

## “*Streptococcus pneumoniae*”: Valoración e identificación rápida de estirpes aisladas de muestras de esputo

D. Apraiz\* / E. Urra\* / L. Aliaga\*\*

### RESUMEN

Se realiza un estudio de la correlación entre el aislamiento de *S. pneumoniae* de 4.242 muestras de esputos y el diagnóstico clínico. La identificación de *S. pneumoniae* se hizo mediante la prueba de la optoquina y la técnica de aglutinación del látex. Se aisló *S. pneumoniae* solo o en asociación con otros gérmenes en 142 muestras (3,4 %), siendo la asociación más frecuente con *H. influenzae* (23,9 %). La mayor incidencia ocurrió en niños menores de 5 años y en adultos de edades comprendidas entre 50 y 75 años. Las neumonías neumocócicas representaron el 19,7 % y las enfermedades crónicas del tracto respiratorio fueron las de mayor incidencia con un 49,4 %.

Todas las estirpes fueron sensibles a la penicilina y solamente 13 estirpes (9,15 %) se mostraron resistentes a la eritromicina.

### Introducción

El análisis bacteriológico de esputos, con el fin de realizar el diagnóstico de infecciones del tracto respiratorio inferior, es uno de los más solicitados al

laboratorio de Microbiología Clínica. Sin embargo, los resultados del cultivo de esputo son de difícil interpretación, debido a su frecuente contaminación con la flora de la orofaringe y de la boca. Ha sido demostrado que son más adecuadas las muestras del tracto respiratorio inferior obtenidos mediante aspiración bronquial y punción transtraqueal<sup>1, 2</sup>.

El microorganismo responsable de la mayoría de las neumonías bacterianas es el *Streptococcus pneumoniae*, seguido de *Klebsiella pneumoniae* y *Haemophilus influenzae*<sup>3</sup>. Sin embargo, *S. pneumoniae* puede actuar como un microorganismo oportunista y aislarse en casos de broncopatías crónicas y otros cuadros respiratorios<sup>4</sup>.

En el presente trabajo, se indican los resultados del estudio de la correlación entre el aislamiento de *S. pneumoniae* de esputos y el diagnóstico clínico, con el fin de conocer la incidencia de *S. pneumoniae* en diversos cuadros respiratorios. También hemos correlacionado los resultados de la identificación de *S. pneumoniae* mediante la aglutinación de partículas de látex sen-

sibilizadas con anticuerpos frente a la cápsula y la prueba de la optoquina.

### Material y métodos

En el presente trabajo se han estudiado 4.242 muestras de esputo enviadas al Servicio de Microbiología y Parasitología de la Clínica Universitaria de Navarra, durante el período comprendido entre febrero de 1982 y octubre de 1983.

De cada muestra se realizó un examen directo mediante la tinción de Gram, indicando la presencia de leucocitos polimorfonucleares, células descamativas y diplococos Gram positivos. El cultivo de los esputos se realizó en agar sangre, agar chocolate y agar Mac Conkey y las placas se incubaron a 36°C durante 24 horas en una atmósfera del 10 % en CO<sub>2</sub>.

