

## AISLAMIENTO DE *M. TUBERCULOSIS*, EN FUNCION DEL GRADO DE CONTAMINACION DEL ESPUTO

V. AUSINA, C. MARTI, B. MIRELIS y N. RABELLA.

Hospital de la Santa Cruz y San Pablo.  
Barcelona. Servicio de Microbiología.

### Introducción

La interpretación de los resultados del cultivo de esputo en pacientes con infección del tracto respiratorio inferior es siempre difícil, excepto cuando se aíslan patógenos primarios como *M. tuberculosis* y algunos hongos causantes de micosis profundas. El aislamiento de otros gérmenes tales como neumococo, *S. aureus*, *H. influenzae*, *P. aeruginosa*, enterobacterias, e incluso *C. albicans*, que pueden encontrarse como comensales en el tracto respiratorio superior, plantea mayores problemas y el valor del posible patógeno aislado va a depender en gran parte de la evidencia de que la muestra cultivada proceda del tracto respiratorio inferior<sup>1</sup>.

Pese a la reconocida baja rentabilidad del esputo en el diagnóstico de las infecciones respiratorias, algunos autores<sup>2,3</sup> han propuesto un sistema microscópico de evaluación en base a la tinción de Gram para determinar el grado de contaminación bucofaríngea. Así, las muestras que presentan menos de 25 células de descamación epitelial y al menos 10 leucocitos por campo a pequeño aumento (x 100), son consideradas empíricamente aptas para el cultivo<sup>1-3</sup>.

El grado de contaminación bucofaríngea en esputos destinados al cultivo de *M. tuberculosis*, se considera, en general, menos importante<sup>1,4,5</sup>. No obstante, son muchos los laboratorios clínicos que rechazan esputos destinados al cultivo de *M. tuberculosis* por las características macroscópicas de la muestra (presencia de saliva) o microscópicas (Gram).

El objetivo del presente estudio se centra en determinar si los criterios establecidos para evaluar la calidad del esputo destinado al cultivo de patógenos ocasionales pueden ser también aplicados a esputos destinados al cultivo de *M. tuberculosis*.

### Material y métodos

Un total de 1.496 esputos fueron procesados para el cultivo de *M. tuberculosis* utilizando como procedimientos de homogeneización-decontaminación el de Taquet y Tison<sup>6</sup> y Corper-Stoner —modificado—<sup>7</sup>, indistintamente.

Las extensiones para Gram y Ziehl-Neelsen se prepararon a partir de un fragmento de esputo lo más purulento posible, tras realizar dos lavados en agua destilada estéril.

El Gram fue examinado microscópicamente a pequeño aumento (X 100) para cuantificar el número de células de descamación epitelial y leucocitos por campo. Para la clasificación de las muestras se siguieron los criterios que se exponen en la tabla I, según las recomendaciones de la American Society for Microbiology<sup>1</sup>. Se ha considerado además un subgrupo O<sup>5</sup> en el que se han incluido aquellas muestras difíciles de evaluar y no incluíbles en otros subgrupos.

La expresión semicuantitativa de los resultados del Ziehl-Neelsen se hizo de acuerdo con los criterios recomendados por la American Lung Association<sup>5</sup>. Para el aislamiento e identificación de *M. tuberculosis* se utilizaron técnicas convencionales<sup>8-10</sup>.

Ninguna muestra de las incluidas en este estudio procedía de pacientes sometidos a tratamiento con fármacos antituberculosos.

### Resultados

De los 1.496 esputos procesados se aislaron 153 cepas de *M. tuberculosis*; se aislaron también micobacterias no tuberculosas, sin significación patógena, en tres casos (2 cepas de *M. gordonae* y 1 de *M. fortuitum*).

Recibido el día 14 de abril de 1980.

TABLA I

Criterios microscópicos de evaluación de esputos destinados a cultivo bacteriológico (a).

