



24
2erº
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

**FRECUENCIA DE *Moraxella catarrhalis* EN
EXPECTORACIONES PROVENIENTES
DE PACIENTES CON
BRONQUITIS CRONICA**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

P R E S E N T A

CARLOS ALEJANDRO CARRILLO ZAZUETA

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

MEXICO, D. F.

1991



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

INDICE

INTRODUCCION	1
OBJETIVOS	2
I. GENERALIDADES	
a. Principales características de <i>Moraxella (Branhamella) catarrhalis</i> :	
i. Taxonomía	3
ii. Composición química y antigénica	4
iii. Características microscópicas	7
iv. Propiedades culturales	7
v. Identificación en el laboratorio	9
b. Aspectos asociados a la patología de la bronquitis crónica:	
i. Etiopatogenia	13
ii. Síntomas y signos	19
iii. Algunos datos epidemiológicos	25
iv. Tratamiento	28
II. PARTE EXPERIMENTAL	
i. Material y equipo	31
ii. Metodología	32
iii. Resultados	39
iv. Discusión de los resultados	41
CONCLUSIONES	47
BIBLIOGRAFIA	49

INTRODUCCION

En los últimos años, se ha generado una extensa información acerca de la importancia de *Moraxella* (*Branhamella*) *catarrhalis* en las diversas enfermedades que involucran a las vías respiratorias bajas. En este contexto, destacan los comunicados acerca de la bronquitis crónica, las neumonías, las bronconeumonías y la traqueítis bacteriana.

En el caso de la bronquitis crónica, parece existir consenso respecto a que el papel de este microorganismo es el de un patógeno secundario muy frecuente que complica los cuadros pre-existentes y que, además, dificulta el tratamiento de los pacientes afectados, dado que la mayoría de las cepas implicadas sintetiza beta-lactamasas.

Sin embargo, la mayoría de los reportes que involucran a esta especie procede de países desarrollados y, en relación a ello, se ha comprobado ampliamente que la zona geográfica y otros muchos factores epidemiológicos influyen decisivamente en la incidencia que muestran los diferentes agentes etiológicos en los diversos padecimientos.

Por tal motivo, en el presente trabajo se analizaron cien expectoraciones provenientes de pacientes con bronquitis

crónica, para tratar de establecer la frecuencia con la que *M. catarrhalis* podría participar en la exacerbación de esta enfermedad en nuestro medio.

OBJETIVOS

Con relación a nuestro medio:

- Determinar la frecuencia con la que *M. catarrhalis* se encuentra en las expectoraciones de calidad comprobada, provenientes de 100 pacientes con bronquitis crónica.
- Establecer la probable incidencia de *M. catarrhalis* en la exacerbación de la bronquitis crónica y compararla con la de otros microorganismos cuya importancia en este padecimiento es reconocida a nivel mundial.
- Determinar la frecuencia con la que *M. catarrhalis* se encuentra formando parte de la flora habitual de la faringe en los individuos aparentemente sanos.

I. GENERALIDADES

a. Principales características de *Moraxella* (*Branhamella*) *catarrhalis*

i. Taxonomía

Esta bacteria ha sido motivo de algunos cambios importantes en lo que se refiere a su clasificación taxonómica. En 1896, Frosch y Kolle la reportaron por primera vez como *Micrococcus catarrhalis*, una vez que la detectaron en el esputo expectorado proveniente de pacientes con bronquitis crónica. Sin embargo, debido a su incuestionable similitud morfológica con las especies del género *Neisseria* y a que dan positiva la prueba de la citocromo oxidasa, entre 1920 y 1923 se colocó dentro de la familia *Neisseriaceae* como *Neisseria catarrhalis* (3, 11, 26).

En 1970, Catlin la sometió a estudios de hibridización de DNA y, además, calculó su porcentaje de guanina-citocina, ácidos grasos, proteínas y polisacáridos de membrana citoplásmica, investigó su antigenicidad y realizó experimentos de transformación genética, hasta llegar a la conclusión de que difería notablemente del género *Neisseria* y recomendó su

clasificación en un género independiente. *Branhamella*, en honor a Sara Branham y sus contribuciones relacionadas con la familia *Neisseriaceae* (3, 11, 26).

En 1979, Bovre presentó datos que demostraban una estrecha relación entre ella y ciertas especies del género *Moraxella* y propuso la división de este último en 2 subgéneros: *Branhamella* y *Moraxella*; el primero para la especie que se constituía por células esféricas o cocoides y, el segundo, para las que se integraban por elementos bacilares (3, 11).

En 1984, se aceptó oficialmente la propuesta de Bovre y, en el actual Manual de Bergey de Bacteriología Sistemática, este microorganismo se incluye clasificado como sigue (11, 26):

Familia: *Neisseriaceae*

Género: *Moraxella*

Subgénero: *Branhamella*

Especie: *catarrhalis*

11. Composición química y antigénica

Los estudios recientes han mostrado que esta bacteria se encuentra constituida por una pared celular que presenta lipopolisacáridos y proteínas, y una membrana citoplásmica integrada fundamentalmente por proteínas y fosfolípidos (11.

26).

En 1980, Eliasson analizó lo correspondiente a sus proteínas antigénicas de pared celular -a las cuales denominó arbitrariamente antígeno P- y demostró que éstas son relativamente termoestables y sensibles a la acción de la tripsina (5, 11, 12, 26, 33).

En cuanto a los lipopolisacáridos de su pared celular y los que libera al medio durante su crecimiento, los trabajos recientes han establecido que ambos presentan la misma composición y que se encuentran conformados por lípido A y una región simple constituida por 7 residuos de oligosacáridos: 4 moles de D - glucosa, 1 mol de D - galactosa, 1 mol de 2-amino-2-desoxi-D-glucosa, ácido 3-desoxi-D-mano-octulosónico y aldeheptosa (11, 26).

Por lo que respecta al lípido A, éste se compone por ácido beta-hidroxiláurico (principalmente ácido 3-hidroxi - dodecanoico), ácido decanoico, ácido dodecanoico, 2-amino-2-desoxi-D- glucosa, fosfatos, acetilos y etanolamina (26).

Por lo que hace a la proteína o antígeno P, es preciso consignar que ésta es inmunógena y los anticuerpos relacionados se elevan en los pacientes que convalescen de

procesos patológicos activos (5, 12, 23).

Además, se ha observado que ciertos cambios en la morfología colonial de la bacteria que se asocian a su opacidad, consistencia y aspecto, dependen directamente de la cantidad de proteína P que contienen las diferentes cepas (11, 12, 48).

En 1988, Bartos y Murphy compararon las proteínas de membrana de 50 cepas y determinaron que éstas son extremadamente homogéneas. La composición protéica de superficie de *Moraxella catarrhalis* es muy similar a la de otros diplococos Gram negativos en 10 a 20 proteínas, 8 de las cuales se encuentran en mayor proporción. Estas últimas poseen pesos moleculares entre los 21.000 y 98.000 daltons, se conocen como MOMP (Major Outer Membrane Proteins) y sólo 2 de ellas difieren de las que presentan *Neisseria gonorrhoeae* y *Neisseria meningitidis* (33).

De acuerdo a lo antes mencionado, los lipopolisacáridos de *Moraxella catarrhalis* no poseen utilidad para llevar a cabo la diferenciación entre las diversas cepas de la especie, e inclusive, entre esta bacteria y otros diplococos Gram negativos. En cambio, las MOMP pudieran constituir un marcador con aplicación epidemiológica; sin embargo, se requiere de más estudios para considerar o eliminar esta

posibilidad (5, 12, 33).

Finalmente, es importante hacer mención de que el porcentaje de guanina - citocina de esta bacteria varía entre 41 y 42.5 (26) y que los estudios sobre su composición química y antigenicidad han aportado datos para su futura investigación serológica en los laboratorios clínicos (5, 12, 23, 26, 29, 33, 39).

iii. Características microscópicas

Moraxella catarrhalis es un coco Gram negativo -aunque algunas cepas tienden a resistir la decoloración con alcohol acetona-, de 0.6 a 0.8 μ x 0.8 a 1 μ y que se agrupa en pares. Presenta sus lados adyacentes aplanados, lo cual hace que se le describa en la literatura como estructuras que semejan riñones. es inmóvil, no esporulado y, hasta el momento, se le considera no capsulado. Por otro lado, se ha comprobado plenamente que posee fimbrias o pili, a través de las cuales puede adherirse a las células de varios tejidos, destacando los de las mucosas de vías respiratorias y vagina, así como a la conjuntiva ocular (3, 10, 11, 14, 26, 29, 30, 32).

iv. Propiedades culturales

Moraxella catarrhalis no es exigente en cuanto a sus

requerimientos nutricionales y puede desarrollar *in vitro* en medios de cultivo simples. Por ello, su aislamiento se considera fácil en gelosa sangre y gelosa chocolate, mismos que se emplean con regularidad en el procesamiento de todo tipo de muestras clínicas (3, 9, 10, 11, 26, 32).

