C. pneumoniae* de manera ràpida en els casos de sospita de pneumònia atípica. La implementació d'aquesta tècnica podria garantir la correcta prescripció antimicrobiana en pacients amb PAC, i contribuir a la disminució de l'aparició de bacteris resistents.

És per aquest motiu que l'objectiu d'aquest estudi va ser descriure la utilitat de la PCR de bacteris atípics en el maneig ambulatori de pacients pediàtrics que acudien a urgències del nostre centre amb sospita de PAC atípica o indeterminada.

Mètode

Es tracta d'un estudi clínic observacional, retrospectiu i descriptiu de pacients entre 0 i 14 anys amb criteris de pneumònia atípica o indeterminada que havien acudit al Servei d'Urgències de l'Hospital Universitari Mútua Terrassa (HUMT) entre gener de 2016 i desembre del 2018 i que no requerien hospitalització, als quals se'ls havia fet la PCR de *M. pneumoniae* i *C. pneumoniae*.

Per establir els criteris de pneumònia atípica o indeterminada es va utilitzar l'algoritme diagnòstic de la PAC basat en la suma de criteris clínics, analítics i radiològics de l'AEP¹⁸ i es van seleccionar els pacients amb PAC atípica i els pacients amb PAC indeterminada. A tots els pacients inclosos se'ls havien recollit mostres nasofaríngees a urgències per detectar *M. pneumoniae* i *C. pneumoniae* mitjançant la tècnica *RealCyclerSC* MYCH, que té una sensibilitat superior al 95% i una especificitat propera al 100%. La mostra era rebuda al laboratori extern (CatLab Parc Logístic de Salut, Viladecavalls) entre les 9 i les 15 hores de dilluns a divendres i el temps mitjà des que es cursava la prova fins a obtenir el resultat eren unes 24 hores, a excepció dels exàmens de les mostres cursades els divendres a la tarda o dissabtes, que es feien els dilluns i tardaven fins a 48 hores.

El tractament inicial s'indicava segons el criteri del metge del Servei d'Urgències. A causa de l'atenció sanitària integrada i transversal entre l'hospital participant i els nou centres d'atenció primària que formen part de la seva unitat integrada, situats a Terrassa, Sant Cugat, Rubí, Olesa de Montserrat, Viladecavalls i Ullastrell, als pacients se'ls indicava que sol·licitessin una visita de control al seu centre ambulatori al cap de 24 hores de cursar la mostra o bé el dia laborable següent, amb la finalitat d'obtenir el resultat de la prova i revisar el tractament pautat.

Es van recollir característiques demogràfiques, clíniques, analítiques i terapèutiques dels casos positius i negatius per PCR de bacteris atípics.

Es van descriure les variables categòriques amb freqüències i percentatges i es van comparar entre els pacients amb PCR positiva i PCR negativa per bacteris atípics amb la prova de khi-quadrat o el test exacte de Fisher quan el comptatge d'alguna de les caselles era inferior a 5 casos. Es va avaluar la normalitat de les variables quantitatives visualment i mitjançant els tests de Shapiro-Wilk i Shapiro-Francia. Les variables quantitatives normals es van descriure mitjançant mitjana i desviació estàndard i les no normals mitjançant mediana i rang interquartílic. Les diferències en variables quantitatives entre casos positius i negatius es van avaluar mitjançant el test de t-Student, si seguien una distribució normal, o amb el test de rangs de Wilcoxon, en cas contrari. El nivell de significació estadística es va fixar en $p < 0,05$. Totes les anàlisis s'han fet amb l'SPSS Statistics 25.0 (IBM corp, NY).

Resultats

Entre el gener del 2016 i el desembre del 2018 es van reclutar un total de 67 pacients menors de 15 anys als quals se'ls va fer la PCR per a bacteris atípics en l'aspirat nasofaringi. La taula I resumeix les principals característiques epidemiològiques i clíniques dels pacients inclosos.

Es van detectar patògens atípics en 22 casos (32,8%): 20 van tenir una PCR positiva per a *M. pneumoniae* i 2 per a *C. pneumoniae*.