GRUPOS (c)	SUBGRUPOS	CELULAS (N.º/CAMPO) (b)	
		CELULAS DESCAMACION EPITELIAL	LEUCOCITOS
—	6	< 25	< 25
	5	< 10	> 25
B	4	10-25	> 25
	3	> 25	> 25
	2	> 25	10-25
A	1	> 25	< 10
—	0	Difíciles de evaluar No incluíbles en ninguno de los grupos anteriores	

- (a) Criterios de la American Society for Microbiology (modificados)
- (b) 100 X
- (c) Grupo A: gran contaminación bucofaringea  
Grupo B: escasa o nula contaminación

Los resultados globales obtenidos se presentan en la tabla II.

El mayor porcentaje global de aislamientos en relación al número total de muestras procesadas se obtuvo con el subgrupo 5 (17,1 %) en el que están incluidas las muestras de superior calidad.

Sin considerar en el cómputo global los subgrupos 0 y 6 en los que se incluyen aquellas muestras de más difícil evaluación, con los restantes subgrupos pueden hacerse dos grandes grupos. El grupo A, en el que se incluyen las muestras con gran contaminación bucofaringea (subgrupos 1 y 2) y el grupo B, en el que se incluyen las muestras con escasa o nula contaminación (subgrupos 3, 4, 5).

Tal como se muestra en la tabla II, se aislaron 43 cepas de *M. tuberculosis* (28,1 % del total de aislamientos) a partir de esputos incluidos en el grupo A y 89 cepas (58,2 % del total) a partir de esputos incluidos en el grupo B.

Las diferencias entre ambos grupos son estadísticamente significativas ( $\chi^2 = 15,39$  P 10,01).

Discusión

Dada la baja rentabilidad del esputo en el diagnóstico de las infecciones respiratorias, Murray y Washington<sup>3</sup> propusieron una clasificación microscópica con el fin de poder seleccionar para cultivo las muestras de superior calidad.

Estos criterios han sido valorados positivamente y aceptados<sup>1,2</sup>.

Curione y cols.<sup>5</sup> aplicando estos criterios a esputos destinados al cultivo de *M. tuberculosis* no encontraron diferencias estadísticamente significativas entre el número de aislamientos de *M. tuberculosis* en muestras con gran contaminación bucofaringea con respecto a aquellas en que ésta era escasa o nula, por lo que concluyeron que estos criterios no eran aplicables a esputos destinados al cultivo de *M. tuberculosis*.

Nuestros resultados difieren ostensiblemente de los de Curione y cols., ya que hemos encontrado diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos de muestras. No obstante, el porcentaje nada desdeñable de aislamientos de *M. tuberculosis* a partir de muestras con alto grado de contaminación, debe obligar al laboratorio a procesar para cultivo tales muestras.

Consideramos importante resaltar, que esto no excluye la conveniencia de solicitar del clínico el envío al laboratorio de nuevas muestras de superior calidad.

Resumen

Un total de 1.496 esputos remitidos al laboratorio para cultivo de *M. tuberculosis* se han clasificado en siete subgrupos en base al grado de contaminación bucofaringea según los criterios microscópicos propuestos por la American Society for Microbiology (Cumitech, 7).

De las 153 cepas de *M. tuberculosis* aisladas, 43 (28,1 %) procedían de esputos con gran contaminación bucofaringea (subgrupos 1 y 2) y 89

TABLA II

Aislamiento de *M. tuberculosis* a partir de esputos con diferente grado de contaminación bucofaringea

N.º DE ESPUTOS PROCESADOS	GRUPOS	SUBGRUPOS	N.º DE AISLAMIEN- TOS DE <i>M. TUBER- CULOSIS</i> (%)	0	ZIEHL-NEELSEN			N.º DE COLONIAS EN LÖWENSTEIN-JENSEN		
					(+)	(++)	(+++)	1-10	10-100	> 100
162	—	0	9 (5,5)	—	4	4	1	1	6	2
361	A	1	25 (6,9)	11	9	2	3	14	8	3
240	A	2	18 (7,5)	4	6	4	4	7	8	3
208	B	3	17 (8,2)	6	3	5	3	4	8	5
209	B	4	34 (16,2)	5	6	7	16	8	13	13
216	B	5	38 (17,1)	6	17	4	11	10	11	17
100	—	6	12 (12,0)	3	3	4	4	2	6	3