Sin embargo, no crece en agar Mac Conkey y ello suele tomarse como una característica que diferencia a esta bacteria de otras especies de *Moraxella* (10, 11).

Cabe señalar que, aunque numerosas cepas desarrollan en Thayer Martin modificado -el cual contiene hemoglobina, vancomicina, colistín, nistatín, trimetoprim y polienriquecimiento-, otras no llegan a manifestarse en el primocultivo (1, 9, 10).

En la actualidad, los medios que los autores recomiendan son el AB, B4, APV, AYE, HIY-1, Frantz y algunos otros, que contienen aminoácidos, purinas, pirimidinas y extracto de levadura, y que además pueden emplearse para conservar las cepas aisladas (26).

Es importante citar que existen algunos infectólogos que recomiendan la utilización de medios tales como el agar para DNAsa ya que, además de que en él se pueden aislar las cepas provenientes de muestras clínicas, es posible percatarse de

la capacidad de este microorganismo para sintetizar DNAsas y, por ende, diferenciarlo del género *Neisseria*, cuyas especies no cuentan con esta propiedad (3, 9, 10, 11, 47, 48).

Por lo que respecta a las condiciones necesarias para su incubación, debe considerarse que *M. catarrhalis* es aerobia estricta y sus colonias desarrollan óptimamente en 24 a 48 h, a 35 - 37°C, en atmósfera de aerobiosis total humidificada con 5 a 10 % de CO₂ (3, 10, 11, 26, 32, 54).

Una vez transcurrido el período de incubación de los cultivos, la identificación presuntiva de *M. catarrhalis* no representa mayores problemas, ya que sus colonias varían entre 1 y 3 mm de diámetro y son grises o ligeramente blanquecinas, circulares, lisas, cóncavas o convexas, de bordes regulares y aspecto seroso (3, 9, 10, 11, 26, 32, 47, 48, 54).

v. Identificación en el laboratorio

En general, *M. catarrhalis* puede diferenciarse con exactitud del resto de las especies que integran la familia *Neisseriaceae*. El hecho de que se trata de diplococos Gram negativos es suficiente para que no se confunda con *Acinetobacter* y otras especies de *Moraxella*, aunque en el primer caso también son útiles las pruebas de la citocromo oxidasa, la utilización de glucosa y la reducción de los

nitratos y, en el segundo, su incapacidad para desarrollar en agar Mac Conkey (consultar la tabla 1) (3. 14. 22. 32).

Tabla 1. Diferenciación entre *M. catarrhalis* y otros miembros de la familia *Neisseriaceae*.

Microorganismo	Morfología	Ox.	Glu	NO ₃	McC
<i>Neisseria sp</i>	Diplococos Gram (-)	+	+	d	-
<i>M. catarrhalis</i>	Diplococos Gram (-)	+	-	+	-
<i>Moraxella sp</i>	Cocobacilos Gram (-)	+	-	d	+
<i>Acinetobacter sp</i>	Cocobacilos Gram (-)	-	-	-	+

CLAVES: Ox. = oxidasas, Glu = glucosa, NO₃ = reducción de nitratos, McC = capacidad para desarrollar en agar Mac Conkey.

En la mayoría de los laboratorios clínicos, la identificación bioquímica de *M. catarrhalis* se basa en los criterios establecidos por Doern y Morse en 1980, los cuales incluyen las pruebas de citocromo oxidasa, oxidación de carbohidratos, capacidad para sintetizar azúcares a partir de 10 % de sacarosa, reducción de nitratos y nitritos, producción de ácido sulfhídrico y liberación de DNAsas (10).

La utilización de carbohidratos es positiva para diversas especies de *Neisseria* y negativa para *Neisseria flavescens*, *Neisseria perflava* y *M. catarrhalis*; sin embargo, las 2

primeras no reducen nitratos, son pigmentadas y producen H₂S, a diferencia de la tercera (3, 9, 10, 11, 14, 22, 24, 26, 27, 32, 54).

Adicionalmente, la capacidad para sintetizar DNAsas -que se puede poner de manifiesto en el agar para DNasa, empleando como revelador azul de orto-toluidina, también diferencia a *M. catarrhalis* de otras especies de la familia *Neisseriaceae*, exceptuando a *Kingella denitrificans* y *Neisseria caviae*, las cuales difícilmente parasitan al ser humano (3, 47).

Tabla 2. Diferenciación bioquímica entre *M. catarrhalis* y las principales especies del género *Neisseria*.

Especie	Ox.	DNA	G	M	L	S	F	NO ₃	NO ₂	H ₂ S	Pig
<i>N. gonorrhoeae</i>	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>N. meningitidis</i>	+	-	+	+	-	-	-	-	V	-	-
<i>N. subflava</i>	+	-	+	+	-	V	V	-	+	+	+
<i>N. flava</i>	+	-	+	+	-	+	V	-	-	-	-
<i>N. lactamicus</i>	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-
<i>N. sicca</i>	+	-	+	+	V	+	+	-	+	+	-
<i>N. mucosa</i>	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-
<i>N. flavescens</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
<i>N. perflava</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>M. catarrhalis</i>	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-

CLAVES: Ox = oxidasas, DNA = producción de DNAsas, G = glucosa, M = maltosa, L = lactosa, S = sacarosa, F = fructosa, NO₃ = reducción de nitratos, NO₂ = reducción de nitritos, H₂S = producción de ácido sulfhídrico, Pig = colonias pigmentadas.

Por lo que se refiere a la aplicación de la serología en la identificación de *M. catarrhalis*, es hasta ahora muy poco lo que puede afirmarse. En 1978, Rusell y cols demostraron que diversas especies de *Neisseria* producen antígenos solubles los cuales, dada su marcada similitud, presentan reacciones cruzadas (12).

En este sentido, la proteína P de *M. catarrhalis* parece constituir la única opción para emplear las técnicas inmunológicas en el estudio de dicho microorganismo. Sin embargo, deben ocurrir numerosas investigaciones relacionadas con ello para establecer su posible utilidad (5, 12, 26).

b. Aspectos asociados a la patología de la bronquitis crónica

La bronquitis crónica se define como un proceso inflamatorio localizado en el árbol bronquial -que se caracteriza por la hipersecreción de moco y la ocurrencia de tos con expectoración-, que afecta al paciente en por lo menos 3 de los 12 meses de cada año y cuya duración se extiende hasta los 2 o más años (4, 13, 16, 41, 43, 49).

i. Etiopatogenia

Los factores que originan esta enfermedad no se han tipificado plenamente, no obstante, la generalidad de los especialistas acepta que, entre los que pueden considerarse como predisponentes, existen los de orden inmunológico, climatológico y otros más de tipo individual o familiar, aunque destacan el tabaquismo, la contaminación del ambiente y la eventual colonización de los tejidos bronquiales por diversos agentes infecciosos (4, 13, 16, 41, 43, 49).

El tabaquismo

Este hábito constituye un frecuente estímulo inicial en el proceso asociado al origen y la evolución del padecimiento, ya que se ha comprobado que el consumo de un cigarrillo suprime la actividad ciliar por espacio de varias horas, interrumpiendo el transporte y la eliminación de las

secreciones y las partículas que se llegan a depositar en la mucosa bronquial.

En este sentido, cabe señalar que dichas anomalías tienen origen en la pérdida de la coordinación de los movimientos ciliares -en cuanto a su dirección y frecuencia-; sin embargo, también se ha comprobado que el humo aspirado provoca diversas alteraciones más: entre ellas, cambios histológicos atróficos en el epitelio respiratorio -los cuales suelen traducirse en una notable disminución del número de células ciliadas-, hipertrofia e hiperplasia de las glándulas mucosas, modificaciones en la cantidad y distribución de las células caliciformes, metaplasia epidermoide y la aparición de células atípicas en la mucosa. Lógicamente, lo anterior se traduce en una producción extralimitada de moco en toda la región involucrada (20, 35, 41, 43, 49, 53).

Por lo que se refiere a las bases moleculares que explican el efecto ciliotóxico del humo del tabaco, se cree que éste inhibe la actividad de la adenilato cinasa en las células ciliadas y, en consecuencia, estas últimas terminan por carecer de la energía que requieren para sustentar el movimiento ciliar (53).