Es va analitzar la distribució mensual dels casos positius, i es van detectar més casos de *M. pneumoniae* als mesos de tardor i hivern, amb un augment relatiu dels casos al desembre (Fig. 1).

La PCR de bacteris atípics va ser positiva en 20/47 (42,6%) dels infants que tenien 4 anys o més i 2/20 (10%) en menors de 4 anys, sent la diferència estadísticament significativa ($p=0,021$).

Es van trobar diferències significatives en el nombre de dies de febre que presentaven els pacients en el moment d'acudir a urgències; presentaven més dies de febre els pacients que van obtenir un resultat positiu de la PCR de bacteris atípics que els que van obtenir

un resultat negatiu (4 dies enfront 2 dies; $p=0,005$). No hi va haver diferències significatives entre la resta de simptomatologia i el resultat de la PCR.

Es va fer analítica sanguínia a tots i no hi va haver diferències significatives en cap valor analític (Taula II).

Davant la sospita de pneumònia atípica i segons el criteri del metge d'urgències, es van prescriure antibiòtics empíricament en el 73,1% dels casos i el 26,9% dels pacients va rebre tractament simptomàtic. La figura 2 mostra els resultats de les PCR de bacteris atípics en cada grup de tractament.

Després de l'arribada del resultat de la PCR de bacteris atípics es va ajustar el tractament antibiòtic macròlid en 35 pacients (52,2%): en 25 de 37 pacients a qui s'havia prescrit tractament amb macròlids es va retirar perquè presentaven una PCR negativa i en 10 es va iniciar aquest tractament perquè tenien una PCR positiva i continuaven amb clínica.

En 18/67 (26,9%) pacients es va fer una determinació de PCR multivírus en l'aspirat nasofaringi a més de la PCR per bacteris atípics, i van ser positives 9/18 (50%)

TAULA I

Resum de les característiques demogràfiques i clíniques

Característiques	Freqüència n (%)	
Edat (anys)	0-3	20 (29,9)
	4-14	47 (70,1)
Sexe	Femení	31 (46,3)
	Masculí	36 (53,7)
Síntomes	Tos	58 (86,6)
	Febre	62 (92,5)
	Rinorrea	35 (52,2)
	Expectoració	15 (22,4)
	Vòmits	7 (10,4)
	Diarrea	3 (4,5)
	Astènia	3 (4,5)
Malestar	3 (4,5)	

TAULA II

Anàlisi descriptiva de les variables quantitatives

Variables	RealCyclerSC MYCH positiva (n=22)	RealCyclerSC MYCH negativa (n=45)	Valor p
Temperatura (°C)	38,8 (38,0-39,0)	38,5 (38,0-39,0)	0,84
Febre (dies)	4 (3,0-6,0)	2 (1,0-4,0)	0,005
Recòmpte leucòcits (/mm ³)*	11309,1 (3676,6)	13136,0 (3963,5)	0,06
Recòmpte neutròfils (%)	68,5 (57,0-70,0)	70,0 (54,0-73,0)	0,52
PCR (mg/L)	39,0 (18,0-58,0)	31,0 (15,0-65,0)	0,34

Les variables quantitatives es representen com a mediana (rang interquartílic), excepte les marcades amb asterisc (*), que segueixen una distribució normal i es representen com a mitjana (desviació estàndard).

