

# **P**rocedimientos en Microbiología Clínica

Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades  
Infecciosas y Microbiología Clínica

**22.**

## **Diagnóstico microbiológico de las infecciones de piel y tejidos blandos**

**2 0 0 6**

**Editores: Emilia Cercenado y Rafael Cantón**

**Coordinadora: Almudena Burillo**

**Autores: Almudena Burillo**

**Antonio Moreno**

**Carlos Salas**



ISBN: 84-611-3539-3

## **INDICE DEL DOCUMENTO CIENTIFICO**

- 1. Introducción**
- 2. Tipos de infecciones: agudas y crónicas**
- 3. Microbiología de las heridas**
  - 3.1. Colonización microbiana
  - 3.2. Factores que predisponen a la proliferación microbiana
- 4. Tipos de infecciones**
  - 4.1. Infección de la herida quirúrgica (IHQ)
    - 4.1.1. Definición
    - 4.1.2. Epidemiología
    - 4.1.3. Patogenia
    - 4.1.4. Etiología
  - 4.2. Infecciones agudas de tejidos blandos
    - 4.2.1. Definición y clasificación
    - 4.2.2. Epidemiología
    - 4.2.3. Patogenia
    - 4.2.4. Etiología
  - 4.3. Infecciones de mordeduras
    - 4.3.1. Definición
    - 4.3.2. Epidemiología
    - 4.3.3. Patogenia
    - 4.3.4. Etiología
  - 4.4. Infecciones de quemaduras
    - 4.4.1. Definición
    - 4.4.2. Epidemiología
    - 4.4.3. Patogenia
    - 4.4.4. Etiología
  - 4.5. Infecciones de úlceras por presión y de otras heridas crónicas (úlceras vasculares venosas)
    - 4.5.1. Definición
    - 4.5.2. Epidemiología
    - 4.5.3. Patogenia
    - 4.5.4. Etiología
  - 4.6. Infección del pie diabético
    - 4.6.1. Definición y clasificación
    - 4.6.2. Epidemiología
    - 4.6.3. Patogenia
    - 4.6.4. Etiología
- 5. Diagnóstico microbiológico de las infecciones de piel y partes blandas**
  - 5.1. Obtención de la muestra
    - 5.1.1. Consideraciones generales
    - 5.1.2. Obtención de la muestra tras la limpieza y desinfección
  - 5.2. Identificación de la muestra, cumplimentación de la hoja de petición y transporte al laboratorio
  - 5.3. Medios de cultivo, reactivos, productos
  - 5.4. Procesamiento de la muestra
    - 5.4.1. Pretratamiento de las muestras
    - 5.4.2. Preparación de las extensiones e inoculación de la muestra en los medios de cultivo
      - 5.4.2.1. Cultivo de anaerobios a partir de torundas
      - 5.4.2.2. Cultivo cualitativo
      - 5.4.2.3. Cultivo semicuantitativo
      - 5.4.2.4. Cultivo cuantitativo
    - 5.4.3. Condiciones de incubación de los medios de cultivo
  - 5.5. Valoración de la tinción de Gram y de los medios de cultivo
    - 5.5.1. Valoración microbiológica de los cultivos cualitativos
      - 5.5.1.1. Valoración de la tinción de Gram
      - 5.5.1.2. Valoración del cultivo
    - 5.5.2. Valoración microbiológica de los cultivos semicuantitativos
      - 5.5.2.1. Valoración de la tinción de Gram
      - 5.5.2.2. Valoración del cultivo
    - 5.5.3. Valoración microbiológica de los cultivos cuantitativos
      - 5.5.3.1. Valoración de la tinción de Gram

#### 5.5.3.2. Valoración del cultivo

### **6. Interpretación de los resultados**

6.1. Tinción de Gram

6.2. Cultivo

### **7. Situaciones especiales**

7.1. Quemaduras

7.2. Pie diabético

### **8. Información de resultados**

### **9. Bibliografía**

## **INDICE DE LOS DOCUMENTOS TÉCNICOS**

- 1. PNT-IPT-01.** Diagnóstico microbiológico de las infecciones de heridas quirúrgicas
- 2. PNT-IPT-02.** Diagnóstico microbiológico de las infecciones de heridas agudas de piel y tejidos blandos
- 3. PNT-IPT-03.** Diagnóstico microbiológico de las infecciones de quemaduras
- 4. PNT-IPT-04.** Diagnóstico microbiológico de las infecciones de heridas crónicas de piel y tejidos blandos
- 5. PNT-IPT-05.** Diagnóstico microbiológico de las infecciones del pie diabético

# **P**rocedimientos en Microbiología Clínica

Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades

Infecciosas y Microbiología Clínica

**Editores: Emilia Cercenado y Rafael Cantón**

## **22. DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO DE LAS INFECCIONES DE PIEL Y TEJIDOS BLANDOS. 2006**

**Coordinadora: Almudena Burillo**

**Autores: Almudena Burillo  
Antonio Moreno  
Carlos Salas**

## 1. INTRODUCCIÓN

Las infecciones de piel y tejidos blandos incluyen a todas las que afectan a piel y anejos cutáneos, tejido celular subcutáneo, fascias y músculo estriado y son, junto con las infecciones de las vías respiratorias, las infecciones más frecuentes en clínica humana.

Estas infecciones pueden estar producidas por una amplia variedad de microorganismos que forman parte de la microbiota de la piel y de las mucosas, y también proceder del medio ambiente. Estos microorganismos penetran en el organismo a través de soluciones de continuidad en la piel o en las mucosas, secundariamente a la producción de una herida traumática, de una quemadura o de una mordedura (origen exógeno), como complicación de la cirugía (origen endógeno) o pueden producirse desde un foco de infección distante a través de la sangre (diseminación hematológica).

El espectro de este tipo de infecciones abarca desde procesos leves hasta cuadros graves con gran afectación sistémica que precisan de una intervención inmediata.

El diagnóstico de infección es, en general, un diagnóstico clínico y no microbiológico. El diagnóstico microbiológico se reserva para los casos en los que se precisa conocer la etiología de la infección, bien porque sean de particular gravedad, porque se sospeche la presencia de microorganismos menos frecuentes (por ejemplo, en enfermos inmunodeprimidos), porque haya habido mala respuesta a tratamientos antimicrobianos previos, o porque son heridas de larga evolución que no cicatrizan dentro de un periodo de tiempo razonable.

## 2. TIPOS DE INFECCIONES: AGUDAS Y CRÓNICAS

En función del momento de aparición y de su evolución, estas infecciones pueden ser agudas o crónicas. Las infecciones agudas se producen por un daño externo sobre la piel intacta, como en las infecciones de la herida quirúrgica, en la infección de una herida traumática, una quemadura o una mordedura.

Las infecciones crónicas están favorecidas por determinados factores del huésped, como el déficit de perfusión, la presión mantenida de la piel sobre prominencias óseas, o enfermedades metabólicas como la diabetes. Es el caso de las úlceras vasculares, de las úlceras por presión o de la infección del pie diabético, estas infecciones suelen ser polimicrobianas, con participación de bacterias aerobias y anaerobias.

## 3. MICROBIOLOGÍA DE LAS HERIDAS

### 3.1. COLONIZACIÓN MICROBIANA

El tejido subcutáneo expuesto es un excelente medio de cultivo para la colonización y proliferación de los microorganismos, que dependen de las características de la lesión (tipo de herida, profundidad, localización, grado de perfusión sanguínea, inmunidad y otros factores como la

presencia de material extraño o tejido necrótico), y de factores propiamente microbianos, como la carga bacteriana y los factores de virulencia de los microorganismos.

Los microorganismos que colonizan las heridas provienen del entorno ambiental, de la propia microbiota de la piel y de la microbiota comensal de mucosas (especialmente mucosa oral, gastrointestinal y genitourinaria).

Tradicionalmente se consideran potencialmente patógenos a los estreptococos beta-hemolíticos, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus* spp., *Bacillus anthracis*, *Pseudomonas aeruginosa* y otros bacilos gramnegativos como las *Enterobacteriaceae*, tanto en las heridas agudas como en las crónicas. No es despreciable la presencia de microorganismos anaerobios en ambos tipos de lesiones (*Bacteroides* spp., *Prevotella* spp., *Porphyromonas* spp. y *Peptostreptococcus* spp.), ya que la microbiota anaerobia está implicada en un 38-48% de los procesos, según las diferentes series.

Se consideran microbiota habitual los siguientes microorganismos aerobios: *Corynebacterium* spp., estafilococos coagulasa negativo, *Micrococcus* spp., *Aerococcus* spp., especies de *Neisseria* spp. no patógenas, estreptococos alfa y no-hemolíticos, etc., y anaerobios (*Propionibacterium* spp., *Clostridium* spp., *Peptostreptococcus* spp.).

No obstante, existen excepciones. El aislamiento de un estafilococo coagulasa negativo en cultivo puro en muestras significativas (por ejemplo, esternotomía, piel del orificio de entrada de un catéter central, prótesis articular o de cualquier dispositivo –consultar guía clínica de la SEIMC “Guía de recomendaciones para el diagnóstico y tratamiento de las infecciones asociadas a biomateriales”) puede ser valorable. En ese caso debe realizarse su identificación y antibiograma según el protocolo correspondiente. Otras excepciones en las que se recomienda la identificación de los microorganismos serían:

1. los estreptococos aislados en cultivo puro en muestras de abscesos
2. *Corynebacterium* spp. aisladas en la punta de entrada de un catéter central en la que se recomienda la identificación a nivel de especie
3. *Erysipelothrix* sp.

### 3.2. FACTORES QUE PREDISPONEN A LA PROLIFERACIÓN MICROBIANA

Son factores predisponentes de la infección la edad, la diabetes, la inmunosupresión, la obesidad, la malnutrición y las alteraciones circulatorias. Una escasa perfusión sanguínea produce una situación de hipoxia tisular que afecta directamente a la capacidad antimicrobiana de los leucocitos, por ello las heridas en áreas anatómicas bien perfundidas (por ejemplo, cara, margen anal) se infectan menos.

#### 4. TIPOS DE INFECCIONES

##### 4.1. INFECCIÓN DE LA HERIDA QUIRÚRGICA (IHQ)

**4.1.1. Definición.** Se define como la infección que se produce en la herida de una incisión quirúrgica. La definición al uso, que es la indicada por el CDC (Centers for Disease Control and Prevention", de EEUU) es compleja y consta de diferentes requisitos:

- tipo de procedimiento quirúrgico (no todos los procedimientos realizados en un quirófano se consideran "quirúrgicos"). Un cirujano debe realizar una incisión a través de la piel o membranas mucosas y suturarla antes de que el enfermo abandone el quirófano.
- referencia temporal: para excluir la existencia de una IHQ se precisa del seguimiento del enfermo durante un periodo determinado.
- referencia anatómica: en función de la profundidad de la afección se diferencian tres tipos: superficial, profunda y de órgano o espacio.
- criterios diagnósticos: pueden ser de tipo clínico, microbiológico o según el criterio personal del médico que atiende al enfermo.

**4.1.2. Epidemiología.** Constituye la segunda causa de infección nosocomial y la desarrollan entre el 2-20% de los enfermos operados, según el tipo de cirugía. Los datos del año 2005 del Estudio de Prevalencia de Infección Nosocomial en España (EPINE) concluyen que la prevalencia de IHQ fue del 21,3%, sólo superada por las infecciones respiratorias (21,7%), y seguida muy de cerca por las infecciones urinarias (20,8%) y bacteriemias (15,9%).

**4.1.3. Patogenia.** Se produce por contaminación de la herida durante el acto quirúrgico o en el postoperatorio inmediato. Existen características o factores de riesgo, tanto del enfermo como del tipo de procedimiento quirúrgico, que pueden influir en el desarrollo de la IHQ (remitimos al lector a la "Guideline for prevention of surgical site infection,

1999" elaborada por el CDC). La utilidad de conocer estos factores consiste en que permite, por un lado, la estratificación de las intervenciones facilitando la interpretación de los estudios de vigilancia epidemiológica y, por otro, la planificación de medidas preventivas dirigidas.

El grado de contaminación bacteriana de los márgenes de la herida condiciona el riesgo de sufrir una IHQ. En base a ello, la cirugía se clasifica en cuatro tipos:

- limpia: intervenciones en las que la incisión atraviesa piel sana y no afecta a las mucosas ni a la cavidad orofaríngea; la técnica quirúrgica se realiza en condiciones de esterilidad, y se cierra la herida por primera intención. Riesgo de infección bajo (1-5%).
- limpia-contaminada: intervenciones en las que hay apertura del tracto respiratorio, gastrointestinal o genitourinario (sin contaminación excesiva de la herida quirúrgica, y siempre de manera controlada); o técnica quirúrgica con violación menor de la esterilidad. Riesgo de infección medio (5-15%).
- contaminada: intervención sobre una herida traumática reciente, incisión sobre tejido inflamado no infectado, derramamiento importante del contenido del tracto gastrointestinal en el campo operatorio, técnica quirúrgica con violación de la esterilidad (por ejemplo, masaje cardíaco externo), o incisión sobre tejido con inflamación aguda no purulenta. Riesgo de infección medio (5-15%).
- sucia: herida que acompaña a una infección clínica (pus) o víscera perforada, o herida traumática de más de seis horas de evolución. Riesgo de infección alto (hasta 40%).

**4.1.4. Etiología.** Los microorganismos causales de IHQ se recogen en la tabla 1, diferenciados por tipo de cirugía.

**Tabla 1.** Etiología de la Infección de la herida quirúrgica

Microorganismo	Número de aislados (%)	Cirugía limpia	Cirugía limpia-contaminada	Cirugía sucia
Enterobacterias	470 (32,5)	110	187	173
<i>Staphylococcus aureus</i>	240 (16,5)	140	51	49
<i>Enterococcus</i> spp.	212 (14,6)	63	70	79
BGN <sup>a</sup> no fermentadores	197 (9,1)	44	54	99
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	118 (8,1)	59	26	33
Anaerobios	69 (4,8)	9	39	21
Otros	59 (4,0)	12	36	11
Levaduras	49 (3,4)	13	16	20
Otros CGP <sup>b</sup>	42 (3,0)	17	22	3
Total	1456	467	501	488

<sup>a</sup>BGN: bacilos gramnegativos; <sup>b</sup>CGP: cocos grampositivos.

