

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Diagnóstico microbiológico mejorado de las infecciones respiratorias bajas a partir de la muestra de esputo expectorado

Improved microbiological diagnosis of lower respiratory infections from expectorated sputum sample

Lourdes Margarita Expósito Boue, Marlenis Drullet Pérez, Omar Guerra Basulto, Mara Amigo Vaca, Alejandro Javier Sánchez García

Universidad de Ciencias Médicas. Guantánamo. Cuba

RESUMEN

Se realiza una revisión bibliográfica sobre el diagnóstico microbiológico de las infecciones respiratorias bajas (IRB) a partir de la muestra de esputo expectorado, con el propósito de recopilar y resumir la información existente al respecto. Se describe un nuevo procedimiento microbiológico para el diagnóstico de las IRB que garantiza resultados más confiables y se emiten conclusiones.

Palabras clave: infección respiratoria baja; diagnóstico microbiológico; esputo

ABSTRACT

A literature review is done on the microbiological diagnosis of lower respiratory infections (IRB) from expectorated sputum sample, in order to compile and summarize existing information about it. a new microbiological process for diagnosing IRB ensuring more reliable results and conclusions are emitted described.

Keywords: lower respiratory tract infection; microbiological diagnosis; sputum

INTRODUCCIÓN

Las infecciones respiratorias en Cuba se ubican entre las diez primeras causas generales de mortalidad, ocupan el cuarto lugar entre las causas de muerte por enfermedades infecciosas (8.5 % de la mortalidad general), constituyendo un problema de salud en ancianos, niños, embarazadas y mujeres en puerperio; estados en los que se compromete el sistema inmunitario.¹⁻²

Estas infecciones son la causa más frecuente de consultas médicas y de ausencia laboral y escolar, además de ser una de las principales causas de hospitalización; son las más recuentes dentro del conjunto de las infecciones, tanto las adquiridas en el ambiente comunitario como en el medio nosocomial y con mayores tasas de morbilidad y mortalidad; el diagnóstico es clínico, radiológico y microbiológico.³⁻⁷

DESARROLLO

La muestra de esputo por su bajo costo e inocuidad es la muestra de elección en el ámbito mundial para el diagnóstico etiológico de las IRB, pero la confiabilidad de los cultivos de esputo es cuestionada por su baja especificidad y sensibilidad, ya que el crecimiento del microorganismo patógeno puede ser interferido por la proliferación de la flora bacteriana normal de la orofaringe; a pesar de que existen otras técnicas para la obtención de las secreciones respiratorias (lavado bronquial, aspiración mediante aguja transtorácica, aspiración transtraqueal o biopsia de pulmón), resultan muy invasivas y pueden comprometer la vida del paciente y sólo son indicados en casos extremos.⁸⁻⁹

A pesar de que se inhalan elevadas cantidades de microorganismos viables, las vías respiratorias bajas se mantienen estériles, gracias a dos mecanismos: el sistema macrófago alveolar y el mucociliar. El pH alto o bajo de las secreciones contribuye a la actividad antimicrobiana.⁹⁻¹²

A pesar del gran desarrollo de las técnicas diagnósticas, la tinción de Gram en esputo se mantiene vigente; es sencilla, rápida y barata, brinda buena orientación para la aplicación de la terapéutica inicial empírica y además, sirve para valorar los resultados de los cultivos de esputos; la flora orofaríngea puede crear resultados falsos positivos al crecer microorganismos que no son los verdaderos responsables del proceso infeccioso. Por tal razón, después de teñido el esputo, para que la muestra sea válida deben encontrarse más de 25 leucocitos

polimorfonucleares y menos de 10 células epiteliales por campo, observado con lente 10X.^{7-8, 13-14}

El aspecto del esputo también juega un papel importante en el diagnóstico de la enfermedad, ya que es indicativo de la patología que puede existir. Cantidades abundantes de esputo son anormales e indicativas de que algo está mal. En las infecciones bacterianas la viscosidad del esputo aumenta, reduciendo su flujo normal y el número de leucocitos aumenta.⁹

Cultivando el esputo se logra identificar el germen causante de la enfermedad y el antibiótico más recomendado para el tratamiento.