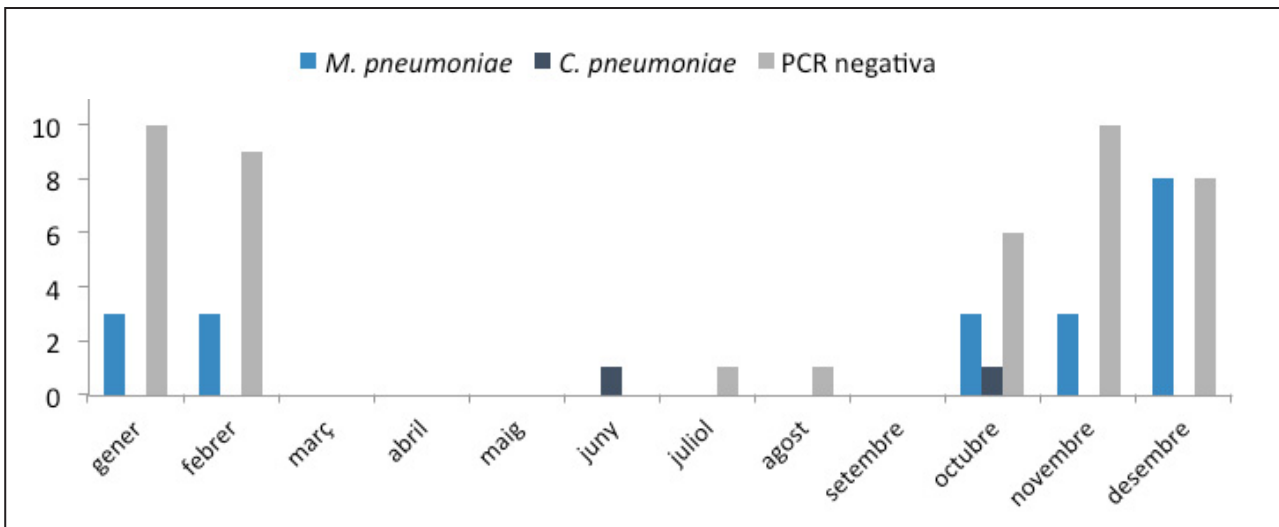


Fig. 1. Distribució mensual dels casos amb resultat positiu de PCR a *Mycoplasma pneumoniae* i *Chlamydia pneumoniae*.

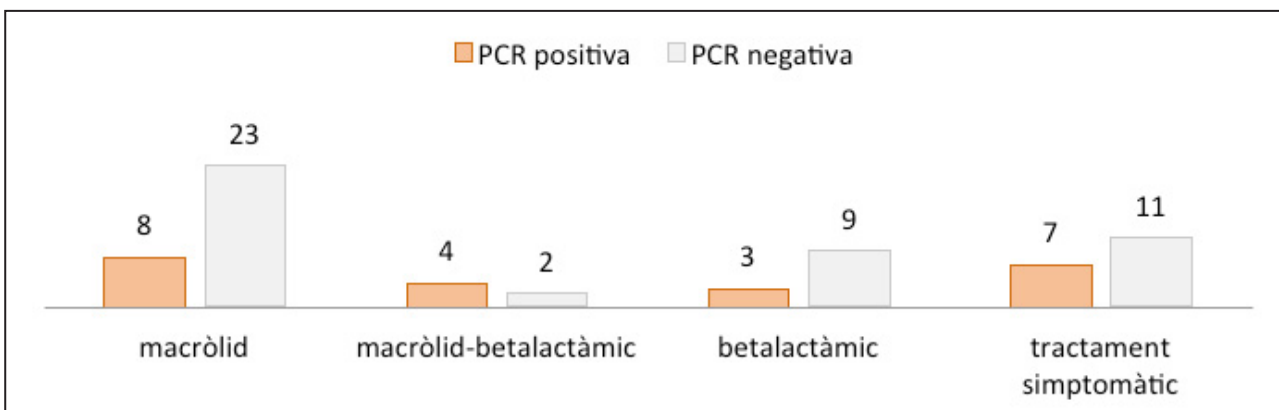


Fig. 2. Resultat de la PCR de bacteris atípics en els diferents grups de tractament empíric. El dígit sobre les columnes indica el nombre de casos.

de les mostres. Es va detectar un pic aïllat de virus respiratoris durant el febrer: el rinovirus va ser el virus aïllat més comú, amb 5/18 (27,8%); la grip A va ser el segon més detectat, en 2/18 (11,1%), i tant l'adenovirus com l'enterovirus, en 1/18 (5,6%). En 3/18 (16,7%) es va detectar coinfecció entre virus i *M. pneumoniae*: en 2/18 (11,1%) es va trobar rinovirus i en 1/18 (5,6%) grip A, a més del bacteri atípic.

Discussió

Pautar l'antibioteràpia adequada pot significar un repte per al pediatre, ja que les proves microbiològiques no es fan de rutina en els pacients amb PAC que no compleixen criteris d'ingrés. Amb aquest estudi es vol descriure l'ús d'una tècnica molecular ràpida com és la PCR de bacteris atípics en els pacients que acudeixen a urgències per tal d'adequar el tractament antibiòtic emprat.