Tomado de Olson MM, Lee JT Jr. Continuous, 10-year wound infection surveillance. Results, advantages, and unanswered questions. Arch. Surg., 1990; 125:794-803.

**Tabla 2.** Clasificación de las infecciones necrotizantes de partes blandas

1. En función del supuesto microorganismo o microorganismos causales
2. En función de la forma de presentación clínica
3. En función del tipo de tejido afectado y de la profundidad de la afección: Piel: celulitis aeróbica y celulitis anaeróbica o clostridiana Espacio entre el tejido celular subcutáneo y la fascia: fascitis necrotizante Músculo: miositis estreptocócica y mionecrosis por <i>Clostridium</i> spp.
4. En función de la velocidad de progresión
5. En función del tipo de tratamiento que se precisa

## 4.2. INFECCIONES AGUDAS DE TEJIDOS BLANDOS

**4.2.1. Definición y clasificación.** Bajo el término "infecciones de piel y partes blandas" se engloban todas las infecciones que afectan a la piel, anejos cutáneos, tejido celular subcutáneo, fascia y músculo estriado, aunque es un anglicismo ("*soft tissue infections*") no del todo acertado ya que, en realidad, también son blandas otras partes del organismo (ganglios, vísceras, etc.) y sería preferible hablar de "infecciones de tejidos superficiales".

Dentro de este grupo se incluyen los abscesos cutáneos, las heridas traumáticas y las infecciones necrotizantes. La clasificación de las infecciones necrotizantes de partes blandas se recoge en la tabla 2.

Esta clasificación tiene poca utilidad desde el punto de vista clínico, ya que el pronóstico y tratamiento de las distintas entidades suele ser similar. No obstante, lo verdaderamente importante es diferenciar entre la mionecrosis por *Clostridium* –ya que existe afección muscular y la mortalidad es más alta- y otras infecciones que no afectan al músculo.

**4.2.2. Epidemiología.** En el año 2003, en EE0UU el número de infecciones de piel y tejidos blandos complicadas sobrepasó el millón de casos y se prevé un aumento moderado pero constante dado el envejecimiento paulatino de la población. La resistencia de microorganismos grampositivos a los antibióticos está aumentando (ver más adelante) y los expertos consideran que las infecciones por *S. aureus* resistente a la metililina (SARM) serán cada vez más frecuentes.

**4.2.3. Patogenia.** Como ya se ha indicado, existen tres mecanismos patogénicos principales: origen exógeno, origen endógeno, y diseminación hematógena. Podría incluirse un cuarto mecanismo, indirecto, por toxinas o reacciones inmunológicas.

En muchas de estas infecciones se ha observado sinergia entre aerobios y anaerobios, lo que potencia la aparición de infección. Los aerobios consumen oxígeno y disminuyen el potencial de óxido-reducción, favoreciendo la proliferación de microorganismos anaerobios. Algunos aerobios (como *S. aureus*) producen metabolitos (vitamina K) que potencian el crecimiento de determinados anaerobios (*Prevotella melaninogenica*). Por último, determinados microorganismos (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Bacteroides* spp.) producen succinato, que se acumula en los tejidos e inhibe la fagocitosis de *S. aureus* y *E. coli*.

**4.2.4. Etiología.** El programa SENTRY de vigilancia de resistencias a los antimicrobianos recoge que *S. aureus* es responsable del 43-46% de todas las infecciones de piel y tejidos blandos en enfermos hospitalizados en EEUU y Canadá (datos de los años 1997 y 2000, respectivamente). También origina el 25-30% de los abscesos cutáneos. La mayoría de estas infecciones son monomicrobianas; sin embargo, en otras series, se describe que el 30-50% de los abscesos cutáneos, el 50% de las heridas traumáticas y el 47% de las infecciones necrotizantes de tejidos blandos tienen una flora polimicrobiana aerobia y anaerobia.

Según datos del programa SENTRY entre 1997 y 2000, se observa un aumento de las resistencias a antimicrobianos en los aislados de *S. aureus* que originan infecciones de tejidos blandos, por ejemplo, a metililina, 24% y 29,5%; ciprofloxacino, 20,4% y 26,5% y clindamicina, 16,5% y 20,9%, respectivamente.

## 4.3. INFECCIONES DE MORDEDURAS

**4.3.1. Definición.** Una mordedura es una herida producida por los dientes de un animal o de otra persona, que laceran, perforan o aplastan los tejidos del paciente. Puede afectar a la piel, los nervios, los vasos sanguíneos, los tendones, los músculos, las articulaciones e incluso el hueso (causando osteomielitis); puede causar infecciones a distancia, o lesionar determinadas estructuras como el globo ocular.

**4.3.2. Epidemiología.** Cada año se producen entre 2 y 4,5 millones de mordeduras de animales en EEUU, originan unas 300.000 visitas a servicios de urgencias, suponen la hospitalización de hasta 10.000 enfermos, la muerte de entre 10-20 personas, la mayoría de los cuales son niños y generan un gasto de más de 100 millones de dólares. El 90% de las mordeduras son de perros y gatos. La mayoría de las de perros afectan a niños. Los niños son mordidos en la cara o en el cuero cabelludo, mientras que los adultos son mordidos en brazos o piernas. Se infectan el 10-50% de las mordeduras humanas (dependiendo de la localización y de la gravedad de la lesión), el 3-20% de las de perro y el 30-80% de las de gato.

**4.3.3. Patogenia.** Las mandíbulas de un perro producen una herida traumática con laceración, arrancamiento y perforación de los tejidos. Las mordeduras de gatos se infectan más porque sus incisivos son afilados y estrechos y perforan en

profundidad, causando osteomielitis con más frecuencia que las de perro. Sin embargo, las mordeduras que originan las infecciones más graves son las humanas, dada la gran cantidad y diversidad de microbiota oral que hay en la boca del hombre. Estas mordeduras se clasifican en lesiones oclusivas o por puñetazo. Las lesiones oclusivas se producen accidentalmente (en actividades deportivas, por agresiones o durante la actividad sexual) o de forma intencionada (agresiones por mordedura). Al dar un puñetazo a otra persona, el puño choca contra sus dientes, que llegan hasta la articulación metacarpo-falángica. Cuando el puño se extiende, los tendones se retraen y la infección penetra por debajo de la superficie de la piel. La herida suele ser pequeña y se pasa por alto hasta que aparecen el dolor y la infección.

**4.3.4. Etiología.** Los microorganismos que se aíslan en estas infecciones son los de la microbiota comensal de la boca del agresor. Las infecciones son polimicrobianas en el 74% de los casos, con predominio de *S. aureus*, *Peptostreptococcus* spp. y *Bacteroides* spp. No obstante, también pueden aislarse otros microorganismos menos frecuentes como *Pasteurella multocida*, *Capnocytophaga canimorsus*, *Bartonella henselae* y *Eikenella corrodens*.

Las muestras tomadas en las primeras 12 horas tras la mordedura presentan el riesgo de aislar los microorganismos comensales de la boca del agresor; su aislamiento puede no ser significativo y no permite predecir si posteriormente se producirá la infección.

#### 4.4. INFECCIONES DE QUEMADURAS

**4.4.1. Definición.** La "infección de una quemadura", según el CDC, se diagnostica con algunos de los siguientes criterios:

- cambios en la apariencia de la quemadura, como separación rápida de la escara, áreas de decoloración local (parduzca, negra, violácea) o edema en el margen de la herida

- al menos **dos de los siguientes** signos o síntomas sin otra causa conocida:

- fiebre (>38°C) o hipotermia (<36°C), hipotensión, oliguria (<20 cm<sup>3</sup>/h), hiperglucemia, confusión mental

- exámen histológico de una biopsia cutánea donde se observe invasión de microorganismos en el tejido viable adyacente

- al menos **uno de los siguientes hallazgos:**

- a) hemocultivo positivo en ausencia de otro foco de infección

- b) aislamiento de virus herpes simplex, identificación histológica de inclusiones por microscopía óptica o electrónica, o visualización de partículas víricas por microscopía electrónica en biopsias o raspado de la lesión.

**4.4.2. Epidemiología.** Las complicaciones infecciosas constituyen una de las causas más importantes de morbi-mortalidad en los grandes quemados. Se calcula que en EEUU unos 2 millones

de personas son atendidas cada año debido a cualquier tipo de quemadura y unas 5.000 fallecen por causas directamente relacionadas. En Europa se estima que cada año requieren atención médica por quemaduras aproximadamente 1 millón de personas. La extensión y profundidad de la quemadura, la edad del enfermo, la etiología de la quemadura y las lesiones asociadas constituyen los principales factores que determinan su gravedad. A pesar de todos los avances, fundamentalmente la resección quirúrgica precoz de la quemadura, la infección sigue siendo la causa de muerte en más del 50% de los enfermos quemados.

**4.4.3. Patogenia.** La lesión por quemadura rompe la homeostasis del organismo más que ningún otro tipo de traumatismo, ocasionando importantes alteraciones hemodinámicas, metabólicas, respiratorias, renales e inmunológicas.

Entre los factores que favorecen la infección de la quemadura se incluyen:

- Destrucción de las barreras mecánicas (piel y mucosas)
- Pérdida de proteínas por alteración de la barrera endotelial o por déficit de síntesis (malnutrición)
- Inmunosupresión local y sistémica
- Trastornos de perfusión local
- Procedimientos invasivos (catéteres, respirador, sonda vesical, etc.)

El detritus tisular que forma la quemadura, junto al exudado producido por la misma (rico en proteínas), favorece el crecimiento de microorganismos. Durante las primeras 48 horas existe una colonización por microorganismos endógenos del enfermo y del ambiente hospitalario. Durante la primera semana hay una colonización progresiva de bacterias gramnegativas entéricas que llegan a la quemadura y a la vía aérea superior, ocasionando en muchos casos sepsis desde la quemadura o de origen pulmonar.

**4.4.4. Etiología.** La superficie de la quemadura es estéril inmediatamente después de la agresión térmica, pero en las primeras 48 horas hay una rápida colonización por microorganismos grampositivos, como estafilococos, que resistieron la acción térmica en zonas profundas (glándulas sudoríparas o folículos pilosos). Cinco a siete días después la quemadura se coloniza por otros grampositivos, gramnegativos y levaduras de los tractos gastrointestinal y respiratorio y por bacterias del ambiente hospitalario, a través de fómites o del personal sanitario.

La mayoría de estas infecciones son bacterianas y monomicrobianas. Los grampositivos muestran escasa tendencia invasiva local y no suelen llegar a la fascia. Por el contrario, los gramnegativos invaden con mayor facilidad los tejidos sanos subyacentes, y producen con frecuencia bacteriemia e infecciones a distancia.

Los microorganismos que causan infección invasiva en quemaduras se muestran en la tabla 3.



**Tabla 3.** Microorganismos que originan infecciones invasivas de quemaduras

<b>Categoría</b>	<b>Microorganismo</b>
Grampositivos	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Enterococcus</i> spp. Estafilococos coagulasa negativa
Gramnegativos	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Serratia marcescens</i> <i>Enterobacter</i> spp. <i>Proteus</i> spp. <i>Acinetobacter</i> spp. <i>Bacteroides</i> spp.
Hongos	<i>Candida</i> spp. <i>Aspergillus</i> spp. <i>Fusarium</i> spp. <i>Alternaria</i> spp. <i>Rhizopus</i> spp. <i>Mucor</i> spp.
Virus	Herpes simplex Citomegalovirus Varicella-zoster

*P. aeruginosa* y *S. aureus* son la principal causa de infección. La etiología varía entre distintos hospitales, por lo que es importante realizar estudios epidemiológicos para optimizar el tratamiento antimicrobiano y controlar las cepas multirresistentes en unidades críticas.

En los últimos años destaca el aumento de infecciones fúngicas en grandes quemados con inmunosupresión grave, producidas por *Candida* spp., *Aspergillus* spp., y otros hongos oportunistas (*Mucor* spp., *Fusarium* spp., *Rhizopus* spp). Estas infecciones se producen después de la segunda semana tras la lesión térmica. Las infecciones víricas, en especial por herpesvirus (herpes simplex, varicella-zoster y citomegalovirus) suelen ser autolimitadas y aparecen entre la segunda y la sexta semana tras la lesión térmica.

#### 4.5. INFECCIONES DE ÚLCERAS POR PRESIÓN Y DE OTRAS HERIDAS CRÓNICAS (ÚLCERAS VASCULARES VENOSAS)

**4.5.1. Definición.** Una úlcera es una lesión cutánea en la que hay una solución de continuidad en la piel con pérdida de sustancia. Se denomina úlcera por presión (UPP) a toda lesión de la piel originada por una presión mantenida sobre un plano o prominencia ósea, o por la fricción, cizallamiento o combinación de las mismas, causando una isquemia que provoca degeneración de dermis, epidermis, tejido subcutáneo, y que puede afectar incluso a músculo y hueso.

Las úlceras vasculares venosas se definen como lesiones con pérdida de sustancia que asientan sobre una piel dañada por una dermatitis secundaria a una hipertensión venosa, la cual constituye la complicación principal de la insuficiencia venosa crónica.

**4.5.2. Epidemiología.** Las UPP son una complicación habitual en los enfermos hospitalizados y suelen presentarse en enfermos graves y con estancias largas. Conllevan dolor, infección y aumento de la estancia y del coste hospitalario. La prevalencia en hospitales españoles (datos del año 2001) es de 8,8±10,2%. El 27% se localizan en el talón, el 26,7% en el sacro y el 17,8% en los trocánteres.