El número de gérmenes existentes en una muestra de esputo en fresco, extraída del organismo, en caso de haberlos, es escaso, lo que hace que sea difícil observarlos en el microscopio, por lo que debe realizarse un cultivo. Si hay gérmenes, suelen crecer y el resultado es positivo; sin embargo, a veces a pesar de que existan gérmenes, el resultado es negativo. Esto se debe a que algunos microorganismos son extremadamente sensibles y mueren durante el tiempo que media entre la toma de la muestra y la siembra, también influye la distribución irregular de los microorganismos en la muestra; la selección del material purulento permite evitar este error. La licuefacción y homogeneización de la muestra facilita su manejo, particularmente cuando es muy viscosa.^{7,9}

En la provincia Guantánamo se reporta con mucha frecuencia *Klebsiella pneumoniae* y *Pseudomonas* aislados de esputos de pacientes ambulatorios, cuando se describe que los más frecuentes son *Streptococcus pneumoniae* y *Haemophilus*. En la actualidad otra razón para un diagnóstico etiológico de estas infecciones es el aumento constante en la resistencia a los antibióticos de varios patógenos, a saber, la resistencia a la penicilina de *Streptococcus pneumoniae*, la resistencia a la meticilina de *Staphylococcus aureus* y la resistencia a la ampicilina de *Haemophilus*, así como la alta incidencia de micosis oportunistas.^{15-16, 19-22}

Diagnóstico microbiológico mejorado de las infecciones respiratorias bajas a partir de la muestra de esputo expectorado

A partir de lo anteriormente expuesto y con el objetivo de brindar mayor confiabilidad en el diagnóstico de las IRB a partir de la muestra de esputo expectorado, Expósito LM et al diseñaron el siguiente proceso de análisis de la muestra de esputo expectorado.

1. Toma de muestra de esputo modificada

Anteriormente para la toma de muestra de esputo se le entregaba al paciente un frasco estéril y se le indicaba que al levantarse en la mañana, se lavara la boca y luego expectorara en el frasco estéril y trasladara la muestra al laboratorio; este proceso no garantizaba la calidad de la muestra, por lo que a partir de 1996 Expósito et al instauraron en el CPHEM de Guantánamo, una toma de muestra de esputo expectorado realizado por personal técnico especializado; se procede como se describe a continuación:

- Se cita al paciente al laboratorio a las 7:00 a.m., sin ingerir alimentos, con cepillo y pasta dental.
- Si el paciente porta prótesis deberá retirarlas y se cepilla vigorosamente la cavidad bucal y la lengua con cepillo y pasta dental, enjuagándose con agua estéril, con el objetivo de disminuir la interferencia de la flora orofaríngea.
- El técnico realiza un hisopado orofaríngeo inoculándolo en medio de Agar Sabouraud más cloranfenicol y Agar Sangre, con el objetivo de controlar la flora e identificar los patógenos adheridos a la mucosa orofaríngea.
- Rápidamente el paciente debe toser profundamente y expectorar evitando recolectar saliva. La muestra se deposita en frasco estéril con tapa.

Esta toma de muestra garantiza menor interferencia de la flora bucal, ya que se realiza la limpieza y enjuague con agua estéril de la cavidad bucal; se identifican los patógenos adheridos a la mucosa faríngea, se obtiene el volumen adecuado y representatividad de la muestra, 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.