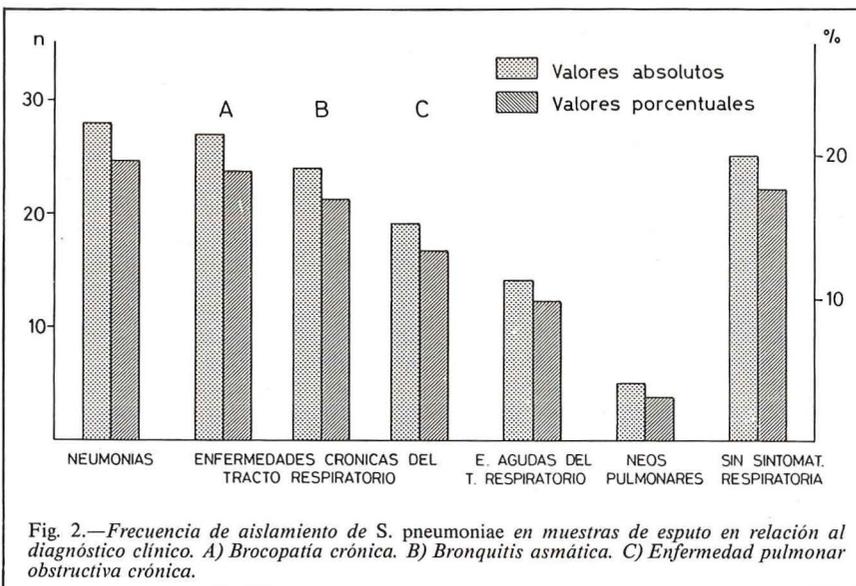
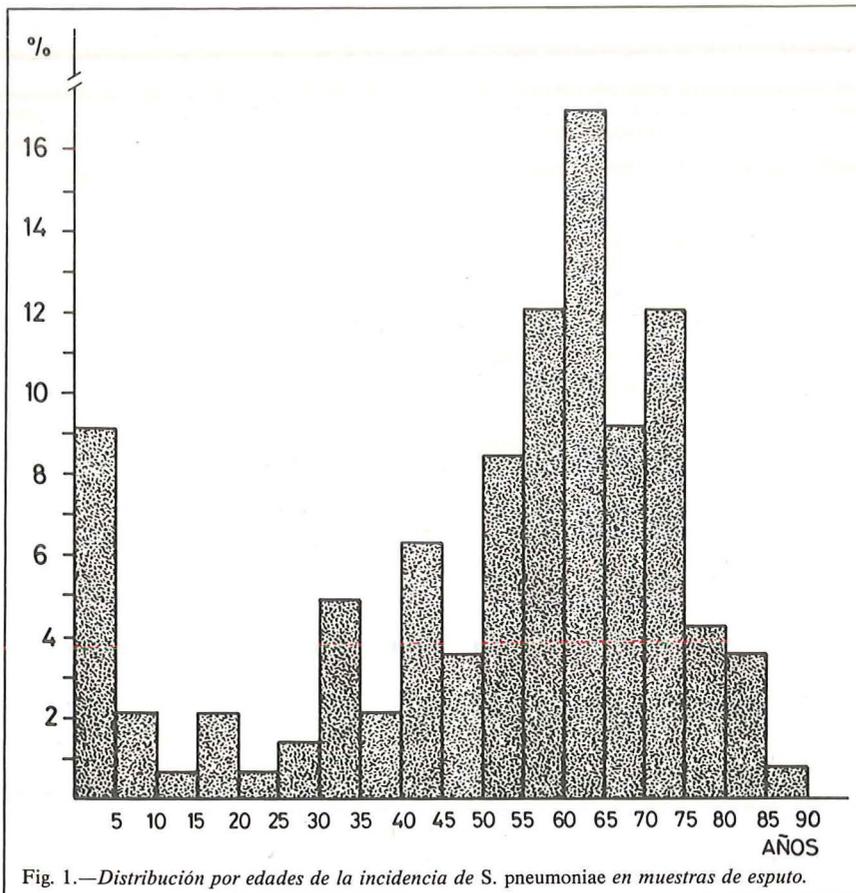
La identificación se realizó mediante la prueba de la optoquina<sup>5</sup> y la técnica de aglutinación de partículas de látex sensibilizadas con anticuerpos frente a la cápsula de los 83 serotipos de *S. pneumoniae* (Slidex pneumo-Kit, bioMérieux).

Tabla I. ESTIRPES AISLADAS DE 142 MUESTRAS DE ESPUTO

	n	%
<i>S. pneumoniae</i> en cultivo puro	90	63,4
<i>S. pneumoniae</i> asociado a <i>H. influenzae</i>	34	23,9
<i>S. pneumoniae</i> asociado a otros gérmenes	18	12,7

\* Departamento de Microbiología y Parasitología.

\*\* Departamento de Medicina Interna. Clínica Universitaria. Facultad de Medicina. Universidad de Navarra. Pamplona.



El estudio de la susceptibilidad antimicrobiana se realizó mediante el método de difusión en agar según la técnica descrita por Kirby-Bauer<sup>6</sup>. Como medio de cultivo se utilizaron

placas de agar-sangre. Los antibióticos testados fueron la penicilina (10 u) y la eritromicina (15 ug) de la casa Difco. Se consideran sensibles, aquellas estirpes cuyo diámetro del halo de

inhibición del crecimiento era 21 mm para la penicilina y 14 mm para la eritromicina.

## Resultados

De las 4.242 muestras estudiadas, en 142 (3,4 %) se aisló *S. pneumoniae* solo o en asociación con otros gérmenes. Ninguna de las estirpes aisladas creció en presencia de optoquina y solamente dos estirpes no aglutinaron a las partículas de látex sensibilizadas, lo que supone un 1,4 % de falsos negativos.

En la tabla I, se expresan los resultados de los aislamientos obtenidos. En 90 casos (63,4 %) se aisló *S. pneumoniae* en cultivo puro. La asociación más frecuente fue de *S. pneumoniae* con *H. influenzae*, que ocurrió en 34 casos (23,9 %). La incidencia de cultivos mixtos con otros gérmenes: enterobacterias, *Staphylococcus aureus* y bacilos gram negativos no fermentadores, fue del 12,7 %.