La infección es rara en las UPP de estadios I ó II (superficiales), pero mucho más frecuente en los estadios III ó IV (profundas). Debe considerarse que una UPP está infectada siempre que no se cure a pesar de haber eliminado la presión constante.

Las úlceras vasculares venosas representan entre el 80-90% del total de las úlceras vasculares. En España las presentan el 2,5% de los enfermos de atención primaria. La incidencia aumenta a partir de los 65 años (5,6%). En definitiva, entre 250.000 y 300.000 personas están afectadas por úlceras venosas en España.

**4.5.3. Patogenia.** Las UPP se producen a consecuencia del aplastamiento tisular entre dos planos, uno perteneciente al enfermo (hueso) y otro externo a él (sillón, cama, etc.). La presión sobre un área concreta desencadena un proceso isquémico que, si no se revierte a tiempo, origina la muerte celular y su necrosis. Es más importante la continuidad en la presión, incluso aunque sea moderada, que su intensidad. Otros factores predisponentes son la edad, la incontinencia (urinaria o fecal), la disminución de la sensibilidad, actividad y/o movilidad, el dolor, la presión arterial baja, el déficit nutricional y las cifras de hemoglobina baja.

En cuanto a las úlceras venosas, la hipertensión venosa mantenida produce:

- a) la apertura de los *shunts* arteriovenosos, con incremento de la permeabilidad vascular.

b) la extravasación de proteínas de alto peso molecular que actúan como una barrera que disminuye la oxigenación.

c) el acúmulo de leucocitos con fenómenos de trombosis local de las vénulas.

Alrededor de los vasos aparece una zona de hipoxia con un bajo contenido en nutrientes y factores de crecimiento, que provoca la falta de regeneración de los tejidos una vez que se pierde la capacidad protectora de la epidermis.

La infección de ambos tipos de heridas se produce tras la pérdida de la integridad de la piel, por mínima que sea, por las modificaciones inducidas por la hipoxia tisular y la contaminación desde áreas contiguas altamente colonizadas.

**4.5.4. Etiología.** La etiología de las infecciones de estos dos tipos de heridas (UPP y úlceras vasculares venosas) es polimicrobiana. *S. aureus* es el principal patógeno. No obstante, los anaerobios (*Peptostreptococcus* spp. y bacilos gramnegativos pigmentados y no pigmentados) juegan un papel importante. Representan el 30% de todos los microorganismos que colonizan estas heridas y, cuando hay síntomas de infección, se aíslan en el 41-49% de los casos. Al igual que ocurre en las infecciones agudas de piel y partes blandas, parece que las interacciones entre aerobios y anaerobios son más importantes en la patogenia de la infección que la presencia en sí de determinados microorganismos.

El diagnóstico de infección de una UPP o de una úlcera vascular venosa se basa únicamente en los signos clásicos (eritema, edema, aumento de la temperatura y dolor). Sin embargo, estos signos suelen existir en ausencia de infección, ya que son lesiones en un estado de inflamación crónica. Es más importante determinar si hay cualquier cambio, por muy sutil que sea, que indique infección (consultar el estudio Delphi de 2004 de la Sociedad Europea para el Tratamiento de las Heridas, EWMA; "Position Document: identifying criteria for wound infection").

## 4.6. INFECCIÓN DEL PIE DIABÉTICO

**4.6.1. Definición y clasificación.** Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), se define como "la existencia de ulceración, infección y/o destrucción de tejidos profundos asociada a alteraciones neurológicas y a enfermedad vascular periférica en los miembros inferiores, que se presenta en enfermos con diabetes mellitus".

Hay varias clasificaciones para definir la gravedad de la infección del pie diabético, aunque ninguna se ha aceptado de forma universal. Según la clasificación de Karchmer-Gibbson (1994) se distinguen:

- Infecciones leves: celulitis de menos de 2 cm. de extensión y úlceras superficiales (dermis y epidermis) que no representan un riesgo para la extremidad. Hay buena perfusión arterial, pocos signos inflamatorios y no hay complicaciones locales. Se tratan en régimen ambulatorio.
- Infecciones moderadas: celulitis más extensa y úlcera profunda, que pueden llegar a causar

osteomielitis. Representan una amenaza para la extremidad. Requieren ingreso hospitalario.

- Infecciones graves: celulitis masiva, abscesos profundos y fascitis necrosantes, que amenazan la vida del enfermo. Suelen asociarse a toxicidad sistémica (fiebre y/o leucocitosis) e inestabilidad metabólica (hiperglucemia, acidosis, azoemia). Requieren tratamiento rápido por vía intravenosa e ingreso hospitalario, ya que comprometen seriamente la vida del enfermo.

Sigue existiendo controversia sobre el diagnóstico y tratamiento de la osteomielitis del pie diabético. Suele ser una infección por contigüidad. Aparece en el 10-20% de los enfermos con infecciones leves o moderadas y en el 50-60% de los enfermos con infecciones graves. El diagnóstico es difícil, ya que se producen muchos cambios óseos destructivos durante la neuroartropatía diabética. La exteriorización ósea en la base de una ulceración tiene un valor predictivo positivo del 90% para el diagnóstico de osteomielitis. El diagnóstico etiológico requiere la identificación del microorganismo casual mediante la obtención de muestras óseas para estudios microbiológicos e histológicos.

**4.6.2. Epidemiología.** La OMS estima la prevalencia mundial de la diabetes mellitus ligeramente por encima del 2%. La mayoría de los casos son diabetes mellitus tipo II. En España, se calcula una tasa cercana al 6% (aproximadamente 2,5 millones de personas).

Hasta un 5% de estos pacientes tienen problemas relacionados con el pie. Según los datos de la Federación Internacional de Diabetes, 7 de cada 10 amputaciones de miembros inferiores se realizan en personas con diabetes. Se puede conseguir una reducción importante con una educación y control sanitario adecuados.

La incidencia de ulceraciones es del 6-16,5%, de las que un 15% requiere amputación. Las ulceraciones son más frecuentes en enfermos con un mal control de su enfermedad, deformidades en el pie, ausencia de pulso pedio o insensibilidad. La infección del pie es casi diez veces más frecuente en enfermos diabéticos que en no diabéticos y aumenta considerablemente el riesgo de amputación.

**4.6.3. Patogenia.** Los principales factores de riesgo para las ulceraciones y la infección son: la neuropatía periférica, motora, sensorial y de fibras autonómicas, que favorece la aparición de pequeñas heridas y que los microorganismos de la piel invadan el tejido subcutáneo, la insuficiencia arterial, que provoca isquemia tisular e impide la adecuada cicatrización de las heridas, y la hiperglucemia u otras alteraciones metabólicas, que producen disfunciones inmunológicas.

**4.6.4. Etiología.** Las infecciones agudas en enfermos sin tratamiento antibiótico previo suelen ser monomicrobianas y están causadas por cocos grampositivos aerobios (80-90%) (*S. aureus* y *Streptococcus*  $\beta$ -hemolíticos), mientras que las infecciones crónicas o de heridas profundas suelen ser polimicrobianas (90%), añadiéndose gramnegativos y anaerobios. En infecciones crónicas

es frecuente aislar entre 3 y 5 microorganismos diferentes en la misma muestra. La patogenicidad de cada uno de estos microorganismos es difícil de determinar.

Entre los bacilos gramnegativos predominan las enterobacterias, sobre todo *Proteus* spp. y *Escherichia coli*, mientras que entre los bacilos no fermentadores se aísla con más frecuencia *P. aeruginosa*, siendo considerada en algunos casos (por ejemplo, en las lesiones ulceradas tratadas con apósitos húmedos) como un posible contaminante. En cuanto a los anaerobios, si el procedimiento microbiológico es adecuado, se aíslan hasta en el 95% de las heridas del pie, sobre todo *Peptostreptococcus* spp., *Bacteroides* spp. y *Prevotella* spp.

Las alteraciones en la inmunidad local que existen en los tejidos isquémicos hacen que microorganismos de baja virulencia, como los estafilococos coagulasa negativos y los difteroides, puedan comportarse como patógenos.

En enfermos con tratamiento antibiótico reciente, hospitalización previa o que residen en unidades de cuidados crónicos, se aíslan con más frecuencia microorganismos multirresistentes. En los últimos años, como consecuencia del aumento en el uso de cefalosporinas (para tratamiento y para profilaxis en cirugía), se observa un mayor aislamiento de enterococos, aunque su papel patógeno sigue siendo discutido.

La presencia de hongos en las úlceras del pie diabético puede tener significado clínico, sobre todo cuando no se obtiene mejoría con un tratamiento antibiótico prolongado. En algunas series, *Candida* spp. y *Aspergillus* spp. representan el 4% del total de microorganismos aislados.

Los microorganismos que se aíslan en las distintas situaciones clínicas se recogen en la tabla 4.

**Tabla 4.** Etiología de la infección del pie diabético

Tipo de infección	Etiología	Frecuencia
<b>Infección leve (no complicada)</b> (celulitis, paroniquia, abscesos superficiales, úlceras crónicas con infección aguda)	Cocos grampositivos aerobios Bacilos gramnegativos aerobios Anaerobios	80-90% 10-20% <1%
<b>Infecciones moderadas/graves (complicadas)</b> (celulitis severa, fascitis necrosante, abscesos profundos y afección osteoarticular)	Polimicrobianas • Aerobios Bacterias grampositivas (proporción 2/3) Bacterias gramnegativas (proporción 1/3) • Anaerobios	99% 66% 33%

## 5. DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO DE LAS INFECCIONES DE PIEL Y PARTES BLANDAS

### 5.1. OBTENCIÓN DE LA MUESTRA

La dificultad que entraña la recogida de muestras de buena calidad para estudio microbiológico es un punto crítico. La muestra debe tomarse de una zona representativa de la infección y en cantidad adecuada y evitando, en lo posible, la contaminación con la microbiota normal.

#### 5.1.1. Consideraciones generales

- Se recomienda obtener la muestra antes de iniciar un tratamiento antibiótico empírico y únicamente de aquellas lesiones que presenten signos clínicos de infección, que se estén deteriorando o que no cicatricen después de un periodo de tiempo largo.
- La toma de muestras debe precederse de la limpieza y desinfección del área de la toma. En biopsias y heridas cerradas, se recomienda desinfectar la piel con clorhexidina al 2% o etanol de 70°, seguidamente "pintar" con povidona iodada al 10%, dejar secar y eliminar el yodo con etanol antes de tomar la muestra. En heridas abiertas, se recomienda eliminar el material necrótico y los tejidos desvitalizados y lavar "a chorro" con suero salino estéril.

- Se recomienda tomar muestra de tejido viable infectado y no de restos superficiales.
- La muestra de tejido o la obtenida por aspiración son las mejores desde el punto de vista microbiológico. Permiten realizar estudios cuantitativos, muy útiles a la hora de determinar el momento óptimo para realizar un injerto cutáneo o suturar una herida abierta.
- Aunque, en general, no se recomienda tomar muestras superficiales mediante torunda, es un método sencillo, barato, no invasivo y conveniente para la mayoría de las heridas abiertas. Se ha cuestionado en base a que la microbiología de la superficie de la herida puede no reflejar exactamente lo que ocurre en profundidad, y que pueden aislarse microorganismos de la microbiota comensal del individuo e incluso microorganismos patógenos que no participan en la infección. Sin embargo, dado que la mayoría de las heridas están colonizadas con microorganismos de origen endógeno, cualquier microorganismo presente en la profundidad de la herida es muy probable que también esté en la superficie. Además, estas muestras permiten un estudio semicuantitativo que es más fácil de realizar que los estudios

cuantitativos, y se ha demostrado que existe una buena correlación entre cultivos semicuantitativos de torundas y los cultivos cuantitativos de biopsias.

- Si la muestra se recoge con torunda, siempre que sea posible, se deben utilizar dos torundas para tomar la misma muestra; una se empleará para inocular los medios de cultivo y la otra para realizar la extensión para tinción de Gram. En caso de utilizar una sola torunda se inocularán primero los medios de cultivo y en último lugar se realizará la extensión para la tinción de Gram.
- Las muestras de trayectos fistulosos no representan la verdadera etiología en casos de osteomielitis subyacente y no se recomienda tomarlas.
- En enfermos con infección grave o repercusión sistémica se recomienda además extraer hemocultivos.
- Se deben utilizar contenedores apropiados para cada tipo de muestra.

#### 5.1.2. Obtención de la muestra tras la limpieza y desinfección

- Abscesos cerrados: se recomienda aspirar el pus con jeringa y aguja, preferiblemente a través de una zona de piel sana. Si así no se obtuviera una muestra, se puede inyectar suero salino estéril subcutáneo, y volver a aspirar. Una vez realizada la aspiración se debe expulsar el aire, tapando la aguja con una gasa estéril impregnada en alcohol para eliminar el riesgo de aerosoles. A continuación, se debe cambiar la aguja por otra estéril e inocular el contenido, previa desinfección del tapón de goma, en un vial de transporte para anaerobios. Alternativamente, se puede tapar el cono de la jeringa con un tapón, asegurarlo bien y enviar así la muestra al laboratorio.
- Heridas abiertas: con una torunda se debe muestrear un área de aproximadamente 1 cm<sup>2</sup> del tejido celular subcutáneo de los bordes de la herida o de la base de la lesión. No se debe frotar con fuerza para evitar el sangrado. En el caso de heridas muy secas, se recomienda impregnar la torunda con suero salino estéril antes de realizar la toma. Se recomienda que la torunda sea de alginato. Se enviará en un medio de transporte específico (por ejemplo, Amies/Stuart/medio de transporte para anaerobios).
- Pus: se recomienda aspirar el pus de la zona más profunda de la herida con jeringa y aguja. La muestra se inoculará en un vial de transporte para anaerobios, como en el caso de los abscesos cerrados.
- Tejidos obtenidos mediante curetaje y biopsias: se recomienda obtener suficiente muestra, evitando las zonas necróticas. Estas muestras pueden obtenerse mediante punción-aspiración con aguja fina o con cualquier dispositivo al efecto (por ejemplo, biopsia con sacabocados también llamada "punch"), o mediante procedimiento quirúrgico abierto. En

quemaduras, se recomienda realizar dos incisiones paralelas de unos 1-2 cm. de longitud separadas 1,5 cm.; luego, con un bisturí y pinzas estériles, se obtendrá una muestra lo suficientemente profunda como para llegar hasta el tejido viable. En determinadas heridas (como las quemaduras o las heridas crónicas) se recomienda recoger más de una muestra, de diferentes zonas de la herida, porque una única muestra puede no reflejar todos los microorganismos productores de la infección. Si los fragmentos son pequeños se inoculan en un sistema de transporte para anaerobios. Si son más grandes, se introducen en contenedores estériles sobre una gasa estéril humedecida en suero salino estéril para evitar su desecación. Las biopsias se deben fraccionar en dos mitades, una se enviará para estudios microbiológicos y la otra para estudio histológico.

