

**Utilidad del diagnóstico rápido de *Haemophilus influenzae* en muestras respiratorias**

**Sr. Director:** El examen microscópico de las secreciones respiratorias expectoradas y su posterior cultivo, siguen siendo técnicas empleadas de forma habitual en numerosos laboratorios para la evaluación etiológica de las neumonías, a pesar de la continua controversia referente a su sensibilidad y especificidad<sup>1</sup>. Del conjunto de muestras respiratorias, el esputo se obtiene por métodos no invasivos, sin riesgo para el paciente y permite establecer en ocasiones una evaluación inmediata y, por tanto, un diagnóstico presuntivo, fundamentalmente en aquellos casos en los que el enfermo consigue expectorar secreciones profundas. La implicación de *Haemophilus influenzae* en diversos procesos infecciosos y la aparición de resistencias frente a diversos antibióticos ha hecho que en los últimos años se hayan desarrollado diversas técnicas de diagnóstico rápido. Hemos utilizado una técnica de aglutinación de látex (Directigen, Becton-Dickinson) para la detección rápida de *H. influenzae* en muestras respiratorias, y hemos comparado los resultados con los obtenidos tras el examen microscópico directo (EMD) y el cultivo microbiológico.

Se estudiaron un total de 612 muestras respiratorias (510 esputos y 102 aspirados traqueales), procedentes de pacientes con sospecha de infección respiratoria. Con el objeto de reducir la contaminación orofaríngea las muestras se lavaron con suero fisiológico según el método de Mulder<sup>2</sup>, y posteriormente se seleccionaron las porciones más representativas. El EMD se realizó mediante tinción de Gram y se cuantificó la presencia de células epiteliales (CE), leucocitos polimorfonucleares (LPN) y microorganismos. Únicamente se incluyeron en el estudio aquellas muestras que contenían ≤ 10 CE y ≥ 25 LPN a bajo aumento (×100); las muestras con un predominio de CE se consideraban significativamente contaminadas con saliva y no fueron procesadas. En la circunstancia clínica apropiada, un predominio de cocobacilos gramnegativos en la tinción de Gram sugería infección (> 5 bacterias/campo de inmersión); en estos casos el EMD era considerado positivo. Los especímenes válidos se cultivaron semicuantitativamente en medios habituales. De acuerdo con Bartlett y Finegold<sup>3</sup>, se conside-

ró que las bacterias patógenas podrían ser responsables del cuadro clínico cuando estaban presentes en una concentración > 10<sup>6</sup> UFC/ml; en estos casos la identificación de *H. influenzae* fue realizada mediante métodos convencionales. La detección de antígeno capsular se realizó de acuerdo con las indicaciones del fabricante. Una aglutinación evidente de la muestra con el antisero específico y la ausencia de aglutinación en el control de látex era interpretada como un resultado positivo. La existencia de aglutinación en el control de látex se consideró un resultado ininterpretable o autoaglutinable.

Los resultados obtenidos combinando las distintas pruebas realizadas y considerando el cultivo como método de referencia quedan reflejados en la tabla I. Cabe destacar que en 136 (22%) de las 612 muestras estudiadas se aisló *H. influenzae*, de las cuales tan sólo 31 (23%) dieron positiva la aglutinación de látex, mientras que 65 (48%) fueron falsos negativos y 40 (29%) ininterpretables. Por su parte, las 476 (78%) muestras restantes fueron negativas por cultivo, de las cuales, 382 (80%) resultaron también negativas en la detección de antígeno capsular, 6 (1%) fueron falsos positivos y 88 (19%) ininterpretables. Con respecto a la tinción de Gram, 386 (81%) muestras con cultivos negativos presentaron un EMD también negativo, mientras que 121 (89%) muestras con cultivos positivos fueron detectadas por la tinción de Gram.