Després de la realització d'aquest estudi podem afirmar que hi ha un important percentatge de prescripció inadequada d'antibioteràpia i que aquestes proves mole-

culars ens podrien ajudar en el maneig ambulatori dels pacients amb sospita de pneumònia atípica per tal d'evitar l'ús de tractament innecessari, fet que, tal i com s'ha demostrat a la literatura, augmenta el risc de resistències i efectes secundaris als pacients¹⁹. En la nostra sèrie el percentatge de prescripció inadequada va ser del 52,2% (35 pacients), amb 25 pacients en els que es va retirar el tractament macròlid i 10 en els que es va iniciar, després de conèixer el resultat de la PCR.

Pel que fa a les diferències clíniques entre els grups de positius i negatius per PCR de bacteris atípics, es va detectar que els casos positius havien presentat més dies de febre en el moment d'acudir a urgències. Aquesta diferència podria ser causada per la clínica subaguda que presenten les PAC atípiques, fet que podria explicar que aquests pacients consultin més tard a urgències.

Les principals limitacions pròpies de l'estudi són el tipus d'estudi unicèntric i la mida mostral. Una altra dificultat pel que fa a la metodologia és que en tractar-se d'un estudi retrospectiu hem de tenir en compte tant els biaixos d'informació com els de selecció. Es

van seleccionar els pacients amb sospita clínica de PAC atípica o indeterminada de maneig ambulatori als quals se'ls havia recollit la mostra per analitzar la PCR de bacteris atípics, però aquesta tècnica no es va fer a tots els pacients que complien aquests criteris i eren visitats a urgències en aquest període, de manera que aquesta és una altra de les limitacions de l'estudi.

Pel que fa a la tècnica molecular emprada, la positivitat de PCR per a *M. pneumoniae* o per a *C. pneumoniae* no determina que aquests bacteris siguin la causa de la infecció actual¹⁷, per tant, aquest factor és una limitació en la interpretació dels resultats, tot i que es podria assumir aquesta etiologia si els criteris clínics, radiològics i analítics són compatibles amb una pneumònia atípica. A més, en l'anàlisi de dades no es va tenir en compte el dia de la setmana en què es van obtenir les mostres, i tot i que la prova és relativament ràpida i el resultat s'obté al cap de 24 hores, si la mostra es recull divendres o dissabtes, el resultat es pot demorar fins a 48 hores, fet que afavoreix l'ús d'antibioteràpia empírica en aquests pacients. Pel que fa a altres exploracions complementàries, com la PCR multivírus, només es va fer en el 26,9% dels pacients, i no es pot confirmar que els pacients que obtinguessin resultat negatiu de PCR de bacteris atípics tinguessin una PAC de causa vírica.

En conclusió, la incorporació de tècniques moleculars altament sensibles i específiques com la PCR de bacteris atípics es podria considerar per aconseguir un diagnòstic etiològic i un maneig terapèutic correcte. El fet de disposar del resultat d'aquestes tècniques moleculars al cap d'entre 24 i 48 hores de l'obtenció de la mostra podria evitar l'ús d'antibiòtics erronis en pacients que no compleixen criteris d'ingrés, i facilitar l'adequació terapèutica, prescrivint els macròlids als pacients amb resultat positiu que persisteixen amb clínica, i contribuir, així, a minimitzar la toxicitat i el desenvolupament de les resistències bacterianes.