2. Aplicación del esquema de Murray y Washington

Se realiza un extendido de la parte más purulenta del esputo y se colorea con Gram para determinar la calidad de la muestra por la presencia de más de 25 leucocitos polimorfonucleares y menos de 10 células epiteliales por campo, observado con lente 10X al microscopio óptico (esputo productivo); se tiene presente que para visualizar las bacterias deben estar presente 10^5 UFC/ml.⁸

3. Cultivo

Los esputos mucopurulentos o muy viscoso se tratan con un mucolítico para lograr la homogeneidad de la muestra, ya que las bacterias se distribuyen irregularmente en la muestra.²⁴

Se utiliza como agente mucolítico la solución de acetilcisteína cuya fórmula es:

Cloruro de sodio..... 0.39 gramos
 Fosfato disódico..... 0.06 gramos
 Fosfato monopotásico..... 0.01 gramos
 Agua destilada..... 50 mililitros
 pH 7,4 ±0,2

Esta preparación se envasa en frasco de cristal y se esteriliza a 121°C durante 15 minutos. Al momento de usar se agrega un ampulla de acetilcisteína de 100 mg. Esta solución puede usarse inmediatamente o mantener 2-8°C durante 48 horas.

Procedimiento para la licuefacción del esputo:

1. Recolectar el esputo expectorado en recipiente estéril.
2. De acuerdo al volumen del esputo expectorado, agregar cinco veces el volumen de solución salina 0.85%, agitar para remover la saliva adherida. Retirar la solución salina.
3. Al esputo lavado agregar igual volumen de la solución de acetilcisteína.
4. Mezclar bien y mantener a 37°C en incubadora, agitando periódicamente hasta lograr la licuefacción completa del moco.
5. Realizar la siembra de los esputos productivos en agar sangre, buscando las bacterias que comúnmente crecen en este medio; agar chocolate buscando *Haemophilus influenzae*; agar MacConkey buscando bacilos gram negativos y agar Sabouraud buscando hongos.

Al microorganismo aislado se le realiza el antibiograma por el método de Bauer-Kirby.

Los esputos no productivos (menos de 25 leucocitos polimorfonucleares y más de 10 células epiteliales por campo observados con lente 10X) no se cultivan, porque están contaminados con secreciones orofaríngeas.

En este caso se informa el resultado del hisopado orofaríngeo expresado como flora normal o el nombre del patógeno identificado, según sea el caso.

4. Lectura

Debe interpretarse adecuadamente, a partir del resultado de la aplicación del esquema de Murray y Washington y tomando como referencia el hisopado orofaríngeo en agar sangre y agar Sabouraud.

5. Informe de los resultados

Anteriormente se informaba el nombre del patógeno aislado y el resultado del antibiograma; a partir de 1996 se informa como se muestra a continuación:

Cuando la muestra es no productiva se informa:

- Aspecto del esputo: acuoso o mucoso
- Muestra de esputo no productiva: por la presencia de abundantes células epiteliales indicativas de contaminación de la muestra con secreciones orofaríngeas.

Cuando la muestra es productiva se informa:

- Aspecto: mucoso o mucopurulento y si hay presencia de sangre
- Leucocitos: más de 25 por campo
- Cultivo: nombre de la bacteria aislada
- Resultado del antibiograma: se informan los antibióticos a que resultó sensible o resistente de acuerdo al diámetro del halo de inhibición.
- Resultado del cultivo micológico: se informa en nombre del hongo aislado y se sugiere repetir la muestra para confirmar, ya que muchos hongos que producen patología respiratoria se encuentran en el medio ambiente.
- Nombre del patógenos adheridos a la mucosa orofaríngea o en caso de no encontrarlos se informa "flora normal".

