

CENTRO PROVINCIAL DE HIGIENE Y EPIDEMIOLOGIA
DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA
GUANTANAMO

**EVALUACION DE TOMA DE MUESTRA
MODIFICADA DE ESPUTO PARA
DIAGNOSTICO DE CANDIDIASIS PULMONAR**

Lic. Lourdes M. Expósito Boné¹, Téc. Ana Belkis Bott Croublet.²

RESUMEN

Por la insuficiente confiabilidad del diagnóstico de la candidiasis pulmonar a partir de la muestra de esputo, se realiza la presente investigación en el CPHEM de Guantánamo. Se diseña la toma de muestra de esputo modificada y se utiliza de forma concurrente con la tradicional, con el objetivo de su evaluación en el diagnóstico de candidiasis pulmonar. El universo de trabajo está formado por 245 muestras de esputos. Se realiza cultivo micológico y examen microscópico del esputo, determinando presencia de leucocitos y pseudohifas. Se evalúa la validez y rendimiento de la toma de muestra tradicional y modificada para utilizar la que ofrezca mayor confiabilidad en el diagnóstico. Se concluye que la toma de muestra modificada es más confiable para el diagnóstico de la candidiasis pulmonar, por ser más sensible y específica, recomendando su uso.

Palabras clave: CANDIDIASIS/diagnóstico; CANDIDIASIS/microbiología; ESPUTO/microbiología.

INTRODUCCION

El proceso de toma de muestra de esputos micológico no ofrece garantía para el diagnóstico de la candidiasis pulmonar, ya que el esputo queda contaminado durante su paso por las vías respiratorias altas y bajas con exfoliaciones del tronco traqueobronquial, secreciones nasales y de la glándula salival y con la flora normal de la cavidad oral, donde encontramos levaduras, todo lo que puede interferir el crecimiento del microorganismo patógeno e inducir a falsos diagnósticos.

¹ *Master en Enfermedades Infecciosas. Licenciada en Biología. Asistente.*

² *Técnico en Microbiología.*

La muestra de esputo, por su bajo costo e inocuidad es, en el ámbito mundial, la muestra indicada para el diagnóstico de la etiología de las infecciones respiratorias bajas, pero existen contradicciones en su interpretación.¹⁻³

Existen otros procedimientos para la obtención de la muestra de esputo, tales como: lavado bronquial, broncoscopia fibroóptica, aspiración translaríngea, entre otros, que resultan métodos muy invasivos, que pueden comprometer la vida de los enfermos y solo son indicados en casos extremos.⁴⁻⁶

Partiendo de esta situación problema, desarrollamos la presente investigación, con el objetivo de diseñar, evaluar e implementar una toma de muestra de esputo modificada, que permita un diagnóstico más confiable de la candidiasis pulmonar.

METODO

El estudio se realiza en el Laboratorio de Microbiología del Centro Provincial de Higiene, Epidemiología y Microbiología de Guantánamo, con el objetivo de diseñar, evaluar e implementar una toma de muestra de esputo modificada, que permita un diagnóstico más confiable de candidiasis pulmonar.

El universo de trabajo está formado por 245 muestras de esputos obtenidas de pacientes de la ciudad de Guantánamo, que acuden al laboratorio por presentar síntomas respiratorios mantenidos durante más de 14 días.

Técnicas y procedimientos de laboratorio para la obtención del dato primario.

Se analiza el procedimiento de la toma de muestra tradicional, observándose que al ser tomada por el paciente en su domicilio, no se cumple con los requisitos que plantea las normas generales para la toma de muestra.⁷⁻⁹

Se diseña la toma de muestra modificada, con el objetivo de mejorar la calidad de la muestra, la que debe ser tomada por personal técnico especializado.¹⁰

Se procede como se describe a continuación:

1. Se cita al paciente al laboratorio a las 7:00 a.m., sin ingerir alimentos, con cepillo y pasta dental.
2. Si el paciente porta prótesis, deberá retirarlas y cepilla vigorosamente la cavidad bucal con cepillo y pasta dental, enjuagándose con abundante agua corriente y luego se enjuaga y hace gárgaras con clorhexidina o agua yodada.
3. El técnico realiza un hisopado bucal inoculándolo en 2 tubos de cultivo conteniendo medio de Agar Sabouraud más cloranfenicol.
4. El paciente debe toser profundamente, expectorar, evitando recolectar saliva y evitando ensuciar la superficie externa del frasco estéril con cierre hermético, donde se deposita la muestra.

Se aplica la toma de muestra tradicional, donde el paciente toma la muestra en frasco estéril en su hogar al levantarse en la mañana y la modificada, de forma concurrente para establecer comparaciones y determinar cual es la más sensible y específica para este diagnóstico.