De la misma manera, se ha planteado la hipótesis de que la

hipersecreción de moco se relaciona con un desequilibrio entre la elastasa sintetizada por los neutrófilos y la antielastasa que generalmente se encuentra formando parte de las secreciones del tracto respiratorio; al parecer, el humo de los cigarrillos inhibe a esta última y ello permite que la primera actúe libremente hasta inducir la metaplasia de las células secretoras de moco (53).

Finalmente, debe consignarse que el humo provoca serias alteraciones en la morfología y la fisiología de los macrófagos alveolares. En este contexto, puede señalarse que su influencia sobre dichas células de defensa da lugar a que éstas disminuyan su actividad fagocitaria y su capacidad para producir interleucina 1 (IL-1) comprometiendo, adicionalmente, la respuesta inmune celular y humoral del pulmón (56).

Por todo lo anterior, puede asegurarse que el tabaquismo determina la ineficacia de los mecanismos de drenaje, la producción de esputo, el abatimiento de la inmunidad y la acumulación de las secreciones y, en consecuencia, favorece el establecimiento de los microorganismos en el epitelio respiratorio (13, 16, 20, 35, 43, 53).

La contaminación ambiental

Los estudios epidemiológicos y toxicológicos han mostrado que

existe una relación directa entre la incidencia de bronquitis crónica y la contaminación del medio ambiente. De hecho, en las zonas urbanas e industriales se ha detectado un notable incremento de hasta 4 veces en las tasas de morbi-mortalidad asociadas a esta enfermedad. Sin embargo, es preciso señalar que la cifra anterior puede calificarse como subjetiva, puesto que otros factores predisponentes -condiciones socioeconómicas precarias, ciertas actividades ocupacionales, tabaquismo y otras afecciones pre-existentes- suelen gravitar en las investigaciones correspondientes (43).

En todo caso, existe una aparente correlación entre la elevada frecuencia de bronquitis crónica y los niveles excesivos de monóxido de carbono, de partículas suspendidas en el aire y, principalmente, de los de bióxido de azufre. Lo anterior puede deberse a una resistencia al flujo aéreo por broncoespasmo y a alteraciones de la movilidad ciliar (41, 43, 49, 53).

El establecimiento de agentes infecciosos en la mucosa

En términos generales, se acepta que las infecciones en el árbol bronquial no constituyen la causa principal de la ocurrencia de bronquitis crónica. Esto se debe a que las investigaciones han determinado que la presencia de los microorganismos es posterior a la generación del proceso y su papel sólo se relaciona con la exacerbación de los síntomas

del padecimiento (13, 25, 43, 53).

En otras palabras, los agentes infecciosos sólo pueden establecerse en la mucosa de las vías respiratorias bajas cuando ésta presenta lesiones previas. En esta zona anatómica, el epitelio se encuentra continuamente expuesto al contacto con numerosas bacterias de la flora bucofaringea, las cuales se desplazan hasta él -e inclusive hasta el pulmón- durante el sueño (14, 22, 50).

Sin embargo, en condiciones de salud, la eficacia de los mecanismos inespecíficos de defensa -las barreras mecánicas y aerodinámicas, los accesos tusígenos, los macrófagos alveolares, la integridad de los cilios, etc.- provocan que dichas bacterias sean expulsadas antes de que logren adherirse a las células epiteliales. De hecho, ésta es la razón de que las vías respiratorias bajas se consideren tejidos estériles (43, 50).

Por lo tanto, el establecimiento de bacterias en los bronquios y pulmones depende de que los mecanismos antes mencionados se encuentren afectados y, sobre todo, de que exista una hipersecreción de moco que favorezca su desarrollo (25, 43, 53).

La literatura especializada cita, en la actualidad, que los

principales agentes etiológicos de la exacerbación de la bronquitis crónica son: *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae* y *Moraxella (Branhamella) catarrhalis*, aunque no se deben ignorar a otros como *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli* (1, 2, 6, 7, 8, 9, 12, 16, 17, 21, 26, 30, 31, 36, 37, 40, 42, 43, 44, 45, 46, 52, 55).

Las condiciones climatológicas

En general, la frecuencia de la bronquitis crónica se eleva cuando ciertos factores topográficos, ambientales y climatológicos se asocian a la contaminación del aire. Los cambios bruscos de temperatura y la inhalación de aire húmedo y frío aumentan la resistencia al flujo aéreo y la irritación de las mucosas del tracto respiratorio, de tal manera que los casos de exacerbación del padecimiento suelen aumentar en los meses de invierno (43, 49, 55).

En las ciudades más contaminadas, las inversiones térmicas -que se presentan regularmente en dicha estación del año- provoca que los contaminantes ambientales se concentren cerca del suelo, formando una estrecha banda que obliga a los habitantes a inhalarlos de manera permanente. Bajo estas condiciones, el epitelio respiratorio experimenta las alteraciones descritas anteriormente y los padecimientos en esta región anatómica -entre los cuales se cuenta a la

bronquitis crónica- alcanzan sus tasas de morbi-mortalidad más elevadas (43).

Ciertas actividades ocupacionales

Sin lugar a dudas, la contaminación laboral es otro de los principales factores predisponentes en la adquisición de enfermedades del tracto respiratorio inferior. En este contexto, las tasas de morbi-mortalidad más críticas se detectan entre quienes desempeñan sus labores en las industrias del asbesto, los mineros, alfareros, albañiles, carboneros, etc., los cuales se exponen constantemente a polvos y/o gases industriales que irritan con gravedad las mucosas de sus vías respiratorias y destruyen sus elementos celulares implicados en la resistencia a la infección. Por ello, dichas personas adquieren con frecuencia afecciones bronco-pulmonares que los conducen a la inhabilitación o la muerte (43).

ii. Síntomas y signos

Generalmente, la mayoría de los pacientes con bronquitis crónica son individuos entre la quinta y sexta décadas de la vida -con antecedentes de tabaquismo y/o de constante exposición a humos y gases industriales- que presentan, como característica principal, tos crónica productiva.

La tos y la expectoración suelen ser de predominio matutino, si bien en algunos casos pueden aparecer durante todo el día; la expectoración es comúnmente blanca y mucoadherente, pero en particular, cuando ocurre la exacerbación del padecimiento, se torna purulenta, de color amarillo verdoso y puede contener sangre.

Durante la auscultación del individuo, la fiebre puede ser aparente -aunque ésta no es constante- y cuando se detecta cianosis central en labios y conjuntivas también suelen incidir insuficiencias respiratorias y cardíacas derechas. Del mismo modo, pueden escucharse sibilancias bilaterales o estertores broncoalveolares acompañados por polipnea, respiración débil y espiraciones prolongadas. La disnea puede aparecer como consecuencia de grandes, medianos o pequeños esfuerzos.

Por lo que respecta a la etapa tardía de la enfermedad y la exacerbación de los síntomas, en éstos se puede presentar un incremento en la presión de bióxido de carbono y el centro respiratorio llega a perder su sensibilidad a éste; por ello, la hipoxemia llega a constituirse en el principal estímulo respiratorio. En todo caso, la hipoxia provoca la vasoconstricción de las arteriolas pulmonares y esto, a su vez, ocasiona el aumento de la presión en la arteria pulmonar -con hipertensión pulmonar, corazón pulmonar e insuficiencia

respiratoria y cardiaca-. pudiendo sobrevenir la muerte del paciente (4, 13, 16, 25, 41, 43, 49).

Por lo que se refiere a los datos que se observan en el laboratorio, puede afirmarse que destacan la policitemia secundaria, la hipoxemia continua, una moderada leucocitosis de 15.000 a 20.000 células/mm³ de sangre y más tarde hipercapnia. En principio, las mediciones de gases en sangre arterial no manifiestan alteraciones, pero en los enfermos con insuficiencia respiratoria suele detectarse una acidosis respiratoria compensada (25, 43).

Comúnmente, la espirometría proporciona información objetiva sobre la función pulmonar y el grado de obstrucción crónica del flujo aéreo, e inclusive, puede valorar los resultados del tratamiento. Al inicio de la evolución de la bronquitis crónica, la espirometría ayuda a comprobar la obstrucción del flujo respiratorio en las vías aéreas centrales y periféricas, mediante la determinación del volumen espiratorio forzado en un segundo (VEF₁) y la capacidad vital forzada (CVF). Por su parte, las mediciones del volumen pulmonar revelan un incremento en la capacidad pulmonar total (CPT), en el volumen residual (VR) y en la relación VR/CPT -que indica atrapamiento de aire- (16, 25).

