

INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL "PEDRO KOURÍ"

## Etiología bacteriana de las infecciones respiratorias agudas en pacientes VIH/SIDA

Dra. Miriam Fina Pérez Monrás,<sup>1</sup> Dra. Nereyda Cabrera Cantelar,<sup>2</sup> Lic. María del Carmen Batlle Almodóvar<sup>3</sup> y Lic. Rodolfo Estévez Fernández<sup>4</sup>

### RESUMEN

Se estudió un total de 63 pacientes VIH/SIDA con infecciones respiratorias agudas (IRA) ingresados en el Hospital del Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí" en el período comprendido de enero a agosto de 1997. Se procesó un total de 545 muestras: 153 esputos, 158 hemocultivos, 110 exudados faríngeos, 61 exudados nasales y 63 exudados óticos. Se estudió la correlación de los resultados obtenidos por la técnica de naranja de acridina, la coloración de Gram y cultivo. Los agentes bacterianos más frecuentes causantes de IRA del total de cepas aisladas fueron: *Pseudomonas aeruginosa* (29,65 %), *Staphylococcus aureus* (27,14 %) y *Streptococcus pneumoniae* (9,04 %). Los microorganismos más frecuentemente asociados con bacteriemias fueron: *Staphylococcus epidermidis* (38,70 %), *Staphylococcus aureus* (16,13 %), *Pseudomonas aeruginosa* (12,90 %), y *Salmonella* tipo b (12,90 %). La técnica de naranja de acridina resultó ser la más adecuada en el diagnóstico presuntivo de bacteriemia con 95 % de certeza, pues tiene un rango de positividad entre 40, 56 y 50, 56 con una  $p < 0,05$  por encima del cultivo convencional y el Gram.

**DeCS:** INFECCIONES DEL TRACTO RESPIRATORIO/etiología; INFECCIONES BACTERIANAS/diagnóstico; INFECCIONES OPORTUNISTAS RELACIONADAS CON SIDA/diagnóstico; VIH; SINDROME DE INMUNODEFICIENCIA ADQUIRIDA/complicaciones.

Los patógenos oportunistas inicialmente asociados con el SIDA fueron protozoos y organismos fúngicos, pero en la actualidad las infecciones bacterianas se han incrementado en los pacientes infectados por el VIH.<sup>1-3</sup>

Las bacteriemias constituyen uno de los episodios de naturaleza más grave que pueden presentarse y han sido objeto de una atención especializada.<sup>4</sup> Esta complicación aparece principalmente en personas hospitalizadas que suelen tener enfermedades subyacentes y las hacen más susceptibles a la invasión hematogena.<sup>5</sup>

La mayoría de las neumonías nosocomiales bacterianas son causadas por *Pseudomonas*

*aeruginosa* y por *Staphylococcus aureus*. Otros patógenos como *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* y *Mycobacterium tuberculosis* pueden adquirirse y transmitirse en el hospital.<sup>6-8</sup> Casos por causa de *Legionella*, *Mycobacterium tuberculosis* u hongos merecen especial atención. Los índices más elevados de neumonía nosocomial son reportados en pacientes ventilados mecánicamente.<sup>9</sup>

La sangre para hemocultivos constituye la muestra más importante para la detección de la infección generalizada por bacterias y proporciona información muy útil para el diagnóstico de diferentes enfermedades.<sup>10-12</sup> La identificación del

<sup>1</sup> Especialista de II Grado en Microbiología. Investigadora Auxiliar. Instructora Graduada.

<sup>2</sup> Especialista de I Grado en Microbiología.

<sup>3</sup> Máster en Tecnología del DNA Recombinante. Licenciada en Bioquímica. Investigadora Agregada.

<sup>4</sup> Licenciado en Microbiología.

agente bacteriano de la sangre posibilita la elección del antimicrobiano específico que se debe utilizar en el tratamiento de estos pacientes.

A pesar del desarrollo que van alcanzando las técnicas de diagnóstico rápido y por las diversas reacciones cruzadas que se pueden originar al emplear métodos inmunológicos para detectar antígenos bacterianos solubles, es imposible en la actualidad abandonar el aislamiento de los agentes bacterianos por los métodos convencionales, así como el diagnóstico de certeza.<sup>13</sup> La técnica de naranja de acridina como método de diagnóstico acelerado ha sido recomendada por varios autores para la detección de microorganismos en muestras de hemocultivos.<sup>14</sup>

Con el presente trabajo los autores se propusieron determinar la etiología bacteriana de las infecciones respiratorias agudas (IRA), así como las bacteriemias en pacientes VIH/SIDA ingresados en el Hospital "Pedro Kouri". Además se estudió la correlación de los resultados obtenidos por la técnica de naranja de acridina, la tinción de Gram y el cultivo.