#### 5.2. IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA, CUMPLIMENTACIÓN DE LA HOJA DE PETICIÓN Y TRANSPORTE AL LABORATORIO

Se debe recoger:

- información demográfica del enfermo
- fecha y la hora de la toma
- tratamiento antimicrobiano previo y con qué fármacos
- enfermedad de base (diabetes mellitus, insuficiencia vascular periférica, etc.)
- juicio clínico
- tipo de muestra (tejido profundo, muestra superficial, herida quirúrgica, mordedura, úlcera por presión, úlcera vascular, herida crónica, quemadura, etc.) y su localización anatómica
- determinaciones microbiológicas solicitadas (por ejemplo, cultivo, cultivo de anaerobios, cultivo de hongos, Gram, etc.).

La muestra se debe introducir en contenedores estériles con cierre hermético que sean apropiados a su tamaño y que permitan mantenerla en condiciones adecuadas de humedad. Siempre que se sospeche la presencia de anaerobios se recomienda enviar la muestra en sistemas de transporte específicos. Se deben enviar al laboratorio lo antes posible, preferiblemente en las 2 horas posteriores a la toma. Las muestras en medio de transporte específico pueden demorarse hasta 24 horas. Aunque según el tamaño de la muestra estas condiciones pueden cambiar, así, las muestras de pequeño tamaño no deben retrasarse más de 30 minutos, mientras que las de gran tamaño pueden procesarse hasta 24 horas después.

Mientras tanto, no se deben preincubar, ya que se favorece el sobrecrecimiento de unos microorganismos en detrimento de otros. Se mantendrán a temperatura ambiente, puesto que a bajas temperaturas (nevera) aumenta la difusión del oxígeno, lo que resulta perjudicial para los anaerobios. No obstante, algunos anaerobios tienen una cierta aerotolerancia.

Remitimos a los lectores al procedimiento microbiológico 1a de la SEIMC "Recogida, transporte

y procesamiento general de las muestras en el laboratorio de Microbiología” (PNT-RTP-01); en la tabla 3 de dicho procedimiento se resumen las condiciones para transporte y conservación de muestras; en las tablas 4 y 5 se resumen los sistemas de transporte para la investigación de microorganismos aerobios y anaerobios, respectivamente.

Criterios de rechazo: las discrepancias entre la identificación de la muestra y la identificación en el volante de petición será motivo de rechazo, aunque se debe consultar previamente con el clínico responsable de la solicitud; se rechazarán las muestras remitidas en formol o conservantes similares; se recomienda rechazar torundas sin medio de transporte cuando haya transcurrido más de 1 hora desde el momento de la toma; si la muestra es insuficiente para todas las determinaciones solicitadas, se contactará con el clínico para decidir cuáles son más importantes y, para las restantes, se indicará en el volante “muestra insuficiente”.

### 5.3. MEDIOS DE CULTIVO, REACTIVOS, PRODUCTOS

El laboratorio someterá a la muestra a un procesamiento en función de sus protocolos de trabajo y de la información que aporta el servicio solicitante sobre la muestra y el enfermo. Por tanto, el procesamiento dependerá de varios factores:

- Petición del servicio solicitante
- Tipo de muestra/técnica de obtención
- Diagnóstico del enfermo/enfermedad de base
- Motivo de petición
- Cualquier otra información aportada en el volante de la petición

La frecuencia de aislamiento de microbiota polimicrobiana en este tipo de muestras y la posibilidad de aislar microorganismos fastidiosos hace necesaria una buena elección de los medios de cultivo.

- Medios de cultivo: agar sangre, agar chocolate, agar MacConckey/agar CNA –optativos–, agar Saboureaud, agar Brucella / agar kanamicina-vancomicina / agar BBE.
- Caldos de enriquecimiento: caldo BHI, caldo TSB o caldo tioglicolato. Este último es el más indicado para el aislamiento de anaerobios. El empleo de caldo de enriquecimiento sólo está indicado en las muestras invasivas, en las que la carga bacteriana puede ser baja y las características de obtención de la muestra obligan a apurar al máximo las posibilidades diagnósticas. En las muestras no invasivas no parece aportar ventajas y tiene el inconveniente de permitir el crecimiento de los microorganismos contaminantes de ciclo vital más rápido, que no reflejan la situación real de la infección.
- Colorantes para tinción de Gram

Remitimos a los lectores al procedimiento microbiológico 1a de la SEIMC “Recogida, transporte y procesamiento general de las muestras en el

laboratorio de Microbiología” (PNT-RTP-01); en la tabla 7 se detallan los medios de cultivo y reactivos recomendados para el procesamiento de muestras.

### 5.4. PROCESAMIENTO DE LA MUESTRA

El trabajo con muestras biológicas y agentes biocontaminantes requiere, como norma general, la manipulación y procesamiento de las muestras dentro de dispositivos de seguridad biológica de tipo II, con lo que se minimiza el riesgo de contaminación tanto del manipulador como de la muestra.

Las muestras se inoculan sucesivamente en los medios de cultivo seleccionados comenzando por los medios sólidos (primero los medios para cultivo de anaerobios), seguidamente los caldos y finalmente se procede a la extensión sobre un portaobjetos para la tinción de Gram. En el caso de muestras remitidas con 2 torundas una de ellas se empleará para la inoculación de los medios y la otra para preparar la extensión sobre un porta para tinción de Gram.

**5.4.1. Pretratamiento de las muestras.** El pretratamiento de las muestras se recoge en la sección 7.2.1. del procedimiento microbiológico 1a de la SEIMC “Recogida, transporte y procesamiento general de las muestras en el laboratorio de Microbiología” (PNT-RTP-01). No obstante, deben señalarse los siguientes aspectos:

- Las muestras de gran tamaño no precisan trituración, se debe fraccionar la muestra con bisturí y realizar una impronta con el borde de la muestra recién cortado en los medios y posteriormente la extensión sobre porta. Las muestras muy pequeñas pueden inocularse directamente en el caldo de enriquecimiento.
- Las muestras de tejidos duros o adheridos a tejidos duros plantean más dificultades. Siempre que la muestra lo permita se procede a la homogenización o a la extracción de pequeños fragmentos de muestra, procesándose seguidamente como se ha descrito. En el caso de fragmentos óseos se inoculan directamente en caldo de enriquecimiento. Si hay fragmentos de tejidos blandos se procede a separarlos del tejido duro y procesarlos, de forma paralela, como otra muestra. La impronta para la extensión sobre porta de este tipo de muestras entraña ciertas dificultades, es recomendable incluir la muestra entre dos portas presionando y desplazando ambos entre sí hasta conseguir una extensión fina.
- Siempre que las condiciones de trabajo lo permitan las muestras se conservarán refrigeradas durante 7 días por si son necesarios estudios complementarios.

**5.4.2. Preparación de las extensiones e inoculación de la muestra en los medios de cultivo.** Las indicaciones respecto a este apartado se recogen en las secciones 7.2.2. y 7.2.3., respectivamente, del procedimiento microbiológico 1a de la SEIMC “Recogida, transporte y procesamiento general de las muestras en el laboratorio de Microbiología” (PNT-RTP-01). Interesa señalar los siguientes aspectos:

5.4.2.1. Cultivo de anaerobios a partir de torundas: existe cierta controversia acerca de la utilidad de la toma de muestras con torunda para el aislamiento de anaerobios. Algunos autores (Bowler, McConville), consideran necesario cultivar todas las muestras de heridas, aunque se recojan con torunda, para aislamiento de anaerobios, siempre y cuando la muestra se envíe en un sistema de transporte adecuado. En el caso de torundas, estos autores consideran que los medios de transporte habituales (como los de Amies/Stuart) son válidos si el envío al laboratorio no se retrasa.

5.4.2.2. Cultivo cualitativo. Se siembra la muestra sobre uno de los cuadrantes de cada placa; con un asa estéril, se realizan estrías desde la zona de descarga (cuadrante 1) por el resto de los cuadrantes de la placa (cuadrantes 2, 3 y 4), tal y como se describe en el procedimiento 3.3.1. “*Paratechnical processing of specimens for aerobic bacteriology*”, figura 3.3.1-1, de la segunda edición de “*Clinical Microbiology Procedures Handbook*” (2004, ASM Press, Washington). Se deben utilizar los siguientes medios de cultivo: agar para anaerobios, agar chocolate, agar sangre, agar MacConkey/CNA –optativos–, agar Saboureaud; en las muestras obtenidas mediante aspiración se debe añadir un caldo de enriquecimiento; por último, se preparará la extensión sobre un porta para tinción de Gram.

Las muestras de biopsias y tejidos se homogeneizarán previamente en 1-2 mL de caldo de enriquecimiento durante 30 segundos y se inoculará 0,1 mL del homogeneizado en los medios de cultivo (agar para anaerobios, agar chocolate, agar sangre, agar MacConkey/CNA –optativo–, agar Saboureaud), y en el caldo y posteriormente se realizará la extensión sobre porta para tinción de Gram. Las muestras de gran tamaño no precisan trituración, se debe fraccionar la muestra con bisturí, realizar una impronta con el borde de la muestra recién cortado en los diferentes medios y la extensión sobre porta para tinción de Gram. Las muestras muy pequeñas pueden inocularse directamente en el caldo de enriquecimiento.

5.4.2.3. Cultivo semicuantitativo. En *infecciones de heridas quirúrgicas* recogidas con torunda, la muestra se siembra como si se fuera a realizar un cultivo de orina para hacer un recuento cuantitativo (tal y como se describe en el procedimiento 3.12. “*Urine cultures*”, figura 3.12-1a, de la segunda edición de “*Clinical Microbiology Procedures Handbook*” (2004, ASM Press, Washington); es decir, se hace una estría de descarga a lo largo del diámetro de una placa de agar chocolate, que luego se extiende perpendicularmente sobre toda la superficie de la placa con un asa de siembra. Posteriormente se siembran el resto de medios (agar para anaerobios, agar sangre, agar MacConkey/CNA –optativos–, agar Saboureaud) con la misma técnica descrita para los cultivos cualitativos, y se prepara la extensión sobre un porta. Para el *resto de infecciones/resto de muestras*, las muestras se siembran para cultivo semicuantitativo con la misma

técnica que se ha descrito para los cultivos cualitativos, inoculando los 4 cuadrantes de una placa con medio de agar chocolate, y por último se prepara la extensión sobre un porta.

5.4.2.4. Cultivo cuantitativo. Se realiza con muestras de tejidos y biopsias. El cultivo cuantitativo de muestras de tejidos y biopsias se describe a continuación:

- Pesar el envase que contiene la muestra en una balanza de precisión.
- Sacar de forma aseptica la muestra e introducirla en 5 mL de suero salino estéril. Equivale a una dilución 1:5.
- Pesar de nuevo el envase vacío, se resta este peso del primero y así se obtiene el peso de la muestra.
- Homogeneizar la muestra durante 30 segundos.
- Inocular 0,1 mL del homogeneizado (dilución  $10^{-1}$ ) en los medios de cultivo. La extensión para la tinción de Gram se prepara a partir del homogeneizado: se extienden 0,01 mL (con un asa calibrada de 10  $\mu$ L) sobre un área del porta de 1 cm. de lado.
- Realizar 3 diluciones seriadas del homogeneizado (0,5 mL en 4,5 mL de suero salino estéril). Así se obtienen tres diluciones,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$  y  $10^{-4}$ .
- Alternativamente, se puede obtener una dilución  $10^{-3}$  sembrando con asa calibrada de 10  $\mu$ L a partir de la dilución  $10^{-1}$ ; y se puede obtener una dilución  $10^{-4}$  sembrando con asa calibrada de 1  $\mu$ L a partir de la dilución  $10^{-1}$ .
- Sembrar con pipeta estéril 0,1 mL de cada una de las diluciones en medios de agar chocolate y agar MacConkey (total 6 placas). Rotular cada placa con su dilución, como  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$  ó  $10^{-4}$ .
- Se pueden hacer cultivos cuantitativos para anaerobios, pero los resultados son peores porque las diluciones seriadas dificultan su crecimiento.

**5.4.3. Condiciones de incubación de los medios de cultivo.** Se recogen en la sección 7.2.4. del procedimiento microbiológico 1a de la SEIMC “Recogida, transporte y procesamiento general de las muestras en el laboratorio de Microbiología” (PNT-RTP-01).

## 5.5. VALORACIÓN DE LA TINCIÓN DE GRAM Y DE LOS MEDIOS DE CULTIVO.

Las placas y los caldos de cultivo se leen diariamente, salvo en el caso de las placas incubadas en anaerobiosis, cuya primera lectura no puede realizarse hasta pasadas un mínimo de 48 horas de incubación.

En los cultivos semicuantitativos y cuantitativos, el recuento de colonias se realiza a las 48 horas de incubación.