Datos radiológicos

En la investigación de una probable bronquitis crónica, la radiografía simple de tórax tiene la finalidad de descartar la posibilidad de que el paciente padezca de otras enfermedades que pueden generar síntomas similares. En estos últimos casos, generalmente se obtienen hallazgos radio-opacos, a diferencia de la bronquitis crónica, en la cual el 20 a 50 % de los individuos afectados muestran radiografías normales (13).

En la bronquitis crónica, los casos de imágenes radiológicas anormales son muy parecidos a los que se logran cuando el enfermo sufre de enfisema; por esta razón, comúnmente se habla de la existencia de un complejo bronquitis crónica - enfisema pulmonar, conocido como enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) (13, 43).

Los principales signos radiológicos asociados a la bronquitis crónica son: la sobredistención -debido al incremento de la resistencia al flujo aéreo-, la presencia de sombras tubulares -con refuerzo en la trama vascular- y algunas otras anomalías broncográficas. Durante el análisis radiográfico, también pueden apreciarse densidades mal definidas en ambos campos pulmonares, relacionadas con la consolidación de pequeñas áreas y cicatrices; en este caso, se dice que existe "tórax sucio" cuando dichos rasgos no se confunden con una radiografía normal (13, 43).

Cabe señalar que, en numerosas ocasiones, las imágenes lineales representan áreas de fibrosis, bronquiectasias o bordes de bulas, aunque también ocurren "líneas de tranvía", que corresponden a imágenes tubulares de densidad aumentada, en la parte media del pulmón -cerca del borde inferior del hilio-. Estas últimas estructuras se han relacionado con un engrosamiento bronquial posterior a la inflamación crónica de los bronquios secundarios, mismos que generalmente se tornan visibles (13).

Por lo regular, bastantes pacientes con bronquitis crónica desarrollan posteriormente enfisema; por ello, sus placas radiológicas manifiestan toda una combinación de señales de ambas afecciones y, en las fases tardías, pueden observarse alteraciones hemodinámicas cardíacas con el corazón aumentado, arterias pulmonares ensanchadas y bulas asociadas a una destrucción previa del parénquima pulmonar (13).

Diagnóstico diferencial

Los datos clínicos, radiológicos y de laboratorio permiten que el médico pueda diferenciar a la bronquitis crónica de otros trastornos pulmonares obstructivos, tales como el enfisema pulmonar, el asma bronquial, la bronquiectasia, la fibrosis quística, la aspergilosis broncopulmonar, la silicosis, la tuberculosis pulmonar avanzada y la obstrucción de vías respiratorias centrales. Dicha diferenciación es de

suma importancia, debido a que todas las anteriores difieren entre sí en cuanto al grado de obstrucción del flujo aéreo, su curso clínico, su manejo, su pronóstico y, desde luego, su tratamiento (4, 16, 25, 41).

Los recursos más confiables para llevar a cabo el diagnóstico de la bronquitis crónica incluyen (4, 16, 25, 41):

- El examen físico. La posibilidad de que existan lesiones en el tracto respiratorio superior debe descartarse. Por lo general, dichas lesiones suelen detectarse durante el examen físico que se practica al paciente aunque, ocasionalmente, se pueden aplicar la broncoscopia o ciertos exámenes radiológicos especiales.

- La espirometría. Esta puede evaluar el grado de obstrucción ventilatoria; por lo regular, los bajos porcentajes de volumen espiratorio forzado en un segundo (FEV₁) y los bajos cocientes obtenidos de entre este último y la capacidad vital (FEV₁/VC) son indicativos de la existencia del padecimiento. Cabe mencionar que las mediciones correspondientes deben efectuarse antes y después de administrar broncodilatadores al paciente para detectar si se presenta respuesta a este tipo de medicamentos.

- La radiografía simple de tórax. Generalmente, la radiografía de tórax se emplea para diferenciar alguna enfermedad pulmonar específica; sin embargo, en el caso de

sospecha de una bronquitis crónica, aquélla tiene por objeto descartar otros posibles padecimientos.

- La biometría hemática y una cuenta diferencial. Estas permiten detectar algunas alteraciones que acompañan a la bronquitis crónica, tales como la policitemia secundaria y la leucocitosis.

- La medición de gases arteriales. Esta comprueba la frecuente elevación del CO₂ y la ocurrencia de alcalosis respiratoria.

- Los exámenes bacteriológicos. De esta manera se pueden aislar e identificar los probables agentes patógenos que participan en la exacerbación de la bronquitis crónica. Las muestras más utilizadas son expectoraciones, lavados bronquiales, aspirados transtraqueales, líquido pleural, etc.

- Las electrocardiografías. Detectan posibles complicaciones cardíacas originadas por el esfuerzo asociado a las insuficiencias respiratorias.

iii. Algunos datos epidemiológicos

La bronquitis crónica y el enfisema constituyen las formas más comunes de enfermedad bronquiopulmonar obstructiva (EPÓC). Algunos estudios indican que, en Estados Unidos, estos padecimientos figuran entre las causas más importantes de incapacidad y ausentismo laboral, e inclusive, ocupan el

quinto lugar en lo que se refiere a mortalidad. Concretamente, en dicho país, se estima que las EPOC afectan al 10 a 25 % de la población adulta y provocan cerca de 50.000 defunciones al año (41, 43).

Según datos emitidos en Denver, anualmente, 7.5 millones de norteamericanos padecen de bronquitis crónica, 2.1 de enfisema pulmonar y 6.4 de asma. Sin embargo, los expertos consideran que dichas cifras sólo corresponden a los casos más graves o evidentes de cada enfermedad y que las reales deben ser mucho mayores (41).

Por lo que respecta a México, los casos de bronquitis crónica y enfisema se han incrementado en los últimos años; los informes de 1971 colocaban a estos padecimientos dentro de las 10 principales causas de muerte en personas mayores de 45 años, si bien las cifras correspondientes aumentaban entre la población de 65 a 75 años. En ese mismo año, existieron reportes que señalaban que dichas afecciones ocuparon el séptimo lugar, con una tasa de morbilidad de 19.3. En 1981, la bronquitis crónica se manifestó como el séptimo motivo de consulta, el décimo de hospitalización y el duodécimo de muerte en el Instituto Mexicano del Seguro Social (43).

Los datos estadísticos que se citan a continuación sólo se refieren al Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias

(INER) de la Ciudad de México:

En 1989, dicha institución proporcionó atención médico-quirúrgica de tercer nivel a pacientes clasificados como de primer y segundo niveles en la Secretaría de Salud, Hospitales Generales, algunas clínicas del I.M.S.S. y PEMEX, debiendo asignar el 53.2 % de las camas a enfermos con neumopatías tales como bronquitis crónica, enfisema, cáncer, asma, fibrosis pulmonar, etc., los cuales permanecieron internos durante un tiempo promedio de 18.7 días (19).

Ese mismo año, la bronquitis crónica ocupó el sexto lugar con 222 casos, los cuales representaron el 6.1 % del total de padecimientos registrados. Lógicamente, la mayoría de ellos involucró a pacientes mayores de 45 años, destacando los pacientes de más de 65 años del sexo femenino (19).

Por lo que respecta a las causas de mortalidad intrahospitalaria, se presentaron 293 defunciones de las cuales el 3 % fueron provocadas por la bronquitis crónica. Cabe señalar que el 17 % de los pacientes falleció dentro de las primeras 48 h. Estas cifras son similares a las que se alcanzaron en 1988 (19).

Cabe mencionar que, en el Departamento de Urgencias y Consulta Externa las afecciones más frecuentes fueron crisis

asma, bronquitis aguda y crónica descompensadas por procesos infecciosos y laringotraqueítis (19).

iv. Tratamiento

Los principios básicos de la terapéutica relacionada con la bronquitis crónica incluyen: la interrupción del tabaquismo, la supresión de otros agentes generadores de irritación inhalatoria (humos y gases contaminantes), alivio del broncoespasmo, fisioterapia del tórax, tratamiento de complicaciones (los procesos infecciosos, insuficiencias cardíacas, etc.) y otras medidas relacionadas con la rehabilitación (25, 41).

En general, puede establecerse que los enfermos con bronquitis crónica son pacientes ambulatorios o internos, de acuerdo a la gravedad de su afección.

Pacientes ambulatorios

En este caso, cuando el paciente sufre de exacerbaciones frecuentes y sibilancias, se justifica el empleo de broncodilatadores. Los fármacos simpaticomiméticos inhalados y los derivados de la teofilina -de acción prolongada- son esenciales en este tipo de terapia (16, 35, 43).

Por lo que se refiere a la utilización de esteroides, ésta es

muy controvertida, debido a sus efectos colaterales y a que permiten la recurrencia de los padecimientos infecciosos. Sin embargo, sus efectos antiinflamatorio, antialérgico y broncodilatador los constituye en gran ayuda para el enfermo (45).