CONSIDERACIONES FINALES

La muestra de esputo expectorado presenta limitaciones para el diagnóstico microbiológico de las infecciones respiratorias bajas, pero el proceso propuesto y aplicado por Expósito et al., cuenta con múltiples

ventajas en relación al utilizado con anterioridad y ha dotado a los médicos de una herramienta más confiable para determinar el agente etiológico de la patología pulmonar. Este proceso se aplica en el CPHEM de Guantánamo desde 1996 con resultados satisfactorios.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Álvarez Sintés R, Hernández Cabrera G, Baster Moro JC, García Núñez RD. *Medina General Integral*. La Habana: Editorial de Ciencias Médicas; 2008.
2. Campo CX, Cárdenas Y, Acosta I, García C, Montilla L, Mosquera M. Función Respiratoria en estudiantes de la Facultad de Ciencias de la Salud Universidad del Cauca. *Rev Areté [Internet]*. 2013 [citado 8 Mar 2015]; 13(1):119-130. Disponible en: <http://revistas.iberamericana.edu.co/index.php/arete/article/view/87/61>
3. Apao Díaz J, Luna Marcell N, Macola Olano S, Rodríguez González DP, Toledo Curbelo GJ. *Introducción a la salud pública*. La Habana: Editorial de Ciencias Médicas; 2008.
4. Cacho Calco JB, Meseguer Peinado MA, Oliver Palomo A, Puig de la Bellacas J. *Diagnóstico microbiológico de las infecciones bacterianas del tracto respiratorio inferior*. España; 2007. [citado 8 Mar 2015]. Disponible en: <http://www.seimc.org/documentos/protocolos/microbiologia>
5. Reyes Salazar IS, Venzant Massó M, García Céspedes ME, Miro Rodríguez J. Actualización del diagnóstico de la neumonía adquirida en la comunidad. *MEDISAN [Internet]*. 2011[citado 12 Abr 2014]; 15 (7): 964-974. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1029-30192011000700012&lng=es&nrm=iso&tlng=es
6. 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; 2008.
7. Koneman E, Procop G, Schreckenberger P, Woods G. *Diagnóstico microbiológico*. México: Editorial Médica Panamericana; 2008.
8. Expósito Boue LM, Bott Croublet AB, de la Torre Rosés I, Betancourt Arguello Y, Sánchez Romero M. Diagnóstico microbiológico mejorado de las infecciones respiratorias bajas. *RIC [Internet]*. 2011[citado 8Mar2014]; 69(1): 1-10. Disponible en: http://www.gtm.sld.cu/sitios/cpicm/contenido/ric/textos/Vol_69_No.1/diagnostico_microbiologico_ira_tc.pdf
9. Widmann KK. *Interpretación clínica de las pruebas de laboratorio*. La Habana: Edición Revolucionaria; 1981.

10. Fragoso Marchante MC, Espinosa Brito AD, Álvarez Amador G, González Morales I, Bernal Muñoz JL, Mosquera Fernández M. Adherencia a las guías de prácticas clínicas sobre neumonía adquirida en la comunidad y su relación con la mortalidad. *MediSur* [Internet]. 2010[citado 8 mar 2014] 8(4): 266-273. Disponible en: <http://www.medisur.sld.cu/index.php/medisur/article/view/880/7180>
11. Llop Hernández A, Valdés-Dapena Vivanco MM, Zuazo Silva JL. *Microbiología y Parasitología Médicas*. La Habana: Editorial de Ciencias Médicas; 2001.
12. Marina Y. La importancia de la coloración de Gram en muestra de Esputo. 18 Enero 2011[citado 8Mar2014]. En: *Importancia de la coloración de Gram*[Internet]. Caracas: Hospital de Niños J.M. de los Ríos; 2011. [citado 8 mar 2014]. Disponible en: <http://diplomadojm.blogspot.com/>
13. García Sánchez JL, Varona Rodríguez FA. *Antimicrobianos: consideraciones para su uso en pediatría*. La Habana: Editorial de Ciencias Médicas; 2009.
14. Jawetz E, Melnik JL, Adelberg Edward A. *Manual de Microbiología Médica*. 14ª ed. La Habana: Editorial de Ciencias Médicas; 2008.
15. Morales Pérez LM, San Román García E, Jerez Castro AM. Neumonía por *klebsiella pneumoniae* en paciente con infarto agudo de miocardio. *CorSalud* [Internet]. 2012 [citado 12 Abr 2014]; 4(2): [aprox. 2 p.]. Disponible en: <http://www.corsalud.sld.cu/sumario/2012/v4n2a12/neumonia.htm>
16. García Martos P, Fernández del Barrio MT, Paredes Salido F. Microbiología del esputo. En: *Microbiología clínica práctica*. 2ªed [Internet]. Ediciones Díaz Santos; 1997.p.165-174 [citado 12 Ene 2014]. Disponible en: <http://books.google.es/books?id=O1pigUGRprwC&printsec=copyright&hl=es#v=onepage&q&f=false>
17. Casellas JM. Resistencia a los antibacterianos en América Latina: consecuencias para la infectología. *Rev Pan Salud Pú* [Internet]. 2011[citado 11 Ene 2014]; 30(6):519-28. Disponible en: http://www.paho.org/journal/index.php?option=com_content&view=article&id=97&Itemid=198
18. Clinical and laboratory standards institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty-third informational supplement [Internet]. 2013 [citado 11 Ene 2014]. Disponible en: <http://www.clsi.org.standard@clsi.org>
19. Expósito Boue LM, Ortiz Vega S, Domínguez Caballero E, Powell Smith S. Resistencia antimicrobiana de cepas aisladas en muestras de esputo. *RIC* [Internet]. 2012 [citado 12 abr 2014]; 73(1):[aprox. 24 p.]. Disponible en:

- http://www.gtm.sld.cu/sitios/cpicm/contenido/ric/textos/Vol_73_No.1/resistencia_antimicrobiana_tc.pdf
20. Franco Bonal A, Silva Valido JA. Resistencia antibacteriana en esputos de pacientes con infecciones respiratorias bajas. RIC [Internet]. 2014 [citado 30Mar2014]; 84(2): 1-11. Disponible en: http://www.gtm.sld.cu/imagen/RIC/Vol_84_No.2/resistencia_antimicrobiana_en_esputos_de_pacientes_con_infecciones_respiratorias_bajas_tc.pdf
21. Noda Albelo A, Vidal Tallet LA, Vidal Tallet JI, Hernández Álvarez L. Streptococcus pneumoniae, mecanismos de resistencia antimicrobiana. Rev Cubana Ped [Internet]. 2011 [citado 12 Ene 14]; 83(3):288-295. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/ped/v83n3/ped08311.pdf>
22. Riverón Proenza I, Legrá Alba N, Del Campo Mulet E, Toledano Grave de Peralta Y, Silvera Digon S. Tratamiento antimicrobiano en pacientes con afecciones respiratorias bajas. MEDISAN [Internet]. 2014 oct [citado 12 abr 2014]; 18 (10): 1372-1378. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1029-0192014001000006&lng=es&nrm=iso&tlng=es
23. Expósito Boue LM, Bott Croublet AB. Evaluación de la toma de muestra modificada de esputo para el diagnóstico de candidiasis pulmonar. RIC [Internet]. 2010 [citado 8Mar2014]; 67 (3): 1-11. Disponible en: http://www.gtm.sld.cu/sitios/cpicm/contenido/ric/textos/Vol_67_No.3/evalua_muestra_esputo_tc.pdf
24. Bridson EY. Culture media: In: The Oxoid Manual [Internet]. 9ªed. Inglaterra: OXOID; 2006. Disponible en: <http://firatozel.files.wordpress.com/2011/09/oxoid-manual-9th-edition.pdf>

Recibido: 4 de enero de 2016

Aprobado: 9 de julio de 2016

Lic. Lourdes Margarita Expósito Boue. Máster en Enfermedades Infecciosas. Licenciada en Microbiología. Asistente. Investigador Agregado. Centro Provincial de Higiene, Epidemiología y Microbiología. Guantánamo. Cuba. **Email:** lourdes@infosol.gtm.sld.cu