

TINCIÓN DE GRAM DEL ESPUTO

Correlación con el cultivo de esputo

DR. ALFONSO G. BAGNARELLO MONGE *

RESUMEN

Quinientas cincuenta y dos muestras de secreciones respiratorias enviadas al laboratorio como "esputo" fueron examinadas en forma prospectiva a través de la tinción de Gram, desde el punto de vista de composición celular y bacteriana, y luego fueron correlacionados con el resultado del cultivo aeróbico de las mismas muestras. El contenido de células epiteliales escamosas y leucocitos polimorfonucleares se usaron como parámetros para definir el grado de contaminación de la muestra con secreciones orales, y grado de purulencia de la muestra respectivamente. En 28/43 muestras (65%) las bacterias cultivadas fueron compatibles con la morfología bacteriana vista en la tinción de Gram de la muestra inicial. En 6/20 muestras (14%), otros patógenos potenciales fueron cultivados en cantidades significativas a pesar que su presencia no fue detectada en el frotis de la muestra inicial. Flora normal fue cultivada como flora única en 9/43 muestras (21%) a pesar de que las muestras parecían poco contaminadas por la composición celular de la muestra inicial. El resto de los esputos (509/552) tenían características microscópicas en el frotis sugerentes de fuerte contaminación con secreciones bucales. Estos resultados sugieren que los cultivos de secreciones respiratorias que muestren significativo grado de contaminación oral de acuerdo al examen microscópico del frotis, son pocos útiles para la interpretación bacteriológica correcta de los estados infecciosos broncopulmonares y pueden conducir a una terapia con antibióticos errados o innecesarios.

* Asistente en Medicina Interna y Enfermedades Infecciosas.
Hospital México, C.C.S.S.

Introducción

En el manejo de infecciones broncopulmonares, los antibióticos son usualmente seleccionados en base a los resultados bacteriológicos obtenidos del cultivo de una buena muestra de esputo expectorado. Sin embargo, si el espécimen enviado está fuertemente contaminado con saliva, los organismos aislados en cultivo no reflejarán fielmente la flora bacteriana responsable del cuadro infeccioso pulmonar. Esta interpretación errónea de un cultivo de "esputo" puede conducir a una escogencia errónea de antibiótico necesitado. Por tanto, es de fundamental importancia, definir lo que constituye una buena muestra de esputo para efectos de proceso bacteriológico y eventualmente para su correcta interpretación clínica. Los resultados de los cultivos serán más confiables para el médico cuando se conoce la calidad de la muestra cultivada; y esta calidad podría definirse de acuerdo al examen microscópico de la muestra en cuestión.

Materiales y métodos

Quinientas cincuenta y dos muestras de secreciones respiratorias enviadas al laboratorio como "esputo", fueron examinadas en forma prospectiva a través de la tinción de Gram, desde el punto de vista de composición celular y bacteriana, y luego fueron correlacionados con el resultado del cultivo aeróbico de las mismas muestras. El contenido de células epiteliales escamosas y leucocitos polimorfonucleares se usaron como parámetros para definir el grado de contaminación de la muestra con secreciones orales, y el grado de purulencia de la muestra, respectivamente. Se incluyeron en el estudio de correlación únicamente muestras con las si-

güentes características en el frotis inicial: menos de 5 células escamosas por campo microscópico 10x, más de 20 leucocitos polimorfonucleados por campo 10x y un tipo único o predominante de bacterias, en 2 o más campos 100x. Las muestras fueron procesadas en el Laboratorio de Microbiología del Hospital General de Philadelphia, U.S.A., usualmente una hora o menos después de su llegada al laboratorio. La porción más gruesa y purulenta del espécimen se usó para frotis y cultivo aeróbico. Los frotis, cultivos e identificación de microorganismos fue efectuado por varios técnicos del laboratorio de bacteriología. Los frotis al Gram fueron analizados por una misma persona (Dr. A.G.B. M.). Identificación bacteriológica se efectuó por medio de técnicas standard. Para organismos gram positivos se usaron: morfología de la colonia, producción de hemólisis, frotis de la colonia, discos de optochin y bacitracina, caldo salino al 6.5%, caldo de bilis-esculina y reactivo para coagulasa. Para organismos gram negativos se usó el sistema r/b, medio de triple azúcar-hierro, úrea, citrato, y medio de Sims.

Las muestras fueron inoculadas en placas de agar-sangre de oveja, McConkey y agar-chocolate, e incubadas a 37° C con 3% CO₂ por 24-48 horas. *Streptococo gamma* y alfa-hemolítico, *Neisseria sp* y difteroides fueron agrupados como flora normal.

Resultados

Quinientas cincuenta y dos muestras fueron examinadas. Cuarenta y tres especímenes satisfacían el criterio microscópico de aceptabilidad descrito anteriormente. En este grupo, 28/43 muestras (65%) cultivaron bacterias que fueron compatibles morfológicamente con las bacterias vistas en el frotis de la muestra inicial. En 6/20 muestras (14%), otros patógenos potenciales fueron cultivados en cantidades significativas a pesar que su presencia no fue detectada en el frotis de la muestra inicial. Flora normal fue cultivada como flora única en 9/43 muestras (21%) a pesar de que las muestras parecían poco contaminadas de acuerdo a la composición celular de la muestra inicial.