Procedimiento microbiológico.

1. Siembra de la muestra de esputo en el medio de cultivo Agar Sangre, Agar Chocolate, incubando durante 24 a 48 horas y Agar Sabouraud más cloranfenicol, incubando durante 7 días.
2. Examen directo del esputo con KOH al 10 %, para observar presencia o ausencia de pseudohifas con lente de 40 X.³
3. Coloración de Gram directa de la muestra de esputo, para observar con lente 10 X presencia o ausencia de leucocitos. Se revisan 25 campos, para determinar la calidad de la muestra utilizando el sistema de gradación de Murray y Washintog. Con esta coloración también se pueden observar pseudohifas.^{9,11}

Identificación de *Candida*^{1,4}

- Presencia de tubo germinativo.
- Asimilación y fermentación de azúcares, (glucosa, maltosa, lactosa y sacarosa).

Técnicas de análisis estadístico.^{12,13}

Para evaluar la toma de muestra de esputo modificada se determinó:

1. Confiabilidad o reproducibilidad: Mide nivel de concordancia entre pruebas repetidas.
2. Validez (sensibilidad y especificidad) y rendimiento (valor predictivo positivo y negativo): Se utilizaron las fórmulas correspondientes para este fin y se confeccionó una hoja de cálculo, donde se introdujeron los valores de las categorías siguientes:

CATEGORÍAS	HISOPADO BUCAL	LEUCOCITOS	PSEUDOHIFAS	CULTIVO
Verdaderos positivos	No crecimiento de <i>Candida</i>	+ 25	Positivo	Crecimiento de <i>Candida</i>
Verdaderos negativos	No crecimiento de <i>Candida</i>	Negativo	Negativo	No crecimiento de <i>Candida</i>
Falsos negativos	No crecimiento de <i>Candida</i>	+ 25	Positivo	No crecimiento de <i>Candida</i>
Falsos positivos	No crecimiento de <i>Candida</i>	Negativo	Negativo	Crecimiento de <i>Candida</i>

RESULTADOS Y DISCUSION

Se diseñó la toma de muestra modificada y se implementó de forma concurrente con la tradicional, para establecer comparaciones con 245 muestras de esputo de pacientes que manifestaron su conformidad en el proceso, obteniendo mayor positividad a *Candida* con la toma de muestra tradicional, debido a su baja sensibilidad y especificidad.

Lenete, plantea la crítica a este método de recolección de la muestra de esputo no confiable para el diagnóstico de micosis pulmonar, lo cual ha provocado que algunos micólogos aconsejen el abandono de las pruebas basadas en el esputo expectorado.¹⁴

Al utilizar la toma de muestra tradicional se obtuvo 179 pacientes positivos a *Candida* en el cultivo para el 73.1 % y con la modificada se obtuvo 86 (35.1 %), observándose que la mayor positividad a *Candida* se obtiene con la toma de muestra tradicional, lo que demuestra la interferencia de la flora bucal y la proliferación de *Candida* durante el transporte de la muestra, desde el domicilio del paciente al laboratorio³ (Tabla 1).

Al determinar la presencia de pseudohifas y leucocitos se observó que en 91 muestras se obtuvo presencia de pseudohifas para el 37.1 %, lo que coincidió con el cultivo; en 133 muestras se obtuvo leucocitos para el 4.2 %, de las cuales solo 86 fueron positivas a *Candida* en el cultivo. Las 47 restantes fueron positivas a *Klebsiella pneumoniae* (Tabla 2). Estas nuevas herramientas permiten valorar la invasión y colonización producida por *Candida* al invadir la célula epitelial emitiendo pseudohifas y de un mecanismo de resistencia celular a nivel del pulmón que moviliza los leucocitos polimorfonucleares al sitio de infección por sustancias quimiotácticas producidas por el hongo. También se movilizan macrófagos y monocitos.^{1,3,11}

No se hubiera podido determinar la cantidad de muestras con la condición de verdaderos y falsos positivos y negativos utilizando la toma de muestra tradicional, ya que esta solo cuenta con el cultivo. Al incorporar la determinación de leucocitos y pseudohifas, pudo establecerse estas categorías, identificando 179 positivos al cultivo, de ellos 86 cumplían con las condiciones de verdaderos positivos y, 93, aunque el cultivo era positivo, no se observaron leucocitos y pseudohifas por lo que se identifican como falsos positivos (Tabla 3).

Estos valores se introdujeron en las casillas correspondientes de la hoja de cálculo en Excel y se obtienen valores que me permiten comparar la validez y rendimiento de la toma de muestra tradicional y la modificada.