Los medios de cultivo para aerobios se incuban 48 horas cuando se trata de muestras no invasivas y al menos 4 días cuando se trata de muestras invasivas. Los medios de cultivo para anaerobios se incuban durante 7 días. En el caso de heridas de

mordeduras, se recomienda incubar las placas durante al menos 7-10 días, ya que algunos patógenos son de crecimiento más lento. Si se sospecha actinomycosis el tiempo de incubación debe ser mayor, generalmente entre 2 y 4 semanas.

Los caldos se incuban durante un mínimo de 4 días. Cuando se observa turbidez, se realiza un subcultivo a medios sólidos en las siguientes situaciones: a) si en las placas se aíslan <3 morfotipos bacterianos diferentes, se hace una tinción de Gram del caldo buscando morfotipos que no se hayan visualizado en las placas y, si se observan, entonces se subcultiva el caldo; los medios para realizar el subcultivo se eligen en función de lo observado en la tinción de Gram; b) si en las placas originales no se observa crecimiento; c) siempre que para el cultivo de la muestra sólo se haya inoculado caldo de enriquecimiento, como en el caso de fragmentos óseos.

Esta información se resume en la tabla 5. La valoración de la tinción de Gram y del crecimiento en los medios de cultivo se detalla a continuación y se resume en la tabla 6.

**5.5.1. Valoración microbiológica de los cultivos cualitativos:** se inicia con la evaluación de la tinción de Gram y, tras la incubación, se procede a la valoración de los aislamientos en los medios de cultivo.

**5.5.1.1. Valoración de la tinción de Gram**

La tinción de Gram se utiliza como un método de despistaje para evaluar la calidad de diferentes tipos de muestras clínicas, incluyendo muestras respiratorias, orina y muestras no invasivas de heridas. La base científica de esta tinción consiste en que la presencia de polimorfonucleares se considera indicativa de la existencia de inflamación o infección, y la de células epiteliales se considera indicativa de contaminación superficial de la muestra. Esta tinción también se puede utilizar para decidir cuántos

microorganismos se van a valorar en muestras con cultivos polimicrobianos. Además, la observación de determinados microorganismos puede indicar la realización de procedimientos especiales de trabajo (inoculación de la muestra en medios especiales, incubar los medios en determinadas condiciones o prolongar la incubación).

Como ya se ha comentado, los cultivos de heridas son difíciles de interpretar, sobre todo cuando son polimicrobianos y/o la muestra no se ha recogido mediante un procedimiento invasivo. La mayoría de los microbiólogos están de acuerdo en qué microorganismos se consideran patógenos en este tipo de cultivos, si bien existe diferencia de opiniones en cuanto a cómo valorar el aislamiento de más de dos ó tres de estos patógenos potenciales. Con el objetivo de desarrollar un método estandarizado y racional para la evaluación de este tipo de cultivos, Matkoski y cols. han aplicado dos protocolos que se utilizan de rutina en la evaluación de muestras de tracto respiratorio inferior, el índice Q (“Q score”) y el índice Q234, para evaluar cultivos de todo tipo de heridas. La Sociedad Americana de Microbiología, en el procedimiento 3.13.1. de cultivos de heridas y tejidos blandos “*Wound and soft tissue cultures*”, de la segunda edición de “*Clinical Microbiology Procedures Handbook*” (2004, ASM Press, Washington), recomienda realizar una tinción de Gram de todas estas muestras y evaluarla de manera muy similar a como se recomienda en el índice Q, por lo que recomendamos el índice Q y pasamos a describirlo a continuación.

Tras realizar la tinción de Gram, se determina el número de células epiteliales (puntúan negativamente) y de polimorfonucleares (puntúan positivamente) por campo de bajo aumento (“cba”; x10), y se calcula el índice Q con la ayuda de la tabla 7.

**Tabla 5.** Recomendaciones para la lectura de los medios de cultivo

Medios de cultivo	Primera lectura	Lectura diaria	Recuento	Tiempo de incubación	Subcultivo
<b>Aerobios</b>					
Muestras no invasivas	24 horas	Sí	48 horas	48 horas	---- <sup>1</sup>
Muestras invasivas	24 horas	Sí	48 horas	4 días	---- <sup>1</sup>
<b>Anaerobios</b>	48 horas	Sí	48 horas	5-7 días	---- <sup>1</sup>
<b>Caldo de enriquecimiento</b>	24 horas	Sí	----	4 días	---- <sup>2</sup>
<b>Situaciones especiales</b>					
Mordeduras	24 horas	Sí	48 horas	7-10 días	---- <sup>1</sup>
Actinomycosis	48 horas	Sí	----	2-4 semanas	---- <sup>1</sup>

<sup>1</sup>El microbiólogo debe valorar los subcultivo a otros medios y valorar los microorganismos

<sup>2</sup>Cuando se observe turbidez en el caldo, debe subcultivarse a medios sólidos:

- a) si en las placas se aíslan <3 morfotipos bacterianos diferentes, debe realizarse una tinción de Gram del caldo buscando morfotipos no observados en las placas, subcultivando en su caso el caldo. Las placas para el subcultivo se elegirán en función de lo observado en la tinción de Gram
- b) si en las placas originales no se observa crecimiento;
- c) siempre que para el cultivo de la muestra sólo se haya inoculado caldo de enriquecimiento, como en el caso de fragmentos óseos.

**Tabla 6.** Valoración de la tinción de Gram y del crecimiento en los medios de cultivo

Técnica diagnóstica	Procedimiento cualitativo		Procedimiento semicuantitativo		Procedimiento cuantitativo
	Muestras no invasivas	Muestras invasivas (biopsias y tejidos)	Herida quirúrgica y otras muestras		Muestras invasivas (biopsias y tejidos)
<b>Tinción de Gram</b>	<p>Índice Q: determina nº patógenos a evaluar (ID+AB<sup>1</sup>)<sup>2</sup></p> <p>Si nº aislados en cultivo &gt; Índice Q aplicar Índice Q</p> <p>Ej.: se aíslan 3 patógenos e índice Q es 2. Mirar cuántos patógenos se vieron en el Gram:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 1 ó 2: ID+AB</li> <li>• 3: identificación morfológica solamente (consultar texto)</li> </ul>	<p>Informar todos los morfotipos observados</p>	<p>La visualización de microorganismos se correlaciona con una carga bacteriana de <math>\geq 10^6</math> ufc/g (significativo)</p>		<p>Observar al menos 10 campos a 100X. La visualización de microorganismos se correlaciona con una carga bacteriana de <math>\geq 10^5</math> ufc/g (significativo)</p>
<b>Cultivo de aerobios</b>	<p><u>Se consideran patógenos:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Staphylococcus aureus</i></li> <li>• Estreptococos <math>\beta</math> hemolíticos</li> <li>• <i>Enterococcus</i> spp.</li> <li>• Bacilos gramnegativos</li> <li>• <i>Bacillus anthracis</i></li> </ul> <p><u>Se consideran contaminantes:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Difteroides</li> <li>• Estafilococos coagulasa negativa<sup>4</sup></li> <li>• <i>Neisseria</i> spp. no patógenas</li> <li>• Estreptococos <math>\alpha</math> y no hemolíticos<sup>4</sup></li> </ul>	<p>Si la toma se realiza sin contaminación superficial, ID+AB<sup>1</sup> de todos los microorganismos aislados</p>	<p>ID+AB<sup>1</sup> de los microorganismos que se aíslan en recuento de &gt;15 ufc*/placa (significativo)<sup>3</sup></p>	<p>ID+AB<sup>1</sup> de los microorganismos que se aíslan en los cuadrantes 3° y 4°, que se correlacionan con cargas bacterianas de <math>\geq 10^5</math> ufc*/g y <math>\geq 10^6</math> ufc*/g, respectivamente (significativo)<sup>3</sup></p>	<p>Hacer el recuento (n) en la placa en donde se aíslan entre 30-300 ufc de al menos un único morfotipo.</p> <p><u>Cálculos:</u></p> <p><math>n \times 5</math> (dilución original) x dilución placa / peso biopsia</p> <p><u>Valoración:</u></p> <p>Recuentos de <math>\geq 10^5</math> ufc*/g se consideran significativos (infección o ausencia de cicatrización del injerto)<sup>3</sup></p>
<b>Cultivo de anaerobios</b>	<p><u>Identificación morfológica de:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Peptostreptococcus</i> spp.</li> <li>• <i>Clostridium</i> spp.</li> <li>• Bacilos gramnegativos pigmentados y no pigmentados de los géneros <i>Bacteroides</i>, <i>Prevotella</i> y <i>Fusobacterium</i></li> </ul>	<p>Si la toma se realiza sin contaminación superficial, identificación morfológica de los microorganismos aislados</p>	<p>Identificación morfológica de los microorganismos que se aíslan en recuento significativo (el recuento se hace como para los microorganismos aerobios)</p>		

<sup>1</sup>ID: identificación a nivel de género y especie; AB: antibiograma

<sup>2</sup>Q1: se valora 1 patógeno; Q2: se valoran 2 patógenos; Q3: se valoran 3 patógenos

\* ufc: unidades formadoras de colonias

<sup>4</sup>Existen excepciones, consultar texto



**Tabla 7.** Cálculo del índice Q

Número de polimorfonucleares/cba	Número de células epiteliales/cba			
	0	-1	-2	-3
0	3	0	0	0
+1	3	0	0	0
+2	3	1	0	0
+3	3	2	1	0

Equivalencias: 0 = no se ven células; 1 = 1-9 células / campo de bajo aumento (cba);  
2 = 10-24 células / cba; 3 =  $\geq 25$  células / cba.

### 5.5.1.2. Valoración del cultivo

El índice Q es el número que se obtiene en la tabla, e indica el número de patógenos que se deben evaluar (identificación y antibiograma).

En este sistema se consideran potencialmente patógenos los siguientes microorganismos: *S. aureus*, estreptococos  $\beta$  hemolíticos, *Enterococcus* spp., bacilos gramnegativos y *B. anthracis*.

Se consideran microbiota habitual: difteroides, estafilococos coagulasa negativas, especies de *Neisseria* spp. no patógenas y estreptococos alfa- y no- hemolíticos. No obstante, existen excepciones, tal y como se ha mencionado anteriormente.

Cuando la muestra es de buena calidad (Q3), se identifican y se realiza antibiograma de hasta 3 microorganismos que se consideren patógenos potenciales. Cuando el índice es más bajo (por ejemplo, Q1 ó Q2), se identifican y se hace antibiograma a 1 ó 2 patógenos potenciales, respectivamente.

Si se aíslan más patógenos en el cultivo que el índice Q de la tinción de Gram (por ejemplo, 3 patógenos potenciales en el cultivo y Q2), prevalece el resultado de la tinción de Gram. Se comprueba cuántos patógenos se vieron en la tinción de Gram; si se vieron 1 ó 2, se identifican y se realiza antibiograma; si se vieron 3, sólo se identifican morfológicamente (a nivel de género y especie pero sin antibiograma), ya que este número (3) está por encima del índice Q, que en este caso es 2.

Para la identificación morfológica se emplearán las siguientes pruebas microbiológicas rápidas: tinción de Gram de la colonia, tipo de hemólisis en agar sangre, fermentación de la lactosa en agar MacConkey, oxidasa, catalasa, coagulasa, serogrupo de estreptococos con látex y pirrolidónil-arilamidasa (consultar el procedimiento 3.17.41. "PYR test", de la segunda edición de "Clinical Microbiology Procedures Handbook" (2004, ASM Press, Washington)).

En determinados casos, como cuando se aísle *S. aureus*, aunque sea de muestras contaminadas de mala calidad, puede determinarse la sensibilidad a oxacilina, si se considera necesario para el control de la infección nosocomial.

No se recomienda rechazar o no procesar ninguna muestra sin consultar previamente con el clínico responsable del paciente.

La identificación de los anaerobios se hará sólo a nivel de morfotipos bacterianos, según la tinción de Gram, en *Peptostreptococcus* spp., *Clostridium* spp.

y bacilos gramnegativos pigmentados o no de los géneros *Bacteroides*, *Prevotella* y *Fusobacterium*. Es importante recordar que muchos anaerobios grampositivos se convierten en gram-variables tras la exposición al oxígeno. Con la excepción de *Clostridium perfringens*, el aislamiento de anaerobios se suele informar como "flora mixta aerobia-anaerobia". La identificación a nivel de género y especie se reserva para los aerobios.

En el caso de muestras invasivas (biopsias y tejidos), cuando se procesan de manera cualitativa, y siempre que la toma se haya realizado de manera correcta sin contaminación superficial, se informan todos los morfotipos observados en la tinción de Gram y se valoran (identificación y antibiograma) todos los microorganismos aislados.

**5.5.2. Valoración microbiológica de los cultivos semicuantitativos.** También se inicia con la evaluación de la tinción de Gram y, tras la incubación, se procede a la valoración de los aislamientos en los medios de cultivo.

#### 5.5.2.1. Valoración de la tinción de Gram

La visualización de microorganismos en la tinción de Gram de muestras obtenidas con torunda se correlaciona con una carga bacteriana en el cultivo de  $\geq 10^6$  unidades formadoras de colonias (ufc)/g.

#### 5.5.2.2. Valoración del cultivo

El recuento semicuantitativo de una herida quirúrgica se interpreta de la misma manera que los cultivos semicuantitativos de catéteres sembrados por la técnica de Maki. Recuentos de  $>15$  ufc/placa de un mismo microorganismo son diagnósticos de infección por ese microorganismo, y permiten detectar qué microorganismos son responsables de la infección (porque superan el dintel) y cuáles son meros colonizadores (porque no lo alcanzan). Se valoran (identificación y antibiograma) únicamente los microorganismos que se recuperen en recuento significativo.