En general, la corticoterapia se recomienda para los pacientes con exacerbaciones frecuentes y/o síntomas que incapacitan y no ceden con simpaticomiméticos y teofilina, pero debe valorarse mediante espirometría e interrumpirse después de 2 a 4 semanas, sobre todo si el paciente no experimenta mejoría objetiva en relación a su capacidad vital forzada o en su cociente FEV₁/FVC (16, 25).

Este tratamiento debe destinarse hacia la disminución de la producción de secreciones broncopulmonares e incrementar su movilización y eliminación. En este sentido, deben evitarse los estímulos irritantes de las vías respiratorias y emplear antibióticos orales para impedir los procesos infecciosos (28).

La movilización de las secreciones puede estimularse a través de hidratación sistémica adecuada, simpaticomiméticos inhalados y drenaje postural. Los expectorantes pueden resultar beneficios; en este contexto, los de mayor utilidad son el agua, el cloruro de amonio, el bicarbonato o guayacolato de glicerilo, etc. Entre los agentes mucolíticos

destaca la bromexina, pero éstos aportan pocos o ningún beneficio. Finalmente, el empleo de antitusígenos está contraindicado (16, 25, 43).

Pacientes hospitalizados

La hospitalización es altamente recomendable cuando existe agravamiento de la bronquitis crónica, principalmente en casos de insuficiencia respiratoria aguda, corazón pulmonar y neumotórax.

La terapéutica indicada incluye la administración de oxígeno suplementario, el empleo de broncodilatadores (simpaticomiméticos y anticolinérgicos inhalados), aminofilina intravenosa, glucocorticoides, fisioterapia de tórax y antibióticos de amplio espectro. La oxígeno terapia no debe interrumpirse por temor a suprimir el impulso ventilatorio y, cuando ocurre insuficiencia respiratoria progresiva, se debe recurrir a la intubación traqueal y la ventilación mecánica (16, 25).

II. PARTE EXPERIMENTAL

1. MATERIAL Y EQUIPO

Material de laboratorio

El usual en los laboratorios de Bacteriología clínica: mechero, asa-portasa, portaobjetos, tubos de ensayo de 13 x 100 sin labio, tubos de ensayo de 16 x 150 sin labio, cajas de Petri de 9 cm de diámetro, hisopos estériles de algodón, recipientes de vidrio de boca ancha, recipiente de cierre hermético Gas-Pack, matraces de 1 L, 500 y 250 ml, pipetas de 25, 10, 5 y 1 ml, probetas de 1000, 500, 250, 100, 50 y 10 ml, kitsatos de 500 y 250 ml, filtros y membranas Millipore (poro 0.45 μ) y perlas de vidrio.

Equipo de laboratorio

Microscopios óptico y estereoscópico, campana de flujo laminar, incubadora ajustada a 35°C, refrigerador ajustado a 4°C y autoclave.

Material biológico

- 100 expectoraciones de calidad comprobada, provenientes de otros tantos pacientes con bronquitis crónica.

- 50 exudados faríngeos recolectados a partir de otras tantas personas aparentemente sanas que no se encontraban sometidas a tratamiento alguno.

Reactivos y medios de cultivo

Polienuqueamiento IsoVitaléX, hemoglobina purificada, sangre estéril de carnero, sueros Phadebact para la identificación de estreptococos, discos impregnados con 5 µg/ml de optoquina, ácido cítrico, bicarbonato sódico, clorhidrato de N,N dimetil p - fenilendiamina, glucosa, maltosa, lactosa, sacarosa, fructosa, azul de orto toluidina, ácido sulfanílico, α naftilendiamina, cinc, N,N dimetil p -aminobenzaldehído, discos de papel impregnados con los factores X y V -respectivamente-, hidróxido de sodio, plasma citratado, aceite mineral, lisina, ornitina y arginina.

Trypticase soya agar, agar base GC, agar Mac Conkey, manitol sal agar, agar para DNasa, cistina trypticaseína agar, Kligler agar, agar citrato de Simmons, medio SIM, caldo urea, caldo manitol rojo de fenol, caldo infusión de cerebro corazón, caldo nitrato, caldo nitrito, Hugh y Leifson, caldo descarboxilasa base de Moeller y caldo malonato.

ii. METODOLOGIA

En este estudio, se analizaron microbiológicamente cien

expectoraciones provenientes de otros tantos pacientes con bronquitis crónica. Ello se realizó con el objeto de determinar la probable participación de *Moraxella catarrhalis* y otros agentes potencialmente patógenos en dicho trastorno, considerando una parte representativa de la población que habita en el D.F. y las zonas conurbadas.

Análisis y comprobación de la calidad de las expectoraciones analizadas

Antes de efectuar los cultivos correspondientes, dichos especímenes se revisaron microscópicamente, previa realización de frotis al Gram, para seleccionar a los que poseían una calidad adecuada; lógicamente, en los casos en los que las muestras no cumplieron con esta característica, se procedió a su sustitución recurriendo a sus respectivos pacientes; finalmente, las cien mostraron las propiedades requeridas para llevar a cabo un análisis representativo: menos de diez células epiteliales y más de veinticinco leucocitos polimorfonucleares (PMN) por campo y de acuerdo al objetivo 10X.

Detección y clasificación de las muestras que, presuntivamente, contenían *Moraxella catarrhalis*

Posteriormente, las mismas extensiones utilizadas para determinar la calidad de las expectoraciones se observaron a inmersión, para detectar a las que manifestaban numerosas bacterias cuya morfología coincidía con la de *Moraxella*

catarrhalis; cabe señalar que las que se encontraron en este caso, se clasificaron con una, dos, tres y hasta cuatro cruces (+, ++, +++, ++++), de acuerdo a su abundancia en dichas estructuras.

Aislamiento de *Moraxella catarrhalis* y otras especies

Cada una de las cien expectoraciones se sembró en cuatro medios de cultivo diferentes: gelosa sangre de carnero, agar chocolate con NAD⁺, agar Mac Conkey y manitol sal agar, mismos que después se incubaron durante 24 a 48 h, a 35 - 37°C y en atmósfera de 5 a 10 % de CO₂.

Una vez efectuada dicha incubación, se analizaron las características macroscópicas de los microorganismos que desarrollaron en cada placa, con la finalidad de seleccionar a aquéllos cuyas colonias semejaban:

- En gelosa sangre de carnero: a las de estreptococos β hemolíticos, *S. pneumoniae*, *Moraxella catarrhalis*, *Moraxella sp*, *Acinetobacter sp*, y *Pseudomonas aeruginosa*, lo mismo que a las de los miembros más regulares de la flora habitual de la faringe -estreptococos del grupo Viridans, difteroides y neisserias comensales-.
- En agar chocolate adicionado de NAD⁺: a las de *Haemophilus influenzae*, *Haemophilus sp*, *Moraxella catarrhalis*, *Moraxella sp* y neisserias comensales.

- En Mac Conkey: a las de *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter sp.*, *Escherichia coli*, *Serratia marcescens*, *Proteus sp.*, *Aeromonas sp.*, *Acinetobacter sp* y *Pseudomonas aeruginosa*.
- En manitol sal agar: a las de *Staphylococcus epidermidis* -otro miembro regular de la flora faríngea- y *Staphylococcus aureus*.

Identificación de *Moraxella catarrhalis* y otras especies aisladas

Las colonias elegidas de acuerdo a lo anterior, se propagaron en agar chocolate con NAD⁺ y, posteriormente, se sometieron a pruebas de identificación, respetando los siguientes criterios:

- A las de estreptococos β hemolíticos, se les realizarían pruebas de coagulación para determinar su grupo de Lancefield; cabe mencionar, sin embargo, que este tipo de bacterias no se detectó en ninguna de las cien expectoraciones (consultar el inciso correspondiente a resultados).
- A las de estreptococos α hemolíticos, se les efectuó la prueba de sensibilidad a la optoquina para diferenciar a *S. pneumoniae* -que la da positiva- de los estreptococos del grupo Viridans -que la dan negativa-.