La toma de muestra tradicional exhibe un bajo valor de sensibilidad (67 %) y especificidad (21 %), lo que indica que la prueba tiene baja capacidad para identificar los que verdaderamente son positivos y negativos. El valor predictivo positivo (VPP) es de 45 %, lo que indica que la proporción de los verdaderos positivos sobre el total de positivos que tiene la prueba es bajo.

El valor predictivo negativo (VPN) es de 39 %, que indica que la proporción de los verdaderos negativos sobre el total de negativos que tiene la prueba es

bajo (Ver Tabla 4). Estos valores confirman la desconfianza en el ámbito mundial, sobre los resultados aplicando este tipo de toma de muestra, mostrando que la mayoría de las investigaciones dan positivas a *Candida*, ya que esta es flora normal de las vías respiratorias superiores y contamina el esputo a su paso por esta zona.^{1,3}

La toma de muestra modificada exhibe valores altos de sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y negativo, lo que indica que la prueba tiene mayor capacidad para identificar los verdaderos positivos y negativos, por lo que es más confiable.

VENTAJAS DE LA TOMA DE MUESTRA MODIFICADA

1. Menor interferencia de la flora bucal, ya que se realiza la limpieza y desinfección de la cavidad bucal.
2. Mediante el hisopado, luego de la limpieza, se controla la presencia de levaduras que resistan el proceso de la limpieza bucal.
3. Al ser tomada por un especialista se garantiza el volumen adecuado y representatividad de la muestra.
4. Como es tomada en el laboratorio, transcurre poco tiempo entre la toma de la muestra y su procesamiento en el laboratorio, lográndose mayor correspondencia entre los resultados obtenidos y lo que verdaderamente contiene la muestra.
5. La muestra se obtiene antes del consumo de antibióticos o pasadas 72 horas de culminado el tratamiento.

Candida albicans fue la especie mayormente aislada (94.2 %), lo que coincide con estudios realizados por Valdés Sánchez y Montiel. La frecuencia de *Candida stellatoidea* fue mucho menor, con solo el 5.7 %.^{15,16}

CONCLUSIONES

- Se logra diseñar la toma de muestra modificada, demostrando su superioridad para el diagnóstico de *Candida* en esputos, por mostrar altos valores de sensibilidad y especificidad en comparación con la tradicional. Esta modificación mejora la calidad de la muestra de esputos y ofrece un medio diagnóstico inocuo para los pacientes.

- La presencia de pseudohifas y leucocitos proporcionan una herramienta en la decisión del informe final del resultado, ya que contribuye a identificar los resultados verdaderos y falsos positivos y negativos.
- Esta investigación resume 13 años de trabajo (1996 - 2009). No se registran estudios semejantes.

RECOMENDACIONES

Es un proceso inocuo, económico y sencillo; propicia un diagnóstico más confiable de la candidiasis pulmonar, así como de otros patógenos, por lo que se recomienda su uso en los laboratorios de microbiología que realicen este tipo de investigación, en momentos en que se lucha por lograr la excelencia en los servicios de salud.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Llop Hernández A, Valdés Dapena Vivanco MM, Suazo Silva JL. Microbiología y parasitología médicas. Tomo I. La Habana: Editorial de Ciencias Médicas; 2001.
2. Roca Goderich R, Smith Smith V, Paz Presilla E, Losada Gómez J, Serret Rodríguez B, Llamas Sierra N, et al. Temas de Medicina Interna. 4ª ed. La Habana: Editorial de Ciencias Médicas; 2002.
3. Jawetz E, Melnick JL, Adelberg Edward A. Manual de Microbiología Médica. La Habana: Editorial de Ciencias Médicas; 2008.
4. Koneman E, Allen SD, Dowell VR, Sommers HM. Diagnóstico microbiológico. México: Editorial Médica Panamericana, S.A.; 1989.
5. Docstoc.com[En página web]. Caro Vadillo A. Lavado traqueobronquial. Madrid; 30 dic. 2008. Disponible en: <http://www.docstoc.com/.../LAVADO-TRAQUEO-BRONQUIAL>
6. Fisterrasalud[En página web]. Broncoscopía. 11/03/2009. Disponible en: <http://www.fisterra.com/salud/3proceDT/broncoscopia.asp>
7. Centro Nacional de Vigilancia Epidemiológica y Control de las Enfermedades. Instituto de diagnóstico y referencia epidemiológico. Toma de una buena muestra. Estados Unidos Mexicanos; 2007. Disponible en: <http://www.labveronicagomez.com.ar/download.php?>