Bibliografia

- Andrés Martín A, Moreno-Pérez D, Alfayate Miguélez S, Couceiro Gianzo JA, García García ML, Korta Murua JK, et al. Etiología y diagnóstico de la neumonía adquirida en la comunidad y sus formas complicadas. *An Pediatr*. 2012;76(3):162.e1-162.e18.
- Moreno-Pérez A, Andrés Martín A, Tagarro García A, Escribano Montaner A, Figuerola Mulet J, García García JJ, et al. Neumonía adquirida en la comunidad: tratamiento ambulatorio y prevención. *An pediatr*. 2015;83(6):439.e1-439.e7.
- Goossens H, Ferech M, Vander Stichele R, Elseviers M, ESAC Project Group. Outpatient antibiotic use in Europe and association with resistance: a cross-national database study. *Lancet*. 2005;365:579-87.
- Serna MA, Ribes E, Real J, Galván L, Gascó E, Godoy P. Alta exposición a antibióticos en la población y sus diferencias por género y edad. *Aten Primaria*. 2011;43(5):236-44.
- Pérez-Trallero E, García de la Fuente C, García-Rey C, Baquero F, Aguilar L, Dal-Re R, et al. Geographical and ecological analysis of resistance, coresistance, and coupled resistance to antimicrobials in respiratory pathogenic bacteria in Spain. *Antimicrob Agents Chemother*. 2005;49(5):1965-72.
- Albañil Ballesteros MR, Ruiz Contreras J. Resistencias de los patógenos más comunes en procesos bacterianos de manejo ambulatorio y tratamiento antibiótico de elección. *Rev Pediatr Aten Primaria*. Supl. 2018;(27):23-31.
- Keenan JD, Klugman KP, McGee L, Vidal JE, Chochua S, Hawkins P, et al. Evidence for clonal expansion after antibiotic selection pressure: pneumococcal multilocus sequence types before and after mass azithromycin treatments. *J Infect Dis*. 2015;211(6):988-94.
- Harris M, Clark J, Coote N, Fletcher P, Harnden A, McKean M, et al. British Thoracic Society guidelines for the management of community acquired pneumonia in children: update 2011. *Thorax*. 2011;66 Suppl 2:ii1-ii23.
- Kutty P, Jain S, Taylor T, Bramley AM, Diaz MH, Ampofo K, et al. *Mycoplasma pneumoniae* Among Children Hospitalized With Community-acquired Pneumonia. *Clin Infect Dis*. 2019;68(1):5-12.
- Al-Marzooq F, Imad MA, How SH, Kuan YC. Development of multiplex real-time PCR for the rapid detection of five bacterial causes of community acquired pneumonia. *Trop Biomed*. 2011;28(3):545-56.
- Rodríguez CMC, Groves H. Community-Acquired Pneumonia in Children: the Challenges of Microbiological Diagnosis. *J Clin Microbiol*. 2018;56(3):e01318-17.
- 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.
- Don M, Canciani M, Korppi M. Community-acquired pneumonia in children: what's old? What's new? *Acta Paediatr*. 2010;99(11):1602-8.
- Don M, Fasoli L, Paldanius M, Vainionpää R, Kleemola M, Rätty R, et al. Aetiology of community-acquired pneumonia: serological results of a paediatric survey. *Scand J Infect Dis*. 2005;37(11-12):806-12.
- Juvén T, Mertsola J, Waris M, Leinonen M, Meurman O, Roivainen M, et al. Etiology of community-acquired pneumonia in 254 hospitalized children. *Pediatr Infect Dis J*. 2000;19(4):293-8.
- Michelou IC, Olsen K, Lozano J, Rollins NK, Duffy LB, Ziegler T, et al. Epidemiology and clinical characteristics of community-acquired pneumonia in hospitalized children. *Pediatrics*. 2004;113(4):701-7.
- Spuesens EB, Fraaij PL, Visser EG, Hoogenboezem T, Hop WCJ, van Adrichem LNA, 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.
- Méndez Echevarría A, García Miguel MJ, Baquero Artigao F, del Castillo Martín F. Neumonía adquirida en la comunidad. A: Protocolos diagnósticos terapéuticos de Infectología Pediátrica SEIP-AEP. Madrid: Ergon; 2011.
- Rodríguez-Baño J, Paño-Pardo JR, Álvarez-Rocha L, Asensio A, Calbo E, Cercenado E et al; Grupo de Estudio de la Infección Hospitalaria-Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica; Sociedad Española de Farmacia Hospitalaria; Sociedad Española de Medicina Preventiva, Salud Pública e Higiene. Programas de optimización de uso de antimicrobianos (PROA) en hospitales españoles: documento de consenso GEIH-SEIMC, SEFH y SEMSPH. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2012;30(1):22.e1-22.e23.