## MÉTODOS

Se estudiaron 63 pacientes VIH/SIDA con IRA, a los que se les tomaron 545 muestras, en el período de enero a agosto de 1997, distribuidas de la forma siguiente: 153 esputos, 158 hemocultivos, 110 exudados faríngeos, 61 exudados nasales y 63 exudados óticos. La selección de las muestras a tomar se realizó en dependencia del cuadro clínico de los casos y su valoración médica.

La recolección y el procesamiento de las muestras se realizó según las instrucciones del *Manual de procedimientos bacteriológicos* de la OMS.<sup>15</sup> Los exudados nasales, faríngeos, óticos y esputos se inocularon en placas de agar sangre de carnero 5 %. Las muestras de hemocultivo se inocularon en frascos que contenían 50 mL de caldo cerebro corazón (Oxoid) (dilución muestra/ medio de 1/10); al transcurrir entre 6 y 18 h de incubación a 37 °C, independientemente de la presencia o no de turbidez del medio de cultivo, se procedió a la observación directa mediante microscopia fluorescente con la técnica de naranja de acridina (microscopio de fluorescencia Ortholux II Leitz,

lámpara de halógeno de 12) y microscopia óptica con lente de inmersión (aumento 100 x), para coloración directa de Gram y se utilizó el microscopio óptico Olympus (H.M.Lux 3 Leitz).

Independiente o no de observarse estructuras microbianas en el examen directo por uno o ambos métodos, al considerar los caracteres tintoriales, morfológicos y de agrupamiento, se realizó resiembra inmediata a agar sangre de carnero 5 %, agar technical No. 3 (Oxoid Ltd), agar chocolate y caldo corazón con incubación a 35 °C por 24-48 h, en un ambiente enriquecido con 5 % de CO<sub>2</sub>. Todos los hemocultivos se sembraron independientemente de la positividad o no del examen directo. La identificación de los microorganismos recuperados en los cultivos primarios se basó en características culturales y bioquímicas.<sup>10,16</sup>

Con el objetivo de explicar los límites en que se mueven los porcentajes de positividad por la técnica de naranja de acridina,<sup>15</sup> la técnica de Gram y el cultivo convencional, en los hemocultivos se utilizó el método estadístico descrito por Fleiss,<sup>17</sup> con la fórmula siguiente:

$$P\Sigma \frac{[p+k\sqrt{pq}]}{m}$$

Donde:

PΣ: intervalo de confianza para porcentajes.

p: porcentaje muestral.

K: coeficiente de confianza.

pq: complemento de 1 000.

m: muestra.

## RESULTADOS

En este estudio de 199 cepas aisladas, los agentes bacterianos más frecuentemente asociados con las IRA fueron: *Pseudomonas aeruginosa* (29,65 %), *Staphylococcus aureus* (27,14 %) y *Streptococcus pneumoniae* (9,04 %).

Al comparar la positividad encontrada en los hemocultivos por las técnicas de fluorescencia de naranja de acridina, el Gram y el cultivo convencional, fueron analizados 158 hemocultivos, de los cuales 72 resultaron positivos (45,57 %) por la técnica de naranja de acridina, por el Gram se

**TABLA.** Microorganismos aislados según el tipo de muestra en pacientes VIH/SIDA con IRAB.IPK. Laboratorios Diagnóstico-IRAB. Ciudad Habana.1997

Microorganismo	Espuito	Exudado nasal	Exudado faríngeo	Hemocultivo	Exudado ótico	Total	Porcentaje
<i>Citrobacter freundii</i>	0	0	0	1	0	1	0,50
<i>Edwarsiella</i> sp.	0	0	0	0	1	1	0,50
<i>Enterobacter cloacae</i>	3	0	3	0	0	6	3,01
<i>Escherichia coli</i>	3	0	1	2	1	7	3,51
<i>Haemophilus influenzae</i>	1	0	0	0	0	1	0,50
<i>Klebsiella oxytoca</i>	0	0	1	0	0	1	0,50
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1	0	1	1	0	3	1,50
<i>Proteus mirabilis</i>	0	0	0	0	1	1	0,50
<i>Morganella morganii</i>	0	0	0	0	1	1	0,50
<i>Proteus rettgeri</i>	1	0	0	0	0	1	0,50
<i>Proteus vulgaris</i>	1	0	0	0	2	3	1,50
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	32	2	11	4	10	59	29,65
<i>Salmonella</i> tipo b	0	0	0	4	0	4	2,01
<i>Serratia marcescens</i>	0	0	0	2	1	3	1,50
<i>Staphylococcus aureus</i>	10	13	17	5	9	54	27,14
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	0	4	1	12	0	17	8,54
<i>Streptococcus beta hemolyticus</i> A	0	1	16	0	0	17	8,54
<i>Streptococcus beta hemolyticus</i> F	0	0	1	0	0	1	0,50
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	9	1	8	0	0	18	9,04
Total	61	21	60	31	26	199	100,0

encontraron 50 hemocultivos positivos (31,64 %) y por cultivo 31 hemocultivos positivos (19,62 %). Los microorganismos más frecuentes causantes de bacteriemias fueron: *Staphylococcus epidermidis* (38,70 %) y *Staphylococcus aureus* (16,13 %), *Pseudomonas aeruginosa* (12,90 %) y *Salmonella* tipo b (12,90 %) (tabla).