En la figura 1 se expresa la distribución por edades de la incidencia de *S. pneumoniae*. La mayor incidencia ocurrió en niños menores de 5 años y en adultos de edades comprendidas entre 50 y 75 años. En relación con el sexo, la incidencia fue mayor en los varones (73,9 %) frente a las hembras (26,1 %).

La distribución según la procedencia de las muestras en las que se aisló *S. pneumoniae* demostró una mayor frecuencia en las muestras remitidas por Medicina Interna (31,8 %), Alergología (25,4 %) y Unidad de Cuidados Intensivos (15,5 %).

La figura 2 representa la frecuencia de aislamiento en valores absolutos y porcentuales con relación al diagnóstico clínico del enfermo. Las neumonías nemocócicas, diagnosticadas tanto microbiológica como radiológicamente, representaron el 19,7 %. Las enfermedades crónicas del tracto respiratorio el 49,4 %: (19 %) broncopatías crónicas, (17 %) bronquitis asmáticas y 13,4 % enfermedad pulmonar obstructiva crónica. Las enfermedades agudas del tracto respiratorio, sin manifestación radiológica representan el 9,8 %, siendo las neoplasias pulmonares las de menor incidencia, con un 3 %. Hay que destacar que en el 17,6 % de los enfermos en los que se aisló *S. pneumoniae* no se pudo comprobar la presencia de sintomatología respiratoria.

El estudio de la susceptibilidad antimicrobiana "in vitro" de *S. pneumoniae* frente a la penicilina y eritromicina, demostró que el 100 % de las estirpes fueron sensibles a la penicilina, sin embargo, se observaron 13 estirpes resistentes a la eritromicina.

## Discusión

*S. pneumoniae*, puede ser encontrado en el tracto respiratorio superior formando parte de la flora normal en un 20-70 % de la población sana<sup>7, 8, 9, 10</sup>. Varios autores<sup>2, 4, 11, 12</sup>, coinciden en el hecho de que el examen de los esputos es de difícil interpretación, puesto que pueden dar lugar a falsos resultados debido a la frecuente contaminación con la flora orofaríngea. En el presente estudio se observa que la presencia de *S. pneumoniae* no es sinónimo de patología neumocócica del tracto respiratorio, ya que el 17,6 % de los aislamientos de *S. pneumoniae* no se asociaron con sintomatología respiratoria y se consideraron como integrantes de la flora orofaríngea normal. Todo ello contribuye a pensar que la presencia de *S. pneumoniae* en el esputo debe ser valorado a la luz de otros datos: historia clínica, sintomatología, calidad del esputo mediante el examen microscópico, etc.

Los resultados del presente trabajo confirman los descritos por otros autores<sup>13, 14</sup>, al haberse encontrado que las infecciones neumocócicas predominan en niños de corta edad y en adultos de más de 50 años.

A pesar de que el mayor porcentaje de aislamientos correspondió a *S. pneumoniae* en cultivo puro, hay que destacar la gran incidencia de asociación del mismo a *H. influenzae*. De los 34 casos en los que se encontró esta asociación, 26 correspondieron a enfermos con broncopatía crónica en período de reagudización, lo cual está en concordancia con los resultados descritos por otros autores<sup>2, 13, 15</sup>. El papel de las infecciones bacterianas como causa inicial en las exacerbaciones de las broncopatías crónicas es aún desconocido. Sin embargo, se ha observado una relación directa entre la presencia de estas infecciones bacterianas y la duración del cuadro agudo en este tipo de enfermos<sup>15</sup>.

La asociación de *S. pneumoniae* con otros gérmenes: enterobacterias, *S. aureus* y bacilos gram negativos no fermentadores, se presentó en 18 casos,

de los cuales 9 correspondieron a pacientes sin sintomatología respiratoria, y solamente 5 se asociaron a enfermos con broncopatía crónica. En estos casos la interpretación de los resultados es muy difícil, ya que el esputo puede estar contaminado por flora orofaríngea. Por tanto, sería conveniente acudir a la obtención de muestras procedentes de vías respiratorias inferiores por otros métodos como aspiración bronquial o punción transtraqueal<sup>1, 2</sup>.

La penicilina G, sigue siendo el antimicrobiano de elección en pacientes con infecciones por neumococo; no obstante, hay que destacar la actividad de la eritromicina (9,15 % de estirpes resistentes), aplicable en aquellas infecciones neumocócicas de pacientes alérgicos a los antibióticos B-lactámicos.

La técnica de aglutinación del látex ha sido ampliamente utilizada en la identificación de *S. pneumoniae*<sup>16, 17, 18, 19</sup>.