8. Enferurg.com[En página web]. Toma de muestra para el servicio de microbiología. [citado: 2 abr. 2009]. Disponible en <http://www.bvscuba.sld.cu>
9. salud.gob[En página web] Toma, manejo y envío de muestras. Recepcion de muestras. Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos (InDRE) [citado 28 oct. 2009]. Disponible en: <http://www.salud.gob.mx/indre/mues.htm>
10. Expósito Boué L, Bott Croublet B. Modificación de la toma de muestra para el aislamiento de *Candida* en pacientes con infecciones respiratorias. Resultados de 6 años de aplicación. Rev latinoam microbial[serie en internet]. 2002[citado: 22 jun 2009];44(supl.3):12-18, Disponible en: <http://iah.bmn.sld.cu/cgi-bin/wxis.exe/iah/?&IsisScript=iah%2Fiah.xis&nextAction=lnk&lang=E&base=cumed&exprSearch=modificaci%F3n+and+de+and+la+and+toma+and+de+and+muestra+and+para+and+candida>
11. Malagón Londoño G, Hernández Esquivel L. Infecciones hospitalarias. Colombia: Edición Panamericana; 1995.
12. Baryarre H, Hersford R. Metodología de la Investigación. La Habana: Editorial de Ciencias Médicas; 2004.
13. Baryarre H, Hersford R, Oliva M. Estadística descriptiva y estadística de salud. La Habana: Editorial Ciencias Médicas; 2005.
14. Lennete Edwin H, Balows A, Hausler William J, Truant Joseph P. Microbiología Clínica. 3ªed. La Habana: Edición Revolucionaria; 1982.
15. Montiel H. Patógenos emergentes en micosis cutáneas y sistémicas. Dermatol. venez[serie en internet]. 2004[citado: 17 oct 2009];42(2):4-18. Disponible en: <http://http://bases.bireme.br/cgi-bin/wxislind.exe/iah/online/?&IsisScript=iah%2Fiah.xis&nextAction=lnk&lang=e&base=LILACS&exprSearch=pat%F3genos+and+emergentes+and+en+and+micosis+and+cut%E1neas+and+y+and+sist%E9micas>.
16. Valdés Sánchez A, Reyes Díaz JM, Argüelles Sobrino D, Veiga Camuzzo MR, Cárdenas Oviedo SO, Gómez Echevarría AH. Miconazol. Estudio piloto en 6 pacientes positivos a *Candida albicans* en muestras de esputo. Cuba, 2003. Rev Cubana Farm[serie en internet]. 1987[citado: 16 jun 2008];21(1):31-6. 1987. Disponible en: <http://http://iah.bmn.sld.cu/cgi-bin/wxis.exe/iah/?&IsisScript=iah%2Fiah.xis&nextAction=lnk&lang=E&base=cumed&exprSearch=CANDIDA+and+EN+and+ESPUTO>

TABLA 1. AISLAMIENTO DE CANDIDA EN EL CULTIVO UTILIZANDO LA TOMA DE MUESTRA TRADICIONAL Y LA MODIFICADA.

TOMA DE MUESTRA	POSITIVO		NEGATIVO		TOTAL
	No.	%	No.	%	
Tradicional	179	73.1	66	26.9	245
Modificada	86	35.1	159	64.8	245

TABLA 2. PRESENCIA DE PSEUDOHIFAS Y LEUCOCITOS EN EL EXAMEN DIRECTO DEL ESPUTO.

EXAMEN DIRECTO	POSITIVO		NEGATIVO		TOTAL
	No.	%	No.	%	
Pseudohifas	91	37.1	154	62.8	245
Leucocitos	133	54.2	112	45.7	245

TABLA 3. CATEGORIAS OBTENIDAS APLICANDO LA TOMA DE MUESTRA TRADICIONAL Y MODIFICADA.

CATEGORIAS	No. MUESTRAS APLICANDO LA TOMA DE MUESTRA TRADICIONAL	No. MUESTRAS APLICANDO LA TOMA DE MUESTRA MODIFICADA
Verdaderos positivos	82	80
Verdaderos negativos	26	151
Falsos positivos	97	8
Falsos negativos	40	6
TOTAL	245	245

TABLA 4. VALIDEZ Y RENDIMIENTO DE LA TOMA DE MUESTRA TRADICIONAL Y MODIFICADA.

TOMA DE MUESTRA	SENSIBILIDAD %	ESPECIFICIDAD %	VALOR PREDICTIVO POSITIVO %	VALOR PREDICTIVO NEGATIVO %
Tradicional	67	21	45	39
Modificada	91	96	93	95