Al calcular los intervalos de confianza para los porcentajes de positividad de las técnicas estudiadas, se obtuvo con 95 % de certeza, que la técnica de naranja de acridina tuvo un rango de positividad entre 40,56 y 50,56 con una  $p < 0,05$  por encima del cultivo, que tuvo un intervalo de confianza entre 15, 62 y 23, 62 y sobre el Gram; este último con un intervalo de confianza entre 26, 64 y 36, 64. Por lo tanto la utilización de esta técnica es muy importante para el estudio de la bacteriemia en estos pacientes.

## DISCUSIÓN

*Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* y *Streptococcus beta hemolyticus*, son los microorganismos que se encuentran más comúnmente asociados con las neumonías bacterianas en pacientes VIH/SIDA<sup>18-22</sup>

La enfermedad invasiva por neumococo se incrementa en asociación con el VIH. Un gran aumento de bacteriemia por neumococo y una mortalidad elevada por neumonía neumocócica se han encontrado en pacientes jóvenes seropositivos.<sup>6</sup> Las personas infectadas por el VIH padecen de neumonía neumocócica con una frecuencia de 5 a 15 veces mayor que las personas VIH seronegativas. *Streptococcus pneumoniae* es la bacteria que más frecuentemente causa neumonía en pacientes VIH seropositivos.<sup>7</sup>

La bacteriemia asociada con *Streptococcus pneumoniae* se plantea que es una complicación común, sin embargo en este estudio solo fue aislado en 9 muestras de esputo, 8 de exudados faríngeos y 1 de exudado nasal. No se aisló *Streptococcus pneumoniae* a partir de hemocultivos.

Las infecciones respiratorias agudas producidas por *Pseudomonas aeruginosa* van en aumento en pacientes VIH positivos. Se presentan usualmente como neumonías y las principales complicaciones son bacteriemias, otitis media, sinusitis y celulitis. Se reportan derrames pleurales, neumotórax, abscesos pulmonares, y pericarditis purulenta muy asociados con los infiltrados pulmonares.<sup>21</sup> En este estudio se aisló de forma mayoritaria en los esputos y los exudados óticos.

En América del Norte, *Staphylococcus aureus* causa la mayor parte de las infecciones en el torrente circulatorio de pacientes VIH positivos.<sup>8</sup> En este trabajo fue el microorganismo más aislado en exudados nasales y faríngeos y el segundo en hemocultivos. En el caso del *Streptococcus pneumoniae* la bacteriemia asociada con este en el contexto del SIDA tiene una supervivencia de 50 % con choque séptico como un modo usual de la enfermedad (Hernández V. Agentes etiológicos bacterianos más frecuentes causando neumonías en pacientes, VIH/SIDA. IPK. Trabajo para optar por el título de Especialista de I Grado en Microbiología, Cuba. 1995).<sup>22,23</sup>

El microorganismo más frecuentemente asociado con bacteriemia fue *Staphylococcus epidermidis* (38,70 %). En este caso se puede considerar que este microorganismo fue el causante de la bacteriemia y que no actuó como contaminante, pues además de todas las medidas tomadas para la obtención de la muestra, se aisló en más de una ocasión en todos los casos estudiados.

Lever y otros<sup>22</sup> consideran que la coloración de naranja de acridina comparada con la de Gram es igualmente específica y más sensible en la detección de microorganismos. Detecta microorganismos en extensiones hechas con 2 x 10 000 UFC/mL (100 bacterias por frotis).

De las técnicas empleadas con el objetivo de establecer un diagnóstico acelerado y eficaz, los resultados estadísticos demuestran que la coloración con naranja de acridina tuvo mayor rango de positividad que el Gram y el cultivo convencional

en las muestras analizadas. Su utilización es muy importante para el estudio de las bacteriemias en pacientes VIH-SIDA con IRA. Los autores de este estudio recomiendan por tanto el uso de la técnica de naranja de acridina en estos pacientes.<sup>23</sup>