La interpretación de los cultivos semicuantitativos del resto de muestras realizados por el método de los 4 cuadrantes, se hace de la siguiente manera (Herruzo y cols.): si se observa crecimiento en el primer cuadrante, se correlaciona con un recuento de  $\geq 10^3$  ufc/g; si se observa crecimiento en el segundo cuadrante, se correlaciona con un recuento de  $\geq 10^4$  ufc/g; si se observa crecimiento en el tercer cuadrante, se correlaciona con un recuento

**Tabla 8.** Tipo de procesamiento recomendado para cada tipo de infección (consultar texto)

Infección	Tipo de muestra	Cultivo cualitativo		Cultivo semicuantitativo		Cultivo cuantitativo	
		Gram	Cultivo	Gram	Cultivo	Gram	Cultivo
Herida quirúrgica	Superficial			X	X		
	Invasiva	X	X	X	X	X	X
Heridas agudas	Superficial	X	X	X	X		
	Invasiva	X	X	X	X		
Heridas crónicas –UPP <sup>1</sup> , úlceras vasculares–	Superficial	X	X	X	X		
	Invasiva	X	X	X	X	X	X
Quemaduras	Superficial	X	X	X	X		
	Invasiva					X	X
Pie diabético	Superficial	X	X				
	Invasiva	X	X				

<sup>1</sup>UPP: úlceras por presión

Cada laboratorio elegirá las técnicas microbiológicas a aplicar en cada muestra en función de sus disponibilidades

de  $\geq 10^5$  ufc/g, y, por último, si se observa crecimiento en el cuarto cuadrante, se correlaciona con un recuento de  $\geq 10^6$  ufc/g. Se valoran (identificación y antibiograma) únicamente los microorganismos que se recuperen en recuento significativo.

En ambos casos, los anaerobios se identifican sólo a nivel de morfotipos bacterianos, como hemos mencionado anteriormente.

### 5.5.3. Valoración microbiológica de los cultivos cuantitativos

La valoración microbiológica de los cultivos cuantitativos de muestras invasivas (biopsias y tejidos) se inicia, igualmente, con la evaluación de la tinción de Gram y, tras la incubación, se procede a la valoración de los aislamientos en los medios de cultivo.

#### 5.5.3.1. Valoración de la tinción de Gram

En la tinción de Gram del homogeneizado de la muestra, se recomienda examinar al menos 10 campos con objetivo de gran aumento (100X). La visualización de microorganismos se correlaciona con una carga bacteriana en el tejido de  $\geq 10^5$  ufc/g.

#### 5.5.3.2. Valoración del cultivo

El recuento cuantitativo se obtiene a partir de la placa de recuento en la que se observe un crecimiento de entre 30 y 300 colonias de, al menos, un único morfotipo. Para realizar el recuento bacteriano, hay que observar en qué dilución de las sembradas se corresponde con un crecimiento de colonias entre 30 y 300. Para obtener el recuento de microorganismos por gramo de tejido se hace el siguiente cálculo:

$$\text{UFC (g)} = \frac{n \text{ colonias} \times 5 \text{ (dilución original homogeneizado)} \times \text{dilución placa}}{\text{peso biopsia}}$$

Ejemplo para un peso de biopsia de 0,3 g y un recuento de 50 colonias (n) en la placa de la dilución 1:1000

$$\text{UFC (g)} = \frac{50 \times 5 \times 10^3}{0,3} = 8,3 \times 10^5 \text{ UFC /g}$$

El tipo de procesamiento de la muestra varía en función del tipo de herida que se esté evaluando. Cada laboratorio elegirá las técnicas microbiológicas a aplicar en cada muestra en función de sus disponibilidades. Como orientación, se resumen las recomendaciones recogidas en los diferentes PNT de este procedimiento en la tabla 8.

## 6. INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Los cultivos cualitativos evalúan la microbiota presente en las heridas con infección clínica o que no cicatrizan adecuadamente. Proveen información sobre la diversidad de cepas existentes y sobre la posibilidad de sinergia entre ellas. Se ha visto que la presencia de microbiota polimicrobiana en una

herida tiene más importancia en sí que la presencia de un determinado patógeno, ya que esta microbiota mixta aerobia-anaerobia determina el desarrollo de sinergia entre los distintos microorganismos, lo que facilita el desarrollo de la infección.

Los cultivos semicuantitativos y cuantitativos ofrecen información acerca de la densidad o carga bacteriana de la herida. Si se asume que la microbiología de una herida, en términos cualitativos, permanece constante, se ha visto que la probabilidad de infección aumenta a medida que la carga bacteriana aumenta, hasta un dintel crítico en el que muchos autores consideran que la infección o la ausencia de cicatrización son inevitables.

## 6.1. TINCIÓN DE GRAM

Los resultados de la tinción, especialmente cuando la muestra se considera crítica, se deben informar con celeridad.

La observación de microorganismos intraleucocitarios es patognomónica de infección por dichos microorganismos.

El índice Q se puede aplicar a todo tipo de heridas abiertas, ya que ha demostrado que permite estandarizar y optimizar el procesamiento de muestras de todo tipo de heridas.

La presencia de microorganismos en la extensión de Gram de las muestras recogidas para cultivo semicuantitativo o cuantitativo se debe informar, ya que se correlacionan con recuentos bacterianos significativos, como hemos comentado anteriormente.

## 6.2. CULTIVO

Cualquier aislamiento que pueda tener significado clínico y pueda reconducir la actitud terapéutica frente al enfermo debe ser informado con la mayor celeridad posible mediante informes provisionales.

Los *cultivos cualitativos* se evalúan según el índice Q, como se ha descrito anteriormente. En muestras de buena calidad, cuando los microorganismos observados en la tinción de Gram concuerdan con los aislados en el cultivo, se valora el aislamiento de hasta 3 patógenos potenciales, a los que se les realiza identificación a nivel de género y especie y determinación de la sensibilidad a los antimicrobianos.

Se valora *siempre* el crecimiento de microorganismos considerados esencialmente patógenos como *S. aureus*, *Streptococcus*  $\beta$ -hemolíticos y *P. aeruginosa*, independiente del índice Q. Se recomienda investigar también los microorganismos que crecen en agar chocolate pero no en agar sangre.

El aislamiento de enterobacterias y de otros bacilos gramnegativos no fermentadores se considera significativo cuando se aísla un número de especies  $\leq 3$ , y siempre que la tinción de Gram indique que la muestra es de buena calidad (índice Q). Cuando se aíslan en número  $>3$  y además el índice Q es inferior, se identifican morfológicamente y se informan como flora mixta gramnegativa. Tienen valor los aislados de enteropatógenos como *Salmonella* sp., *Shigella* spp., *Yersinia* spp. y *Campylobacter* spp. Entre los microorganismos oxidasa positivos son valorables los aislados de *Aeromonas* spp., *Plesiomonas* spp., *Vibrio* spp. y los pigmentados *Chromobacterium violaceum* y *Sphingobacterium* spp.

El aislamiento de estafilococos coagulasa negativa tiene valor microbiológico en aquellas muestras en las que se aíslan en cultivo puro, especialmente en muestras invasivas cuando la tinción de Gram es sugestiva de su presencia, en muestras significativas (por ejemplo, esternotomía) o asociadas a implantes de materiales protésicos y en muestras de enfermos con compromiso del sistema inmune.

El aislamiento de *Streptococcus* del grupo *viridans* y de *Enterococcus* spp. se considera significativo cuando se aíslan de muestras invasivas en cultivo puro o claramente predominante y la tinción de Gram sugiere su implicación.

Los bacilos grampositivos tienen valor si se aíslan en muestras de localizaciones anatómicas habitualmente estériles o en muestras invasivas. Se recomienda investigar la presencia de *Listeria* sp., *Erysipelothrix rhusiopathiae*, *Bacillus cereus*, *B. anthracis*, *Arcanobacterium* sp., *Actinomices* spp., *Corynebacterium jeikeium* (cuando se aísla de la puerta de entrada de un catéter central), *Corynebacterium ulcerans* y *Nocardia* spp.

Son valorables los aislamientos de bacilos gramnegativos fastidiosos: *Brucella* spp., *Haemophilus* spp., *Pasteurella* spp., *Francisella* spp., etc. y que presentan como característica que crecen en agar sangre y agar chocolate y no crecen en agar MacConkey. Estos microorganismos son frecuentes en muestras de mordeduras.

El aislamiento de levaduras inicialmente se considera como microbiota comensal. Se valora sólo en los casos en que se aíslan en cultivo puro o claramente predominante y en las muestras de localizaciones anatómicas habitualmente estériles.

Como ya se ha mencionado, la identificación de los anaerobios se hará sólo a nivel de morfotipos bacterianos, según el resultado de la tinción de Gram. El aislamiento de anaerobios se suele informar como "microbiota mixta aerobia-anaerobia", con la excepción de *C. perfringens*. La identificación a nivel de género y especie y la determinación de la sensibilidad a los antimicrobianos se reserva para los aerobios.

En cuanto a los *cultivos semicuantitativos* y *cuantitativos*, numerosos estudios han demostrado que recuentos bacterianos superiores a  $10^5$  ufc por gramo de tejido en una herida (tanto aguda como crónica) son predictores de infección o de ausencia de cicatrización en caso de injerto. Se valoran (identificación y antibiograma) los microorganismos que superen este dintel. La excepción a esta norma son *S. aureus*, *P. aeruginosa* y los estreptococos  $\beta$  hemolíticos, que se valorarán siempre (identificación y antibiograma) aunque no lo superen. Los anaerobios que se aíslan en recuento significativo se identifican sólo a nivel de morfotipos bacterianos, como se ha comentado previamente.

El laboratorio debe ser estricto en la valoración microbiológica de los aislados ya que si se emite un informe con el aislamiento (identificación) y determinación de la sensibilidad a los antimicrobianos de uno o más microorganismos, se interpretará como diagnóstico de infección, lo que puede provocar que se administre tratamiento antimicrobiano innecesariamente.

Los cultivos sin aislamientos se informan como "No se aíslan microorganismos".

## 7. SITUACIONES ESPECIALES

### 7.1. QUEMADURAS

Un caso especial lo constituyen las quemaduras. Como ya se ha comentado, se recomienda recoger más de una muestra, de diferentes zonas de la quemadura, porque una única muestra puede no reflejar todos los microorganismos productores de infección.

Es imprescindible evidenciar la presencia de signos clínicos de infección de la quemadura antes de valorar los resultados obtenidos. En ausencia de infección clínica, la presencia de microorganismos en muestras superficiales indica en la mayoría de los casos colonización de la quemadura con flora de la piel. No se deben tomar muestras en estos casos, a no ser que sea como parte de un protocolo de vigilancia de la infección.

Para el diagnóstico de infección, no sólo hace falta hacer un cultivo cuantitativo de la quemadura, sino que además es necesaria la valoración histológica de la misma. La combinación de ambos estudios es la técnica de referencia o “*gold standard*” para el diagnóstico de infección. Se confirma la presencia de infección invasiva de la quemadura cuando se aíslan más de  $10^5$  UFC/g de bacterias, y mediante histología se confirma la presencia de microorganismos en la dermis por debajo de la escara y alrededor de los tejidos sanos adyacentes.

Los cultivos superficiales de la quemadura, al ser fáciles de obtener, se realizan de forma habitual en la mayoría de las unidades de quemados. El objetivo es realizar una estrecha vigilancia de la quemadura para detectar los microorganismos antes de que se produzca la invasión de la misma. Pueden sembrarse de manera cualitativa o semicuantitativa. Para algunos autores, la correlación entre los cultivos semicuantitativos y los obtenidos mediante biopsia no es del todo buena; globalmente, es del 52% y sólo cuando se aíslan *S. aureus* o *A. baumannii* supera el 60% (Danilla y cols.). Para otros, sin embargo, la correlación entre los resultados de cultivos superficiales semicuantitativos y de cultivos cuantitativos es excelente (Levine y cols., Lawrence y cols., Vindenes y cols.).

### 7.2. PIE DIABÉTICO

No se deben tomar muestras de las lesiones que no presenten signos clínicos de infección, a no ser que sea como parte de un protocolo de vigilancia de la infección.

Se recomienda tomar las muestras para cultivo antes de iniciar el tratamiento antibiótico empírico. Cuando la infección sea leve y se hayan administrado antibióticos previamente, los cultivos pueden ser innecesarios.

Como se indicó anteriormente, también en estos enfermos se recomienda recoger más de una muestra, de diferentes zonas de la herida, porque una única muestra puede no reflejar todos los microorganismos productores de infección. Se recomienda limpiar bien y realizar el desbridamiento de la lesión antes de tomar la muestra.

Se debe evitar tomar muestras superficiales mediante torunda. Estas muestras están contaminadas con microbiota colonizadora e incluso con microorganismos potencialmente patógenos que no participan en la infección, y no reflejan toda la microbiota que produce infección en la profundidad de la herida. Las muestras deben obtenerse mediante el curetaje de lesiones profundas (raspado del tejido de la base de la úlcera, después del desbridamiento, con hoja de bisturí estéril) y la toma de biopsia de los tejidos desbridados (muy útil en caso de osteomielitis). Muchas veces, por la neuropatía sensitiva que presentan estos enfermos, la toma de biopsia no requiere anestesia. La toma de biopsias no se asocia con complicaciones (por ejemplo, empeoramiento de la circulación, fracturas, infección de hueso).

Cuando haya un absceso también se puede aspirar el pus con jeringa, preferentemente a través de una zona de piel sana.

Las muestras de trayectos fistulosos no representan la verdadera etiología en casos de osteomielitis subyacente.

En enfermos con infección grave o repercusión sistémica se recomienda extraer hemocultivos.

La validez de la tinción de Gram a la hora de establecer qué patógenos pueden ser los responsables de la infección del pie diabético es discutible. En estas infecciones, por la complejidad del ecosistema microbiano, con participación de aerobios y anaerobios, existe una correlación mala entre la tinción de Gram y los resultados del cultivo en el caso de biopsias de tejidos profundos (abscesos, fascitis). No obstante, la presencia combinada de leucocitos y microorganismos es un buen indicador de infección.