- A aquellas cuya morfología macroscópica coincidía con la de *Moraxella catarrhalis*, *Moraxella* sp y neisserias comensales, en un primer paso se les sometió a la prueba de las oxidasas y, en los casos en los que esta resultó positiva, se procedió a la realización de las pruebas de la DNasa y de oxidación de carbohidratos en el medio de cistina tripticaseína agar (CTA) con 1 % de glucosa, maltosa, lactosa, sacarosa y fructosa, respectivamente. Cabe señalar que la diferenciación entre *M. catarrhalis* y las demás especies de este género -como grupo aparte- se basó en las características mencionadas en la tabla 1 (capítulo I, inciso "a").
- A las que sugerían la presencia del género *Haemophilus*, se les sometió a la prueba de producción de indol y a auxonogramas de factor V (NAD^+), con el objeto de diferenciar a la especie *H. influenzae*.
- A las que se habían obtenido en manitol sal agar, se les observó a inmersión y, cuando estaban constituidas por numerosos cocos Gram positivos en racimo, les era considerada su capacidad para fermentar manitol -lo cual se había manifestado en el medio mencionado- y se les realizaba la prueba de la coagulasa. Lo anterior tenía como finalidad diferenciar a *S. aureus* (manitol y coagulasa positivas) de *S. epidermidis* (manitol y coagulasa negativas).

- A las que se habían aislado en agar Mac Conkey y/o presentaban las características macroscópicas de *Pseudomonas aeruginosa* en gelosa sangre de carnero, se les observó a inmersión para seleccionar a las que se integraban por bacilos cortos Gram negativos y sometierlas a las pruebas bioquímicas adecuadas en los medios de Kligler, citrato de Simmons, SIM, caldo malonato, caldo descarboxilasas, caldo manitol rojo de fenol y caldo urea. De esta manera, se identificó a *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter sp.*, *Serratia marcescens*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris* y *E. coli*.
- A las que desarrollaron óptimamente en agar sangre pero, además, presentaron escaso desarrollo en agar Mac Conkey, se les observó a inmersión para investigar si se trataba de bacilos cortos o cocobacilos Gram negativos agrupados en pares y, en esos casos, someterlos a las pruebas contempladas en el esquema de King-Weaver (para la identificación de bacilos no fermentadores): la de oxidación-fermentación (en Hugh y Leifson), capacidad para desarrollar en agar Mac Conkey, oxidasas, movilidad, reducción de nitratos y nitritos, y la utilización de citrato. De esta manera, se identificaron *Acinetobacter sp.*, *Moraxella sp* y *Aeromonas sp.*
- A aquellas cuya morfología sugería la presencia de difteroides, también se les observó a inmersión para

comprobar su contenido en bacilos cortos y pleomórficos Gram positivos agrupados en empalizadas, letras chinas y pares unidos por los extremos.

Análisis bacteriológico de 50 exudados faríngeos

Por otra parte, se llevó a cabo el análisis microbiológico de los exudados faríngeos provenientes de 50 personas aparentemente sanas, entre las cuales figuraban miembros del Departamento de comedores del INER y visitantes de los los pacientes internados en el mismo instituto. Lo anterior se realizó con el objeto de estudiar la frecuencia con la que se aísla a *Moraxella catarrhalis* de la faringe de los individuos aparentemente sanos que no se encuentran sometidos a tratamiento alguno.

Dicho análisis se efectuó obteniendo, con hisopos de algodón, el exudado faríngeo de cada persona. Posteriormente, el contenido de cada hisopo se descargó en una placa de gelosa sangre de carnero y se distribuyó -con asa estéril- en toda la superficie del agar. Tras una incubación de 24 a 48 h. a 35 - 37°C y en atmósfera de 5 a 10 % de CO₂, se procedió a analizar las características macroscópicas de las colonias seleccionándose, para su posterior propagación en agar chocolate con NAD⁺, a las que semejaban a *Moraxella catarrhalis*.

Una vez que se logró la propagación de las colonias elegidas, se buscó identificar a *Moraxella catarrhalis*, tal como se describió anteriormente.

iii. Resultados

Como se puede observar en la tabla 3, el microorganismo detectado con mayor frecuencia en las expectoraciones fue *M. catarrhalis* con 46 % (25 % en cultivo puro y 21 % en coparticipación), seguido por *H. influenzae* con 15 % (2 % como especie única y en 10 casos mezclado con *M. catarrhalis*), *S. aureus* con 11 % (5 % en forma pura y en 4 ocasiones con *M. catarrhalis*), *K. pneumoniae* y *P. aeruginosa* con 7 % cada uno, y *Moraxella* sp y *S. pneumoniae* con 5 y 4 %, respectivamente. Asimismo, la incidencia de otras bacterias tales como *Enterobacter* sp, *E. coli*, *S. marcescens*, *Proteus* sp, *Aeromonas* sp y *Acinetobacter* sp resultó menor a 4 %.

Acerca de los frotis al Gram observados a inmersión, en 41 de ellos se detectaron diplococos Gram negativos intra y/o extraleucocitarios; su clasificación, en cuanto a su contenido en dichas estructuras, fue la siguiente: 1 con +, 6 con ++, 16 con +++, 10 con ++++ y 8 con +++++. Cabe señalar que, después de haberse realizado los aislamientos y las pruebas de identificación, la presencia de *M. catarrhalis* fue confirmada en 39 de las 41 expectoraciones de las que

procedían dichas extensiones teñidas. La tabla 4 contiene el resumen correspondiente.

Probable exacerbador	Total # = %	en cultivo puro	--EN CULTIVO MIXTO--		
			#	con <u>M. catarr.</u>	con otro
<i>M. catarrhalis</i>	46	25	21	--	21
<i>H. influenzae</i>	15	2	13	10	3
<i>S. aureus</i>	11	5	6	4	2
<i>K. pneumoniae</i>	7	2	5	2	3
<i>P. aeruginosa</i>	7	3	4	0	4
<i>Moraxella</i> sp	5	3	2	1	1
<i>S. pneumoniae</i>	4	1	3	2	1
<i>Enterobacter</i> sp	3	1	2	1	1
<i>E. coli</i>	3	2	1	0	1
<i>S. marcescens</i>	2	1	1	0	1
<i>Aeromonas</i> sp	2	1	1	0	1
<i>Proteus</i> sp	1	0	1	1	0
<i>Acinetobacter</i> sp	1	1	0	0	0

Tabla 3. Frecuencia de aislamiento de los probables agentes patógenos detectados en las expectoraciones provenientes de cien pacientes con bronquitis crónica.

Clasificación de los frotis	# de frotis con diplococos G -	Expectoraciones con <i>M. catarrhalis</i>
+	1	0
++	6	5
+++	16	15
++++	10	10
+++++	8	8
ninguna	0	8
	41	46

Tabla 4. Clasificación de 41 extensiones teñidas en las que se observaron diplococos Gram negativos y su relación con las expectoraciones en las que se detectó a *M. catarrhalis*.

Por otra parte, es importante consignar que sólo en 3 de los individuos aparentemente sanos (6 %) se encontró a *M. catarrhalis* integrando la flora habitual de la faringe.

iv. Discusión de los resultados

Con excepción de *M. catarrhalis* y otras especies del género *Moraxella*, los microorganismos detectados con mayor frecuencia son los que la literatura reconoce, desde hace varias décadas, como los principales agentes etiológicos del padecimiento.

Por otro lado, es claro que los índices de aislamiento de *M. catarrhalis* resultaron notablemente mayores que los del resto de las bacterias identificadas. Ello sugiere que, la participación de esta especie en la exacerbación de la bronquitis crónica, constituye algo más que una simple posibilidad; de hecho, la única objeción que pudiera existir para aceptar esta afirmación radica en que, por lo general, se considera que *M. catarrhalis* es uno de los miembros regulares de la flora habitual de las vías respiratorias altas y, por ende, su presencia en las expectoraciones podría deberse a una probable contaminación faríngea de este tipo de especímenes.

En este sentido, es claro que dicho cuestionamiento se hubiera podido evitar analizando muestras más representativas

tales como los aspirados transtraqueales o los cepillados bronquiales -los cuales prácticamente no se contaminan con miembros de la flora habitual-. Sin embargo, deben tomarse en cuenta los siguientes planteamientos:

- Las cien expectoraciones analizadas poseían una calidad adecuada, de acuerdo a su contenido en PMN y células epiteliales.

A este respecto, cabe recordar lo establecido por algunos autores en cuanto a que, "en los estudios microbiológicos relacionados con el diagnóstico de bronquitis, neumonías y bronconeumonías, la aspiración transtraqueal ofrece sólo algunas pequeñas ventajas sobre las expectoraciones, a condición de que la buena calidad de estas últimas se haya comprobado con anterioridad" (15, 18, 34, 38, 51, 54).

- En cuarenta y siete de los cien especímenes analizados se detectó la presencia de una única especie. Ello podría indicar que, por lo menos, cerca de la mitad de las expectoraciones de buena calidad no se contaminan con microorganismos bucofaringeos cultivables en los medios empleados, ya que es difícil aceptar que, de la gran variedad de especies bacterianas que colonizan boca y faringe, sólo una se pueda incorporar a las expectoraciones durante su paso por esas regiones anatómicas. De hecho, en las 19 expectoraciones que sólo contenían miembros de la

flora faríngea. se encontró una mezcla de *S. epidermidis*. estreptococos del grupo Viridans. neisserias comensales. difteroides y algunos otros.