(58,2 %) de esputos con escasa o nula contaminación (subgrupos 3, 4 y 5). Las diferencias en el número de aislamientos de ambos grupos son estadísticamente significativas ( $\chi^2 = 15,39$   $P < 0,01$ ). Sin embargo, ningún laboratorio clínico está autorizado a rechazar los esputos con alto grado de contaminación bucofaringea destinados a cultivo de *M. tuberculosis* ya que la proporción global de aislamientos en este grupo de muestras es del 7,1 %.

### Summary

ISOLATION OF *M. TUBERCULOSIS* IN FUNCTION OF THE DEGREE OF CONTAMINATION OF THE SPUTUM.

A total of 1,496 sputum sent to the laboratory for culture of *M. tuberculosis* were classified into seven subgroups based on the degree of buccopharyngeal contamination according to the microscopic criteria proposed by the American Society for Microbiology.

Of the 153 strains of *M. tuberculosis* that were isolated, 43 (28.1 %) came from sputum with great buccopharyngeal contamination (subgroups 1 and 2); and 89 (58.2 %) from sputum with scarce or null contamination (subgroups 3, 4 and 5). The differences in the number of isolations of both groups are statistically significant ( $\chi^2 = 14.39$   $P < 0.01$ ). However, no clinical laboratory is authorized to reject sputum with high degree of buccopharyngeal contamination destined to the culture of *M. tuberculosis* as the global

proportion of isolations in this group of samples is of 7.1 %.

### BIBLIOGRAFIA

1. BARTLETT, J. G., BREWER, N. S. y RYAN, K. J.: Laboratory diagnosis of lower respiratory tract infections. Coordinating ed., J. A. Washington II. *Cumitech*, 7. American Society for Microbiology, Washington, D.C., 1979.
2. GECKLER, R. W., GREMILLION, D. H., McALLISTER, C. K. y ELLENBOGEN, CH.: Microscopic and bacteriological comparison of paired sputa and transtracheal aspirates. *J. Clin. Microbiol.*, 6: 396, 1977.
3. MURRAY, P. R. y WASHINGTON II, J. A.: Microscopic and bacteriologic analysis of expectorated sputum. *Mayo Clin. Proc.*, 50: 339, 1975.
4. YEAGER, H., LACY, J., SMITH, L. D., LE MAISTRE, C. A.: A quantitative studies of mycobacterial populations in sputum and saliva. *Am. Rev. Resp. Dis.*, 95: 998, 1967.
5. CURIONE, C. J. Jr., KANEKO, G. S., VOSS, L. S., HESSE, F. y SMITH, R. F.: Gram stain evaluation of the quality of sputum specimens for mycobacterial culture. *J. Clin. Microbiol.*, 3: 381, 1977.
6. TAQUET, A. y TISON, F.: Résultat de l'isolement des mycobactéries par le lauryl-sulfate de sodium. *Ann. Inst. Pasteur*, 100: 676, 1961.
7. CORPER, H. J. y STONER, R. E.: An improved procedure for the diagnostic culture of mammalian tubercle bacilli. *J. Lab. Clin. Med.*, 31: 1364, 1946.
8. KUBICA, G. P. y DYE, W. E.: Laboratory methods for clinical and public health mycobacteriology. *Public Health Service Publication*, N.º 67-1547. Center for Disease Control, Atlanta, 1967.
9. VESTAL, A. L.: Procedures for the isolation and identification of mycobacteria. *Public Health Service Publication*, N.º 77-8230. Center for Disease Control, Atlanta, 1977.
10. RUNYON, E. H., KARLSON, A. G., KUBICA, G. P. y WAYNE, L. G.: Mycobacterium. En *Manual of Clinical Microbiology*, 2.ª Ed. American Society for Microbiology, Washington, D. C., 1974.