En estos enfermos, el aislamiento de *P. aeruginosa* puede representar únicamente colonización superficial de la herida, excepto en el caso de osteomielitis o afección del calcáneo.

No se recomienda el cultivo cuantitativo de las muestras del pie diabético.

## 8. INFORMACIÓN DE RESULTADOS

Se recomienda identificar y determinar la sensibilidad a los antimicrobianos de todos los aislados con valor microbiológico.

Cuando se aíslan más de 3 microorganismos potencialmente patógenos y sólo se identifican morfológicamente los que previamente no se han observado en la tinción de Gram, se recomienda incluir la siguiente observación en el informe: “Se han aislado varios microorganismos potencialmente patógenos. La correlación entre lo observado en la tinción de Gram y los resultados del cultivo no permite asignar un papel patógeno claro a ninguno de los aislados. Estos aislados pueden representar colonización o contaminación”.

Los cultivos en los que se aísla microbiota comensal del área anatómica se informa como “microbiota comensal o microbiota saprofita de...”.

Los cultivos sin aislamientos se informan como “no se aíslan microorganismos”.

## 9. BIBLIOGRAFÍA

### 9.1 GENERAL

1. Bowler PG. The 10(5) bacterial growth guideline: reassessing its clinical relevance in wound healing. *Ostomy Wound Manage* 2003; 49:44-53.
2. Bowler PG, Davies BJ. The microbiology of acute and chronic wounds. *Wounds* 1999; 11:72-79.
3. Bowler PG, Duerden BI, Armstrong DG. Wound microbiology and associated approaches to wound management. *Clin Microbiol Rev* 2001; 14:244-269.
4. Collection, transport and manipulation of clinical specimens and initial laboratory concerns. *Clinical Microbiology Procedures Handbook*. Isenberg HD (Ed). ASM Press. Washington D.C. 2004. P. 2.1.1.-2.1.27.
5. Doern GV, Jones RN, Pfaller MA, Kugler KC, Beach ML. Bacterial pathogens isolated from patients with skin and soft tissue infections: frequency of occurrence and antimicrobial susceptibility patterns from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (United States and Canada, 1997). *SENTRY Study Group (North America)*. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1999; 34:65-72.
6. Duvanel T, Auckenthaler R, Rohner P, Harms M, Saurat JH. Quantitative cultures of biopsy specimens from cutaneous cellulitis. *Arch Intern Med* 1989; 149:293-296.
7. European Wound Management Association (EWMA). Position Document: Identifying criteria for wound infection. London: MEP Ltd, 2005. <http://www.ewma.org>; publications; position papers & conference proceedings.
8. Fernández-Viladrich P, García-Lechuz JM, Riera Jaime M. Guía de recomendaciones para el diagnóstico y tratamiento de las infecciones asociadas a biomateriales. Editores: Aguado JM, Fortún J. Coordinador Ariza Cardenal, J. En "Guías Clínicas SEIMC 2006", [www.seimc.org](http://www.seimc.org)
9. Guerrero Gómez C, Sánchez Carrillo C. Recogida, transporte y procesamiento general de las muestras en el laboratorio de microbiología. 2003. *Procedimientos en Microbiología Clínica 1a*. Editores: Cercenado E y Cantón R. Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica.
10. Gram stain. *Clinical Microbiology Procedures Handbook*. Isenberg HD (Ed). ASM Press. Washington D.C. 2004. P. 3.2.1.1.-3.2.1.21.
11. Herruzo-Cabrera R, Vizcaino-Alcaide MJ, Pinedo-Castillo C, Rey-Calero J. Diagnosis of local infection of a burn by semiquantitative culture of the eschar surface. *J Burn Care Rehabil* 1992; 13: 639-641.
12. Hook EW 3rd, Hooton TM, Horton CA, Coyle MB, Ramsey PG, Turck M. Microbiologic evaluation of cutaneous cellulitis in adults. *Arch Intern Med* 1986; 146:295-297.
13. Howe PM, Eduardo Fajardo J, Orcutt MA. Etiologic diagnosis of cellulitis: comparison of aspirates obtained from the leading edge and the point of maximal inflammation. *Pediatr Infect Dis J* 1987; 6:685-686.
14. Kielhofner MA, Brown B, Dall L. Influence of underlying disease process on the utility of cellulitis needle aspirates. *Arch Intern Med* 1988; 148:2451-2452.
15. Levine NS, Lindberg RB, Mason AD Jr, Pruitt BA Jr. The quantitative swab culture and smear: A quick, simple method for determining the number of viable aerobic bacteria on open wounds. *Trauma* 1976; 16: 89-94.
16. Matkoski C, Sharp SE, Kiska DL. Evaluation of the Q score and Q234 systems for cost-effective and clinically relevant interpretation of wound cultures. *J Clin Microbiol* 2006; 44:1869-1872.
17. McConville JH, Timmons RF, Hansen SL. Comparison of three transport systems for recovery of aerobes and anaerobes from wounds. *Am J Clin Pathol* 1979; 72:968-971.
18. McGuckin M, Goldman R, Bolton L, Salcido R. The clinical relevance of microbiology in acute and chronic wounds. *Adv Skin Wound Care* 2003; 16:12-23.
19. Paratechnical processing of specimens for aerobic bacteriology. *Clinical Microbiology Procedures Handbook*. Isenberg HD (Ed). ASM Press. Washington D.C. 2004. P. 3.3.1.
20. PYR (L-pyrrolidonyl- $\beta$ -naphthylamide) test. *Clinical Microbiology Procedures Handbook*. Isenberg HD (Ed). ASM Press. Washington D.C. 2004. P. 3.17.41.1.-3.17.41.3.
21. Quantitative cultures of wound tissues. *Clinical Microbiology Procedures Handbook*. Isenberg HD (Ed). ASM Press. Washington D.C. 2004. P. 3.13.2.1.-3.13.2.4.
22. Rennie RP, Jones RN, Mutnick AH; SENTRY Program Study Group (North America). Occurrence and antimicrobial susceptibility patterns of pathogens isolated from skin and soft tissue infections: report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (United States and Canada, 2000). *Diagn Microbiol Infect Dis* 2003; 45:287-293.
23. Sachs MK. The optimum use of needle aspiration in the bacteriologic diagnosis of cellulitis in adults. *Arch Intern Med* 1990; 150:1907-1912.
24. Sharp SE, Robinson A, Saubolle M, Santa Cruz M, Carroll K, Baselski V. 2004. Cumitech 7A, Lower respiratory tract infections. Coordinating ed., SE Sharp. ASM Press, Washington, D.C.
25. Sigurdsson AF, Gudmundsson S. The etiology of bacterial cellulitis as determined by fine-needle aspiration. *Scand J Infect Dis* 1989; 21:537-542.
26. Simor AE, Roberts FJ, Smith JA. 1988. Cumitech 23, Infections of the skin and subcutaneous tissues. Coordinating ed., JA Smith. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
27. Stevens DL, Bisno AL, Chambers HF, Everett ED, Dellinger P, Goldstein EJ, Gorbach SL, Hirschmann JV, Kaplan EL, Montoya JG, Wade JC. Practice guidelines for the diagnosis and management of skin and soft-tissue infections. *Clin Infect Dis* 2005 15; 41:1373-406.
28. Urine cultures. *Clinical Microbiology Procedures Handbook*. Isenberg HD (Ed). ASM Press. Washington D.C. 2004. P. 3.12.
29. Wound and soft tissue cultures. *Clinical Microbiology Procedures Handbook*. Isenberg HD (Ed). ASM Press. Washington D.C. 2004. P. 3.13.1.1.-3.13.1.16.

### 9.2. HERIDA QUIRURGICA

1. Bornside GH, Bornside BB. Comparison between moist swab and tissue biopsy methods for quantitation of bacteria in experimental incisional wounds. *J Trauma* 1979; 19: 103-105.
2. Bouza E, Burillo A, Munoz P, Cercenado E, Rodriguez-Creixems M. Semiquantitative culture of open surgical wounds for diagnosis of surgical site infection. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2004; 23:119-122.

3. Herrera Hernandez MF, Romero Zarate G, Sifuentes Osornio J. Bacterial count as an infection prognostic factor in the delayed primary closure of abdominal surgical wounds. *Rev Invest Clin* 1991; 43:329-333.
4. Johnson JA, Gall WE, Gundersen AE, Cogbill TH. Delayed primary closure after sternal wound infection. *Ann Thorac Surg* 1989; 47:270-273.
5. Mangram AJ, Horan TC, Pearson ML, Silver LC, Jarvis WR. Guideline for Prevention of Surgical Site Infection, 1999. Centers for Disease Control and Prevention (CDC) Hospital Infection Control Practices Advisory Committee. *Am J Infect Control* 1999; 27:97-132.
6. Olson MM, Lee JT Jr. Continuous, 10-year wound infection surveillance. Results, advantages, and unanswered questions. *Arch Surg*, 1990; 125:794-803.
2. Danilla S, Andrades P, Gomez ME, Chamorro M, Leniz P, Piñeros JL et al. Concordance between qualitative and quantitative cultures in burned patients. Analysis of 2886 cultures. *Burns* 2005; 31:967-971.
3. Edwards-Jones V, Greenwood JE. What's new in burn microbiology? James Laing Memorial Prize Essay 2000. *Burns* 2003; 29:15-24.
4. Elsayed S, Gregson DB, Lloyd T, Crichton M, Church DL. Utility of gram stain for the microbiological analysis of burn wound surfaces. *Arch Pathol Lab Med* 2003; 127:1485-1488.
5. Erol S, Altoparlak U, Akcay N, Celebi F, Parlak M. Changes of microbial flora and wound colonization in burned patients. *Burns* 2004; 30:357-361.

### 9.3 MORDEDURAS

1. Bowder MG. Managing dog, cat and human bite wounds. *Nurse Pract* 2001; 26: 36-47.
2. Fleisher GR. The management of bite wounds. *N Engl J Med* 1999; 340: 138-140.
3. Goldstein E. Bite wounds and infection. *CID* 1992; 14:633-40.
4. Talan DA, Citron DM, Abrahamian FM, Moran GJ, Goldstein EJC, for the Emergency Medicine Animal Bite Infection Study Group. Bacteriologic analysis of infected dog and cat bites. *N Engl J Med* 1999; 340:85-92.
5. Taplitz RA. Managing bite wounds. *Postgrad Med* 2004, 116: 49-52, 55-56, 59.

### 9.4 ÚLCERAS CRONICAS

1. Bergstrom NI. Strategies for preventing pressure ulcers. *Clin Geriatr Med* 1997; 13:437-454.
2. Borra Bou JE, Rueda López J, Soldevilla Agreda JJ, Martínez Cuervo F, Verdú Soriano, J. Primer estudio nacional de prevalencia de úlceras por presión en España: epidemiología y variables definitorias de las lesiones y enfermos. *Gerokomos* 2003; 14:37-47.
3. Breidenbach WC, Trager S. Quantitative culture technique and infection in complex wounds of the extremities closed with free flaps. *Plast Reconstr Surg* 1995; 95:860-865.
4. Dow G. Bacterial swabs and the chronic wound: when, how, and what do they mean? *Ostomy Wound Manage* 2003; 49 (5A Suppl):8-13.
5. Majewski W, Cybulski Z, Napierala M, Pukacki F, Staniszewski R, Pietkiewicz K et al. The value of quantitative bacteriological investigations in the monitoring of treatment of ischaemic ulcerations of lower legs. *Int Angiol* 1995; 14:381-384.
6. Pi Guerrero M, Prieto Saez MD, Rodríguez Hebra I, Martínez Arce MJ. Factores de riesgo de úlceras por presión en una UCI. 1997. Hospital de la Cruz Roja de Barcelona. <http://www.ulceras.net>
7. Sapico F, Ginunas V, Thornhill-Joynes M, Canawati H, Capen D, Klein N et al. Quantitative microbiology of pressure sores in different stages of healing. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1986; 5:31-38.
8. Sibbald RG, Orsted H, Schultz GS, Coutts P, Keast D, International Wound Bed Preparation Advisory Board, Canadian Chronic Wound Advisory Board. Preparing the wound bed 2003: focus on infection and inflammation. *Ostomy Wound Manage* 2003; 49:23-51.