Aunque los resultados de los cultivos y de la tinción de Gram son utilizados de forma rutinaria por algunos laboratorios en la evaluación de pacientes con sospecha de infección respiratoria por *H. influenzae*, la sensibilidad de estos procesos es menor de la esperada. En nuestro estudio hemos considerado el cultivo de secreciones respiratorias como el método de referencia para determinar la sensibilidad y especificidad de los resultados de la prueba de látex. Otros autores utilizan como referencia el diagnóstico clínico y radiológico, el hemocultivo o el cultivo de muestras respiratorias obtenidas con métodos invasivos. Estas últimas, sin embargo, no siempre están justificadas y, aunque sus principales ventajas estriban en la obtención de una muestra representativa del foco de infección, evitando la contaminación orofaríngea, sus indicaciones quedan limitadas a pacientes con neumonía de alto riesgo.

La detección de antígeno capsular es considerada una técnica alternativa cuando los métodos convencionales son negativos<sup>4</sup>. La positividad de los cultivos depende de la presencia de microorganismos viables, lo cual

no es necesario en las pruebas de látex. *H. influenzae* puede también quedar enmascarado por otros microorganismos en las placas de cultivo o puede autolisarse si las muestras no son transportadas rápidamente al laboratorio. Tampoco hay que olvidar que la flora microbiana saprofita presente en el tracto respiratorio superior puede ocultar la presencia de *H. influenzae* en la tinción de Gram, o que el tratamiento previo con antibióticos puede inhibir su crecimiento en los cultivos, disminuyendo la rentabilidad diagnóstica de estas técnicas. En tales circunstancias, la detección de antígenos patógenos respiratorios aportaría una ayuda al diagnóstico.

La presencia de otras especies bacterianas en las muestras puede ser la responsable de los falsos positivos en el test de látex o de resultados ininterpretables, debido a la existencia de reacciones cruzadas entre sus polisacáridos capsulares. La presencia de factor reumatoide o de ciertas inmunoglobulinas también se ha relacionado con este fenómeno<sup>5</sup>.

A raíz de los resultados obtenidos y dado que la mayoría de cepas de *H. influenzae* que causan otitis media, sinusitis y conjuntivitis en niños e infecciones respiratorias en pacientes bronquíticos crónicos o con fibrosis quística no tienen cápsula demostrable mediante tipificación con antiseros específicos<sup>6</sup>, la aplicación indiscriminada de esta prueba en ausencia de una sospecha clínica o de patrones radiológicos compatibles estaría poco justificada, fundamentalmente en aquellos casos en los que la tinción de Gram haya sido negativa.

**J. Colomina y J. Villar**

Servicio de Microbiología. Hospital Clínico Universitario. Facultad de Medicina. Valencia.

TABLA I

**Detección de antígeno capsular y examen microscópico directo de *H. influenzae* en muestras respiratorias: resultados comparativos con el cultivo microbiológico**

	Detección de antígeno capsular	Examen microscópico directo
Verdaderos positivos	31	121
Verdaderos negativos	382	386
Falsos positivos	6	90
Falsos negativos	65	15
Sensibilidad	32%	89%
Especificidad	98%	81%

1. Drew WI. Value of sputum culture in diagnosis of pneumococcal pneumonia. *J Clin Microbiol* 1977; 6: 62-65.
2. Mulder J. Clinical significance of bacteriologic examination of sputum in cases of acute and chronic bacterial disease of respiratory tract. En: Dock W, Snappert I, editores. *Advances in internal medicine*. Vol 12. Chicago: Year Book, Medical Publishers, 1964; 223-225.
3. Bartlett JG, Finegold SM. Bacteriology of expectorated sputum with quantitative culture and wash technique compared to trans-tracheal aspirates. *Am Rev Resp Dis* 1978; 117: 1.019-1.027.
4. Whitby M, Kristinsson KG, Brown M. Assessment of rapid methods of pneumococcal antigen detection in routine sputum bacteriology. *J Clin Pathol* 1985; 38: 341-344.
5. Handfield SG, Lane A, McIlmurray MB. A novel coloured latex test for the detection and identification of more than one antigen. *J Immun Met* 1987; 97: 153-158.
6. Aparicio J, Roman F, Campos J. Caracterización epidemiológica de *Haemophilus influenzae* mediante marcadores moleculares. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 1996; 14: 228-232.