- Sólo en 3 (6 %) de los exudados faríngeos provenientes de los cincuenta individuos aparentemente sanos, se detectó a la especie *Moraxella catarrhalis*. En este sentido, pensamos que habría que investigar más a fondo la frecuencia real con la que esta bacteria forma parte de la flora habitual de las vías respiratorias altas en las personas sanas. Sin embargo, por lo que se refiere a la población analizada, dicha frecuencia puede considerarse casi despreciable y al sustraerla del 46 % con la que este microorganismo se encontró en las expectoraciones, la cifra resultante de 40 % es aún muy elevada y sigue sugiriendo fuertemente que *M. catarrhalis* destaca entre las especies de mayor participación en la exacerbación de la bronquitis crónica.

Otros hallazgos que también merecen comentarse

Sin duda alguna, un punto delicado de tratar es el referente al valor de los frotis teñidos que se prepararon directamente de las expectoraciones. Aparentemente, dichas extensiones poseen una extraordinaria sensibilidad; ello se infiere del hecho de que, de 41 preparaciones en las que se observaron diplococos Gram negativos, 38 provenían de expectoraciones en las que se detectó a *M. catarrhalis*. Más aún, de las 34 clasificadas con 3 ó más cruces, 33 se realizaron a partir de

muestras de las que se aisló al microorganismo.

Lo anterior podría considerarse suficiente para establecer que:

- La confiabilidad de una identificación de *M. catarrhalis*, basada solamente en la observación de frotis al Gram provenientes de expectoraciones, es del 82.6 %. (38/46 x 100).
- Cuando los frotis al Gram de las expectoraciones no muestren diplococos Gram negativos, se puede descartar la posibilidad de que *M. catarrhalis* se encuentre en dichos especímenes, con un 82.6 % de seguridad [(8/46 x 100) - 100].

Sin embargo, lo más conveniente radica en considerar que los frotis al Gram -preparados directamente a partir de las expectoraciones- constituyen un aporte adicional a los resultados obtenidos mediante el aislamiento y las pruebas de identificación, pero no representan un criterio determinante para decidir si se realizan los cultivos correspondientes o si se busca la presencia de *M. catarrhalis* en las expectoraciones.

Por otra parte, según los resultados de este trabajo, *Haemophilus influenzae* es el microorganismo cuya incidencia en el padecimiento siguió a la de *Moraxella catarrhalis*. En

este contexto, llaman la atención 2 situaciones:

- (a) De las 15 muestras en las que se detectó a *H. influenzae*, 10 también contenían a *M. catarrhalis*.
- (b) Según la literatura emitida en países desarrollados, la incidencia de *H. influenzae* suele ser mayor que la de la *M. catarrhalis*.

Proporciones cercanas a la referida en el punto (a) se observan en los cuadros asociados a *Staphylococcus aureus* el cual, en esta investigación, se manifestó como el tercer agente participante en la enfermedad.

Comentarios finales

El hecho de que *M. catarrhalis* se haya detectado en forma pura en el 25 % de las muestras analizadas en el presente estudio, no representa un motivo suficiente para asegurar que dicho microorganismo es el principal causante de la exacerbación de la bronquitis crónica. Lo anterior se debe, fundamentalmente, a que las técnicas utilizadas no permiten poner de manifiesto la presencia de agentes virales, micoplasmas y numerosas formas L. Sin embargo, su frecuente participación en esta enfermedad nos sugiere que, en México, también aplica lo que numerosos autores extranjeros han publicado sobre su considerable incidencia en los padecimientos de las vías respiratorias bajas (1, 2, 6, 7, 8,

17, 30, 31, 36, 42, 44, 45, 46, 52, 55).

Considerando los numerosos reportes de las revistas extranjeras especializadas y los resultados obtenidos en este trabajo, es necesario que todos los equipos mexicanos de salud reconozcan que: a condición de que las expectoraciones posean una calidad debidamente comprobada, el aislamiento de *Moraxella (Branhamella) catarrhalis* es de un amplio significado diagnóstico.

CONCLUSIONES

Con relación a nuestro medio:

1. *Moraxella catarrhalis* se encuentra hasta en el 46 % de las expectoraciones de calidad comprobada, provenientes de pacientes con bronquitis crónica.
2. La incidencia de *Moraxella catarrhalis* en la exacerbación de la bronquitis crónica podría alcanzar cifras de 40 a 46 %. Esto la constituye en la especie de mayor relevancia en dicho trastorno, no obstante la reconocida importancia que se les concede a *Haemophilus influenzae* y a *Streptococcus pneumoniae*.
3. *Moraxella catarrhalis* se encuentra formando parte de la flora faríngea, sólo en el 6 % de los individuos aparentemente sanos.

En general:

4. Es preciso reconocer que *Moraxella catarrhalis* participa

frecuentemente en las patologías asociadas al tracto respiratorio -tanto superior como inferior- y que, además, puede ocasionar padecimientos en la conjuntiva ocular y la mucosa genital.

5. El análisis microbiológico de las expectoraciones requiere de que, la calidad de estas últimas, se haya comprobado debidamente.
6. En los frotis al Gram provenientes de esputos expectorados, *Moraxella catarrhalis* puede aparecer tanto dentro como fuera de los leucocitos polimorfonucleares.
7. *Moraxella catarrhalis* desarrolla fácilmente en los medios mínimos y en la mayoría de los que se emplean en los laboratorios clínicos; de hecho, es conveniente considerar que numerosas cepas lo pueden hacer en el Thayer Martin modificado.
8. La identificación de *Moraxella catarrhalis* en el laboratorio se basa, fundamentalmente, en su morfología microscópica y macroscópica, en su reacción positiva a la prueba de las oxidasas, su incapacidad para desarrollar en agar Mac Conkey y para utilizar carbohidratos y, desde luego, en su evidente producción de DNAsas.

BIBLIOGRAFIA

1. Aitken J.M., Tornley P.E.: Isolation of *Branhamella catarrhalis* from sputum and tracheal aspirate. J. Clin. Microbiol., 1983; 18(5): 1262-1263.
2. Anónimo: *Branhamella catarrhalis*: pathogen or oportunist? Lancet, 1982; 1(8280): 1056.
3. Buchanan R.E., Gibbons N.E. :
BERGEY'S MANUAL OF DETERMINATIVE BACTERIOLOGY.
The Williams & Wilkins Company, 8th. Edition.
Baltimore, 1984; 427-444.
4. Burrows B.: Differential diagnosis of Chronic Obstructive Pulmonary Disease. Chest (Supplement), 1990; 97(2): 16-18.
5. Chi D.S., Verghese A., Moore C., Hamati F., Berk S.L.: Antibody response to P-protein in patients with *Branhamella catarrhalis* infections. Am. J. Med. (Supplement), 1990; 88(5A): 25-27.
6. Darling W.M., Wardle J.K., Freeman R., Ingham H.R.: *Branhamella catarrhalis*. Lancet, 1982; 1(8283): 1244.
7. Davies B.I., Maesen F.P.V.: *Branhamella catarrhalis* chest infections. Lancet, 1986; 2(8501): 278.
8. Davies B.I., Maesen F.P.V.: Epidemiological and bacteriological findings on *Branhamella catarrhalis* respiratory infections in the Netherlands. Drugs, 1986;

31(3): 28-33.

9. Diez C.I.: Estudios recientes acerca de *Branhamella catarrhalis*. Infectologia (Editorial), 1986; 6(2): 35.
10. Doern G.V., Morse S.A.: *Branhamella (Neisseria) catarrhalis*: Criteria for laboratory identification. J. Clin. Microbiol., 1980; 11(2): 193-195.
11. Doern G.V.: *Branhamella catarrhalis*: phenotypic characteristics. Am. J. Med. (Supplement), 1990; 88(5A): 33-35.
12. Eliason I.: Serological identification of *Branhamella catarrhalis*, serological evidence for infection. Drugs, 1986; 31(3): 7-10.
13. Espinosa P.J.L., Fuentes M., Rico M.F.G.:
NEUMOLOGIA. CONCEPTOS CLINICO RADIOLOGICOS.
Editorial Trillas, 1a. Edición.
México, 1989: 137-145.
14. Freeman B.A.:
MICROBIOLOGIA DE BURROWS.
Editorial Interamericana, 22a. Edición.
México, 1989: 467-494.
15. Geckler R.W., Gremillion D.H., Mc Allister C.K.,
Ellenbogen C.: Microscopic and bacteriological comparison
of paired sputa and transtracheal aspirates. J. Clin.
Microbiol., 1977; 6(4): 396-399.