El resto de los esputos (509/522) tenían las siguientes características microscópicas en el frotis: más de 5 células escamosas por campo 10x, o menos de 20 leucocitos polimorfonucleares por campo 10x y generalmente flora mixta. De este grupo,

273/509 muestras (53%) mostraron microorganismos potencialmente patógenos en el cultivo.

Discusión

La composición celular de un frotis de esputo examinado microscópicamente, es un factor primordial en la significación clínica otorgada a la población bacteriana vista en dicho frotis y posteriormente identificada en el cultivo de la muestra. La importancia de este concepto ha sido enfatizada recientemente por Barlett (1).

Decisiones de terapia antibiótica en infecciones broncopulmonares, basadas únicamente en el cultivo de esputo pueden ser erróneas. Barrett-Connor (2) ha demostrado que 50% de pacientes con neumonía pneumocócica bacterémica no muestran esputos positivos por *Pneumococo* y que otro patógeno puede ser aislado en el esputo de más del 25% de estos pacientes. Asimismo, pacientes hospitalizados o recibiendo antibióticos muestran un alto grado de colonización de la cavidad oral especialmente con bacilos gram-negativo, y el cultivo de esputo en estos pacientes producirá un alto porcentaje de organismos patógenos aislados en muestras de secreciones del árbol respiratorio, como demostrado por Spencer y Philp (3), los cuales encontraron una incidencia de bacilos entéricos del 29% en cultivos de esputo pertenecientes a enfermos recibiendo antibióticos en contraste al grupo que no recibe antibióticos inicialmente y que mostró *Streptococo pneumoniae* y *Hemophilus influenzae* en la mayoría de los casos. Gran parte de este problema de interpretación clínica de los resultados bacteriológicos puede obviarse como lo hemos demostrado si se selecciona una muestra adecuada, de acuerdo al criterio microscópico esbozado. Por otro lado, los esputos contaminados fuertemente con secreciones orales, demostrado por presencia de gran cantidad de células epiteliales escamosas en el frotis, tendrán en más del 50%, cultivos positivos por organismos patógenos especialmente bacilos gram-negativos. Este último hecho puede confundir al médico que mira únicamente el resultado del cultivo de esputo para seleccionar el antibiótico apropiado, sin correlacionarlo con el frotis de la muestra inicial. Búsqueda de otros componentes celulares en el frotis como histiocitos, eosinófilos y células mononucleares puede ser de ayuda también en la

interpretación clínica de un paciente presumiblemente infectado en su árbol respiratorio. (4, 5, 6, 7).

En resumen, se recomienda que todo paciente con una probable infección broncopulmonar sea estudiado con frotis por Gram y cultivo de una buena muestra de esputo. El frotis se hará de la porción macroscópicamente purulenta o espesa, y se examinará microscópicamente en bajo poder como fase inicial. Aquellos especímenes mostrando pocos o no células escamosas y muchos leucocitos polimorfonucleares en bajo poder serán útiles para ser examinados con inmersión en aceite con el objeto de determinar flora bacteriana predominante. Asimismo estos especímenes son aceptables para el cultivo aeróbico inmediato.

Cultivos de especímenes con evidencia de fuerte contaminación con secreciones orales por examen microscópico son inadecuadas para la correcta interpretación clínica y bacteriológica de los procesos pulmonares infecciosos, y pueden originar decisiones erróneas en la escogencia del antibiótico apropiado.

Abstract

Five hundred and fifty two samples of respiratory secretions labeled as sputum were examined prospectively by Gram Stain, in regard to cellular and bacterial composition and subsequently, correlated with the culture of the samples. Acceptable samples were defined according microscopic criteria. Within the latter group, culture results were compatible with bacteria seen in the Gram stain in 28/43 samples (65%). Fifty three

percent of samples with significant admixture with oral secretions, grew out a potential pathogen. This data indicate that bacterial culture reports from specimens with evidence of gross contamination with oral secretions by microscopic examination, are useless for the correct bacteriological interpretation of pulmonary infections processes, and may be the cause of erroneous decisions concerning antibiotic therapy.

BIBLIOGRAFIA

- 1.—BARTLETT RC:
A plea for clinical relevance in medical microbiology. *Am J. Clin Pathol* 61:867, 1974.
- 2.—BARRETT-CONNOR E.:
The non value of sputum culture in the diagnosis of pneumococcal pneumonia. *Am Rev Resp Dis* 103:845, 1971.
- 3.—SPENCER RC, PHILP JR.:
Effect of previous antimicrobial therapy on bacterial findings in patients with primary pneumonia. *Lancet* 2: 349, 1973.
- 4.—CHODOSH S.:
Examination of sputum cells. *N. Engl J. Med* 282:854, 1970.
- 5.—EPSTEIN RL.:
Constituents of sputum: a simple method. *Ann Inter Med* 17: 259, 1972.
- 6.—MEDICI TC, CHODOSH S.:
Sputum cell dynamics in bacterial exacerbations of chronic bronchial disease. *Arch Intern Med*. 129:597, 1972.
- 7.—MEDICI TC, CHODOSH S.:
The reticuloendothelial system in chronic bronchitis. *Am Rev Resp Dis* 105:792, 1972.