## SUMMARY

A total of 63 HIV/AIDS patients with acute respiratory infections admitted to "Pedro Kour" Tropical Medicine Institute's hospital from January to August 1997 were studied. 545 samples in all were processed: 153 sputa, 150 hemocultures, 110 pharyngeal exudates, 61 nasal exudates and 63 otic exudates. The correlation of the results from the acridine orange technique, Gram staining and culture was studied. The most frequent bacterial agents causing acute respiratory infections in the group of isolated strains were: *Pseudomonas aeruginosa* (29.65 %), *Staphylococcus aureus* (27.14 %) and *Streptococcus pneumoniae* (9.04 %). The microorganisms more frequently associated with bacteriemias were: *Staphylococcus aureus* (16.13 %), *Pseudomonas aeruginosa* (12.90 %) and *Type b Salmonella* (12.90 %). The acridine orange technique was the most effective in presumptive diagnosis of bacteriemia with 95 % certainty since it showed a positivity range from 40, 56 to 50, 56, with a  $p < 0,05$  which is higher than that of the conventional culture and the Gram staining.

**Subject headings:** RESPIRATORY TRACT INFECTIONS/etiology; BACTERIAL INFECTIONS/diagnosis; AIDS-RELATED OPPORTUNISTIC INFECTIONS/diagnosis; HIV; ACQUIRED IMMUNODEFICIENCY SYNDROME/complications.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Wonsler P. AIDS and other manifestations of HIV infections. 2da. ed. New York: Raven 1992.
2. Chan I. Frequencies of opportunistic diseases prior to death among HIV infected persons. AIDS 1996;9(10):1153-8.
3. Winter A, Helgot D, Storey C. Human immunodeficiency virus and bacteriemia pneumonia. J Infect Dis 1991;163:1390-6.
4. Pérez M. Vigilancia de la bacteriemia nosocomial en la unidad de cuidados intensivos del hospital Centro Habana. Rev Cubana Med Trop 1992;44(1):25-8.
5. Aznar R. Bacteriemia in a community hospital. Review of 78 cases. Enfer Infecc Microbiol Clin 1991;9(6):339-44.
6. Gilks CF. Pneumococcal disease and HIV infection. Am Intern Med 1993;118:393.
7. Arnon PM, Saeligh M, Costas C. Evidence and epidemic aspergillosis associated with in hospital replication of aspergillus organism. J Infect Dis 1994;164:988-1002.

8. Berger B, Hussain F. Bacterial infections in HIV infected patients. *Infect Dis Clin North Am* 1994;8(2):449-65.
9. Tablan OC, Anderson JL, Anden H. Guideline for prevention of nosocomial pneumonia. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1996;15:588-625.
10. Jawetz S. *Microbiología Médica* 14 ed. México, DF: El Manual Moderno, 1992:267-8.
11. Harvey PL, Suntrun J. *Rhodococcus equi* infection in patient with without human immunodeficiency virus infection. *Rev Infect Dis* 1991;13:139.
12. Sauro S, Bobo D, Borkina F. Acute respiratory infections in pediatric hospital at Bobo Digulasso. *Arch Pediatr* 1994;1(3):249-54.
13. Murray P, Drew W, Kobayaski G, Thompson J, *Microbiología médica*. Madrid: Mosby-Year Book, 1992:65-73,670-1.
14. Terra E. Neumonía caused by non opportunistic bacteria in patients with HIV. Incidence and evaluation of non invasive approach. *Enf Infecc Microbiol Clin* 1992;10(1):11-6.
15. OMS. Acute respiratory infections laboratory. Manual of bacteriological procedures Geneva, 1986:317-9.
16. Stein M, Sullivan P. Causes of death in persons with HIV. *Am J Med* 1992;93:387.
17. Fleiss J. *Methods for rates and proportions*. 2da. ed. New York: John Wiley, 1981.
18. Maradona J. Surgical bacteriemia analysis of 210 episodies with special attention to factors influencing prognosis. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 1992;(1):4-10.
19. Martínez R. El SIDA en el mundo. *Bol Epidemiol IPK* 1991;1(3):233.
20. Noticias sobre IRA. El control de las IRA en América. Actividades y perspectivas. Washington, DC: OPS, 1994; vol. 27:3-4.
21. Berger B, Hussain F, Roistacher K. Bacterial infection in HIV infected patients. *Infect Dis Clin North Am* 1994;8(2):449-65.
22. Lever M. Acquired immunodeficiency syndrome. Clinicopathologic study of 56 autopsies. *Arch Pathol Lab Med* 1985;109:727-34.
23. Teijelo Famadas M. Uso de la tinción con Naranja de Acridina para la detección temprana de hemocultivos positivos. *Rev Cubana Hig Epidemiol* 1987;25(1):105-10.

Recibido: 4 de enero de 2001. Aprobado: 2 de abril de 2001.  
Dra. *Miriam Fina Pérez Monrás*. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí" Apartado 601, Marianao, Ciudad de La Habana, Cuba. Correo electrónico:miriamp@ipk.sld.cu