16. Gross N.J.: Chronic Obstructive Pulmonary Disease. Current concepts and therapeutic approaches. Chest (Supplement), 1990; 97(2): 19-23.
17. Hager H., Verghese A., Alvarez S., Berk S.L.: *Branhamella catarrhalis* respiratory infections. Rev. Infect. Dis., 1987; 9(6): 1140-1149.
18. Heineman H.S., Chawla J.K., Lofton W.M.: Misinformation from sputum cultures without microscopic examination. J. Clin. Microbiol., 1977; 6(5): 518-527.
19. Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias: INFORME DE LABORES 1989. Secretaria de Salud, I.N.E.R. 1990.
20. Jackson F.N., Holle R.H.O.: El tabaquismo: estado actual y perspectivas. Rassegna, 1986; 7(2): 27-37.
21. Johnson M.A., Drew W.L., Roberts M.: *Branhamella (Neisseria) catarrhalis* a lower respiratory tract pathogen?. J. Clin. Microbiol., 1981; 13(6): 1066-1069.
22. Joklik W.K., Willett H.P., Amos D.B.:
ZINSSER MICROBIOLOGIA.
Editorial Médica Panamericana, 18a. Edición.
México, 1986: 572-589.
23. Jordan K.L., Berk S.H., Berk S.L.: A comparison of serum bactericidal activity and phenotypic characteristics of bacteremic pneumonia, causing strains and colonizing strains of *Branhamella catarrhalis*. Am. J. Med.

(Supplement). 1990: 88(5A): 28-32.

24. Koneman E.W., Allen S.D., Dowel V .R., Sommer H.M.:DIAGNOSTICO MICROBIOLOGICO.
Editorial Médica Panamericana.
México. 1989.
25. Krupp M.A., Chatton M.J., Tierney L.M.:
DIAGNOSTICO CLINICO Y TRATAMIENTO.
Editorial El Manual Moderno, 22a.Edición.
México 1987: 133-135.
26. Lira Ortega M.E.: *Moraxella (Branhamella) catarrhalis*:
Patógena u oportunista en enfermedades de vías
respiratorias. Trabajo monográfico de actualización.
Facultad de Química, U.N.A.M., México 1989.
27. MacFaddin J.F.:
PRUEBAS BIOQUIMICAS PARA LA IDENTIFICACION DE BACTERIAS DE
IMPORTANCIA CLINICA.
Editorial Médica Panamericana.
Argentina. 1980.
28. Manresa F., Blavia R., Martin R., Liñares J., Rodriguez
B., Verdaguer R.: Antibiotics for exacerbations of chronic
bronchitis. Lancet. 1987: 1: 394-395.
29. Marrs C.F., Weir S.: Pili (fimbriae) of *Branhamella*
species. Am. J. Med. (Supplement). 1990: 88(5A): 36-40.
30. McGowan C.E.: Respiratory tract infections due to

Branhamella catarrhalis and *Neisseria* species. In:
Remington J.S.:
CURRENT CLINICAL TOPICS IN INFECTIONS DISEASES.
Editorial McGraw Hill.
New York, 1987; 8: 181-202.

31. McLeod D.T., Ahmad F., Croughan M.J., Calder M.A.:
Bronchopulmonary infection due to *Branhamella catarrhalis*
clinical features and therapeutic response. *Drugs*, 1986;
31(3): 109-112.
32. Morello J.A., Bohnhoff M.: *Neisseria* and *Branhamella* spp.
In: Lennette E.H. MANUAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY.
American Society for Microbiology, 3rd. Edition,
Washington, D.C., 1980: 111-130.
33. Murphy T.F.: Studies of the outer membrane proteins of
Branhamella catarrhalis. *Am. J. Med. (Supplement)*, 1990;
88(5A): 41-45.
34. Murray P.R., Washington J.A.: Microscopic and
bacteriologic analysis of sputum. *Mayo Clin. Proc.*, 1975;
50: 339-344.
35. Nett L.M.: The physicians role in Smoking cessation: a
present and future agenda. *Chest (Supplement)*, 1990;
97(2): 28-33.
36. Ninane G., Joly J., Kravtman M., Piot P.: Bronchopulmonary
infection due to betalactamase producing *Branhamella*
catarrhalis treated with amoxycillin/ clavulanic acid.

- Lancet, 1978; 2(8083): 257.
37. Ninane G., Joly J., Kraytman M., Piot P.: *Branhamella (Neisseria) catarrhalis* as pathogen. Lancet, 1977; 1: 149.
 38. Organización Mundial de la Salud:
MANUAL DE TECNICAS BASICAS PARA UN LABORATORIO DE SALUD.
Organización Mundial de la Salud, Serie PALTEX.
Washington, D.C., 1983; 2: 253-256.
 39. Patterson J.E., Patterson T.F., Farrel P., Hierholzer W.J., Zervos M.: Evaluation of restriction endonuclease analysis as an epidemiologic typing system for *Branhamella catarrhalis*. J. Clin. Microbiol., 1989; 27(5): 944-946.
 40. Percival A., Corkill J.E., Rowlands J., Sykes R.B.: Pathogenicity of and betalactamase production by *Branhamella (Neisseria) catarrhalis*. Lancet, 1977; 2: 1175.
 41. Petty T.L.: Changing attitudes and strategies in C.O.P.D. management. Chest, 1990; 97(2): 1-5.
 42. Pollard J.A., Wallace R.J., Nash D.R., Luman J.I., Witson R.W.: Incidence of *Branhamella catarrhalis* in the sputa of patients with chronic lung disease. Drugs, 1986; 31(3): 103-108.
 43. Rivero S.O.:
NEUMOLOGIA.
Editorial Trillas. 2a. Edición.
Mexico, 1988: 172-179.

44. Saito A., Yamaguchi K., Shigeno Y.: Clinical and bacteriological evaluation of *Branhamella catarrhalis* in respiratory infections. *Drugs*, 1986; 31(3): 87-92.
45. Sarubbi F.A., Myers J.W., Williams J.J., Shell C.G.: Respiratory infections caused by *Branhamella catarrhalis*: selected epidemiologic features. *Am. J. Med. (Supplement)*, 1990; 88(5A): 9-14.
46. Slevin N.J., Aitken J., Tornley P.E.: Clinical and Microbiological features of *Branhamella catarrhalis* bronchopulmonary infections. *Lancet*, 1984; 1: 782-783.
47. Soto H.J.L., Nunley D., Berk H.S., Berk L.S.: Selective medium with DNase test agar a modified toluidine blue technique for primary isolation of *Branhamella catarrhalis*. *J. Clin. Microbiol.*, 1988; 26(3): 405-408.
48. Soto H.J.L., Berk H.S., Harvill M.L., Berk L.S.: Phenotypic characteristics of *Branhamella catarrhalis* strains. *J. Clin. Microbiol.*, 1989; 27(5): 903-908.
49. Thurbeck W.M.: Pathology of chronic airflow obstruction. *Chest (Supplement)*, 1990; 97(2): 6-10.
50. Toews G.B., Hansen E.J., Strieter R.M.: Pulmonary host defenses and oropharyngeal pathogens. *Am. J. Med. (Supplement)*, 1990; 88(5A): 20-24.
51. Van Scoy R.E.: Bacterial sputum cultures a clinician's viewpoint. *Mayo Clin. Proc.*, 1977; 52: 39-41.

52. Wallace R.J., Steele C.L., Brooks L.D., Luman I.J., Wilson W.R., McLarty W.J.: Amoxicilin/ clavulanic acid in the treatment of lower respiratory tract infections caused by betalactamase positive *Haemophilus influenzae* and *Branhamella catarrhalis*. Antimicrob. Agents Chemother., 1985; 27(6): 912-915.
53. Wanner A.: The role of mucus in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. Chest (Supplement), 1990; 97(2): 11-15.
54. World Health Organization:
ACUTE RESPIRATORY INFECTIONS LABORATORY MANUAL OF BACTERIOLOGICAL PROCEDURES.
World Health Organization, Regional office for the Western Pacific.
Manila, 1986.
55. Wright P.W., Wallace R.J., Shepherd R.J.: A descriptive study of 42 cases of *Branhamella catarrhalis* pneumonia. Am. J. Med. (Supplement), 1990; 88(5A): 2-9.
56. Yamaguchi E., Okazaki N., Itoh A., Abe S., Kawakami Y., Okuyama H.: Interleukin 1 production by alveolar macrophages is decreased in smokers. Am. Rev. Respir. Dis., 1989; 140(2): 397-402.