En el presente trabajo todas las colonias alfa-hemolíticas sospechosas se enfrentaron a partículas de látex sensibilizado, produciendo una aglutinación neta en todas las estirpes de *S. pneumoniae* excepto en dos, las cuales se aislaron de enfermos sin sintomatología respiratoria. Esto puede ser debido a la frecuente aparición de *S. pneumoniae* no capsulado en la flora orofaríngea. Las ventajas frente a las técnicas bacteriológicas radican en la rapidez de la identificación (disminuyen en 24 horas el diagnóstico etiológico), así como la especificidad de la misma, siendo además un método sencillo y económico.

## Bibliografía

1. Haas H, Morris J F y Samson S. *Bacterial flora of the respiratory tract in chronic bronchitis: Comparison of transtracheal, fiberbronchoscopic and oropharyngeal sampling methods*. Amer Rev Resp Dis 116: 41-47, 1977.
2. Offredo-Hemmer C. *Analyse bactériologique des expectorations dans les infections bronchopulmonaires non tuberculeuses*. Méd Mal Infect 10, 11 bis: 622-626, 1980.
3. Finegold S M y Martin W J. *Diagnostic Microbiology*. The C.V. Mosby Company. St. Luis 1982, 6.ª ed., p. 73.
4. Clergeau P. *Aspects bactériologiques et épidémiologiques actuels du pneumocoque*. Lyon Pharmaceutique 31: 147-153, 1980.
5. Lund E. *Laboratory diagnosis of Pneumococcus infections*. Bull Wed Heth Org 23: 5-13, 1960.
6. Bauer A W, Kirby W M M, Sherris V C y Turk M. *Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method*. Tech Bul Reg Tchm 36: 39-52, 1966.
7. Hendley J O, Sande M A, Stewart P M y Gwaltney J M Jr. *Spread of "Streptococcus pneumoniae" in families. I. Carriage rates and distribution of types*. J Infect Dis 132: 55-61, 1975.
8. Boisvion A y Guilbert J. *La pathologie du pneumocoque en 1979*. Gaz Méd Fr 86: 4.641-4.644, 1979.
9. Goldstein F W y Azoulay G. *Actualité des pneumocoques*. Conc Méd 22: 5.888-5.896, 1977.
10. Mouton Y y Brion M. *Infections à pneumocoques*. Mal Infect 8012 A 10, 1979.
11. Barret-Connor E. *The non value of sputum culture in the diagnosis of bacterial pneumonia*. Am Rev Respir Dis 103: 445-484, 1971.
12. Van Scoy R E. *Bacterial sputum cultures, a clinician's viewpoint*. Mayo Clin Proc 52: 39-41, 1977.
13. Mandell G L, Douglas R G y Bennett J E. *Principles and Practice of Infectious Diseases*. Wiley Medical Publication. Nueva York 1979, p. 1.594.
14. Austrian R. *Pneumococcal pneumonia*. J of Infection 1, supl. 2 sept.: 17-22, 1979.
15. Leeder S R. *Role of infection in the cause and course of chronic bronchitis and emphysema*. J Infect Dis 131: 731-742, 1975.
16. Saulnier M, Terrot C, Denis F y M'Bou P. *Test d'agglutination au latex dans le diagnostic des pleuresies purulentes. Comparaison avec la contre-immunoelectrophorèse et la bactériologie*. Rev Francaise des Laboratoires 104: 64-66, 1982.
17. Denis F, Saulnier M y Chiron J P. *Diagnostic étiologiques rapide des méningites purulentes par agglutination passive indirecte de particules de latex et par contre-immunoelectrophorèse: expérience et perspectives*. Bull Org Mond Santé 59, 1: 143-151, 1981.
18. Kaldor J, Asznovicz y Buist D G P. *Latex agglutination in diagnosis of bacterial infections, with special reference to patient with meningitis and septicemia*. Am J Clin Pathol 68: 284-289, 1977.
19. Whittle H C, Tugwell P, Egler L J y Greenwood B M. *Rapid bacteriological diagnosis of pyogenic meningitis by latex agglutination*. Lancet ii: 619-621, 1974.

## "STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE". ASSESSMENT OF ISOLATED STRAINS IN SPUTUM

### Summary

4.242 sputum samples were analyzed. The clinical diagnosis was analyzed when *S. pneumoniae* was found. *S. pneumoniae* was identified by means of the optochin-disks and latex agglutination test. 142 sputum samples (3,4 %) were positive for *S. pneumoniae* as the single bacteria isolated or in association with other pathogens. The more frequent concomitant bacterium was *H. influenzae* (23,9 %). The large incidence rates occurred in children below 5 years-old and adults at ages 50 to 75.

*S. pneumoniae* was isolated more frequent from patients having pneumonia (19,7 %) or chronic respiratory diseases (49,4 %). All but 13 (9,15 %) of the isolated strains were sensible to erythromycin, while no resistance was observed to penicillin.