### 9.5 QUEMADURAS

1. Church D, Elsayed S, Reid O, Winston B, Lindsay R. Burn wound infections. *Clin Microbiol Rev* 2006; 19:403-434.

### 9.6 INFECCION DEL PIE DIABETICO

1. Cunha BA. Antibiotic selection for diabetic foot infections: a review. *J Foot Ankle Surg* 2000; 39:253-257.
2. Embil JM, Trepman E. Microbiological evaluation of diabetic foot osteomyelitis. *Clin Infect Dis* 2006; 42:63-65.
3. Ge Y, MacDonald D, Hait H, Lipsky B, Zasloff M, Holroyd K. Microbiological profile of infected diabetic foot ulcers. *Diabet Med* 2002; 19:1032-1034.
4. Karchmer AW, Gibbons GW. Foot infections in diabetes: evaluation and management. *Curr Clin Topics Inf Dis* 1994; 14:1-22.
5. Hartemann-Heurtier A, Robert J, Jacqueminet S, Ha Van G, Golmard JL, Jarlier V et al. Diabetic foot ulcer and multidrug-resistant organisms: risk factors and impact. *Diabet Med* 2004; 21: 710-715.
6. Lipsky BA. A report from the international consensus on diagnosing and treating the infected diabetic foot. *Diabetes Metab Res Rev* 2004; 20 (Suppl 1):S68-S77.
7. Lipsky BA, Berendt AR, Deery HG, Embil JM, Joseph WS, Karchmer AW, LeFrock JL, Lew DP, Mader JT, Norden C, Tan JS. Diagnosis and treatment of diabetic foot infections. *Clin Infect Dis* 2004; 39:885-910.
8. Ollendorf DA, Kotsanos JG, Wishner WJ, Friedman M, Cooper T, Bittoni M et al. Potential economic benefits of lower-extremity amputation prevention strategies in diabetes. *Diabetes Care* 1998; 21:1240-1245.
9. O'Meara S, Nelson EA, Golder S, Dalton JE, Craig D, Iglesias C. Systematic review of methods to diagnose

- infection in foot ulcers in diabetes. *Diabet Med* 2006; 23: 341-347.
10. Ramsey SD, Newton K, Blough D, McCulloch DK, Sandhu N, Reiber GE et al. Incidence, outcomes, and cost of foot ulcers in patients with diabetes. *Diabetes Care* 1999; 22:382-387.
  11. Schaper NC, Apelqvist J, Bakker K. The international consensus and practical guidelines on the management and prevention of the diabetic foot. *Curr Diabetes Rep* 2003; 3: 475-479.
  12. Senneville E, Melliez H, Beltrand E, Legout L, Valette M, Cazaubiel M et al. Culture of percutaneous bone biopsy specimens for diagnosis of diabetic foot osteomyelitis: concordance with ulcer swab cultures. *Clin Infect Dis* 2006; 42:57-62.
  13. Tattevin P, Donnio PY, Arvieux C. Coagulase-negative staphylococci in diabetic foot osteomyelitis. *Clin Infect Dis* 2006; 42:1811; author reply 1811-2.
  14. Ulbrecht JS, Cavanagh PR, Caputo GM. Foot problems in diabetes: An overview. *Clin Infect Dis* 2004; 39 (Suppl 2):S73-S82.
  15. Urbancic-Rovan V, Gubina M. Bacteria in superficial diabetic foot ulcers. *Diabet Med* 2000; 17:814-815.
  16. Williams DT, Hilton JR, Harding KG. Diagnosing foot infection in diabetes. *Clin Infect Dis* 2004; 39 (Suppl 2):S83-S86.

---

DOCUMENTO TÉCNICO

---

**PNT-IPT-01**  
**DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO DE LAS INFECCIONES DE HERIDAS QUIRÚRGICAS**

ELABORADO		REVISADO Y APROBADO	
		Jefe de Servicio	
Nombre/Firma	Fecha	Nombre/Firma	Fecha

EDICIÓN	FECHA	ALCANCE MODIFICACIONES
01		Edición inicial

**COPIA REGISTRADA Nº..... ASIGNADA A .....**

Este documento es propiedad del Servicio de Microbiología Clínica del Hospital .....  
 La información en él contenida no podrá reproducirse total ni parcialmente sin autorización escrita del Responsable. Las copias no registradas no se mantienen actualizadas a sus destinatarios.



Servicio de Microbiología Hospital..... .....	<b>Diagnóstico microbiológico de las infecciones de heridas quirúrgicas</b>	<b>PNT-IPT-01</b>	
		Edición Nº 01	Página 2 de 5

## 1. PROPÓSITO Y ALCANCE

El objetivo del presente documento es describir los métodos de diagnóstico microbiológico de las infecciones de heridas quirúrgicas. Se describen los tipos de muestras, su procesamiento en el laboratorio y los criterios de interpretación de los cultivos.

## 2. FUNDAMENTO

La infección de la herida quirúrgica (IHQ) es un problema relativamente frecuente; se presenta en el 2-20% de los enfermos operados, dependiendo del tipo de intervención. Según el Estudio de Prevalencia de Infección Nosocomial en España (EPINE), en 2005 la prevalencia de IHQ fue del 21,3%, sólo superada por las infecciones respiratorias (21,7%), y seguida muy de cerca por las infecciones urinarias (20,8%) y bacteriemias (15,9%).

La definición al uso, que es la que describe el CDC (*Centers for Disease Control and Prevention*, de EE. UU.) es compleja y consta de diferentes requisitos: tipo de procedimiento quirúrgico, criterios clínicos, criterios microbiológicos, opinión del médico responsable, profundidad de la afectación y vigilancia post-intervención.

Sólo se cultivan el 36%-67% de las IHQ, según impliquen o no el reingreso del enfermo en un centro hospitalario. No obstante, es necesario conocer la etiología de la infección para administrar un tratamiento antimicrobiano dirigido que cubra todos los patógenos implicados. Además, en las IHQ superficiales y profundas, el CDC establece que, si el cultivo es negativo, se puede llegar a invalidar el diagnóstico de IHQ,

## 3. DOCUMENTOS DE CONSULTA

- Recogida, transporte y procesamiento general de muestras en el laboratorio de Microbiología (PNT-RTP-01) SEIMC 2003.
- Manual de instrucciones de las técnicas aplicadas
- Normas de bioseguridad

## 4. TOMA DE LAS MUESTRAS

### 4.1. VOLANTE DE PETICIÓN

El volante de petición que acompaña a cada muestra debe ser estrictamente cumplimentado y en el deberá constar la filiación, edad, número de historia, servicio de procedencia, tipo de muestra (de forma muy específica), localización anatómica de la muestra, tratamiento previo y diagnóstico del enfermo, así como el código del clínico que realiza la petición.

### 4.2. RECOGIDA DE LA MUESTRA

Se admiten las siguientes muestras:

**4.2.1. Torundas superficiales.** Se recomienda eliminar el pus, el material necrótico y los tejidos desvitalizados y lavar "a chorro" con suero salino estéril.

Con una torunda, muestrear el tejido celular subcutáneo a lo largo de los bordes de la herida,

cubriendo un área de aproximadamente 1 cm<sup>2</sup>. No frotar con fuerza para evitar el sangrado. En el caso de heridas muy secas, se recomienda impregnar la torunda en suero salino estéril antes de la toma. Se recomienda que la torunda sea de alginato.

Si la muestra se recoge con torunda, siempre que sea posible, se remitirán dos torundas de la misma muestra; una se empleará para inocular los medios de cultivo y la otra para realizar la extensión para tinción de Gram. En caso de recibir una sola torunda se inocularán primero los medios de cultivo y en último lugar se hace la extensión para Gram.

**4.2.2. Abscesos cerrados.** Se recomienda aspirar el pus con jeringa y aguja, preferiblemente a través de la piel sana. Si así no se obtiene muestra, se puede inyectar suero salino estéril subcutáneo, e intentar volver a aspirar.

**4.2.3. Pus.** Se recomienda aspirar el pus de la zona más profunda de la herida con jeringa y aguja.

**4.2.4. Biopsias y tejidos.** Se recomienda eliminar el material necrótico y los tejidos desvitalizados y lavar "a chorro" con suero salino estéril.

Las muestras deben obtenerse mediante el curetaje de lesiones profundas (raspado del tejido de la base de la úlcera, después del desbridamiento, con hoja de bisturí estéril) y la toma de biopsia de los tejidos. También se pueden tomar biopsias con sacabocados ("punch"). La toma se realiza con una cuchilla cilíndrica hueca. Se obtiene un cilindro de piel, desde la capa córnea hasta el tejido graso subcutáneo, de 2-6 milímetros de diámetro, normalmente bajo anestesia local y con un punto de sutura.

## 4.2. TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN DE LA MUESTRA

Los resultados del cultivo dependen de la demora en el transporte y de las condiciones de conservación de la muestra.

Si se usan torundas, se enviarán en medio de transporte específico (por ejemplo, Amies/Stuart/medio de transporte para anaerobios).

Si la muestra se recoge con jeringa y aguja (por ejemplo absceso, pus), una vez realizada la aspiración se debe expulsar el aire, tapando la aguja con una gasa estéril impregnada en alcohol para eliminar el riesgo de aerosoles. A continuación, se cambia la aguja por otra estéril y se inocular el contenido, previa desinfección del tapón de goma, en un vial de transporte para anaerobios. Alternativamente, se puede tapar el cono de la jeringa con un tapón, asegurarlo bien y enviar así la muestra al laboratorio.

Las biopsias y tejidos, si los fragmentos son pequeños, se inoculan en un sistema de transporte para anaerobios. Si son más grandes, se introducen en contenedores estériles sobre una gasa estéril humedecida en suero salino estéril para evitar su desecación.

Las muestras se enviarán inmediatamente al laboratorio, preferiblemente en las dos horas

Servicio de Microbiología Hospital..... .....	<b>Diagnóstico microbiológico de las infecciones de heridas quirúrgicas</b>	<b>PNT-IPT-01</b>	
		Edición N° 01	Página 3 de 5

posteriores a la toma. Si el transporte se demora, se mantendrán a temperatura ambiente.

#### 4.3. CRITERIOS DE ACEPTACIÓN Y RECHAZO

Deben ser cuidadosamente observadas las siguientes incidencias relacionadas con la muestra:

1ª Defectos encontrados en la identificación de la misma: etiquetado erróneo e inadecuada o incompleta cumplimentación de la hoja de petición.

2ª Mala conservación (temperatura inapropiada, muestras en medio no apropiado).

3ª Muestras con aspecto de mala conservación (biopsias secas).

4ª Torundas sin medio de transporte, cuando haya transcurrido más de 1 hora desde el momento de la toma.

5ª Muestra insuficiente para todas las determinaciones solicitadas.

Todas estas incidencias deben ser comunicadas al clínico correspondiente, indicando el procesamiento o no de la muestra e incidiendo en la interpretación de los resultados si se llevara a cabo el mismo.

### 5. MEDIOS DE CULTIVO, REACTIVOS Y PRODUCTOS

Medios de cultivo:

- Agar sangre
- Agar chocolate
- Agar MacConkey / agar CNA (optativos)
- Agar Sabouraud
- Agar Brucella / Agar kanamicina-vancomicina / Agar BBE
- Caldo de enriquecimiento, para muestras invasivas

Reactivos y productos:

- Sistemas de transporte para anaerobios
- Colorantes para tinción de Gram
- Sistemas comerciales generadores de atmósfera (con 5-7% de CO<sub>2</sub> y de anaerobiosis)

### 6. APARATOS Y MATERIAL

- Cabina de seguridad biológica
- Hojas de bisturí estériles / cuchillas cilíndricas huecas estériles tipo "punch"
- Pinzas estériles
- Asas de siembra estériles
- Sistema para homogeneización de muestras
- Estufa de aerobiosis a 35°C
- Jarras de incubación

### 7. PROCESAMIENTO DE LA MUESTRA

#### 7.1. PREPARACIÓN E INOCULACIÓN DE LA MUESTRA

Las torundas se siembran de manera semicuantitativa tal como se describe en el apartado 5.4.2.3. del documento científico y que se resume a continuación.

**7.1.1. Cultivo semicuantitativo.** Realizar una estría de descarga a lo largo del diámetro de una placa de agar chocolate y extender perpendicularmente sobre toda la superficie de la placa con un asa de siembra.

Posteriormente sembrar el resto de medios (agar para anaerobios, agar sangre, agar MacConkey/CNA –optativos–, agar Sabouraud) por el método habitual de siembra y preparar una extensión sobre un porta.

Las muestras obtenidas mediante jeringa y aguja se inoculan con la técnica de los 4 cuadrantes, como se describe en el apartado 5.4.2.2. del documento científico, en agar para anaerobios, agar chocolate, agar sangre, agar MacConkey/CNA, agar Sabouraud, y caldo de enriquecimiento (este último en las muestras obtenidas mediante aspiración). Por último, preparar la extensión sobre porta para realizar la tinción de Gram. Se describe brevemente el procedimiento a continuación.

**7.1.2. Cultivo cualitativo.** Sembrar la muestra sobre uno de los cuadrantes de cada placa; con un asa estéril, realizar estrías desde la zona de descarga (cuadrante 1) por el resto de los cuadrantes de la placa (cuadrantes 2, 3 y 4).

Las muestras de biopsias y tejidos homogeneizarán previamente en 1-2 mL de caldo de enriquecimiento durante 30 segundos y se inoculará 0,1 mL del homogeneizado en los medios de cultivo. Las muestras de gran tamaño no precisan trituración, se debe fraccionar la muestra con bisturí, realizar una impronta con el borde de la muestra recién cortado en los diferentes medios y la extensión sobre porta. Las muestras muy pequeñas pueden inocularse directamente en el caldo de enriquecimiento.

El procesamiento de las biopsias y tejidos de manera cuantitativa se describe en el apartado 5.4.2.4. del documento científico y se resume a continuación. No obstante, si el laboratorio considera que la relación coste-eficacia es demasiado alta para realizar cultivos cuantitativos de biopsias y tejidos, estos pueden procesarse de manera cualitativa, como se ha descrito anteriormente.

#### 7.1.3. Cultivo cuantitativo de muestras de tejidos y biopsias

- Pesar el envase que contiene la muestra en una balanza de precisión.
- Sacar de forma aseptica la muestra e introducirla en 5 mL de suero salino estéril. Equivale a una dilución 1:5.
- Pesar de nuevo el envase vacío, se resta este peso del primero y así se obtiene el peso de la muestra.
- Homogeneizar la muestra durante 30 segundos.
- Inocular 0,1 mL del homogeneizado (dilución 10<sup>-1</sup>) en los medios de cultivo. La extensión para la tinción de Gram se prepara a partir del homogeneizado: se extienden 0,01 mL (con un asa calibrada de 10 µL) sobre un área del porta de 1 cm. de lado.
- Realizar 3 diluciones seriadas del homogeneizado (0,5 mL en 4,5 mL de suero salino estéril). Así se obtienen tres diluciones, 10<sup>-2</sup>, 10<sup>-3</sup> y 10<sup>-4</sup>.
- Alternativamente, se puede obtener una dilución 10<sup>-3</sup> sembrando con un asa calibrada de 10 µL a partir de la dilución 10<sup>-1</sup>; y se puede obtener una

Servicio de Microbiología Hospital..... .....	<b>Diagnóstico microbiológico de las infecciones de heridas quirúrgicas</b>	<b>PNT-IPT-01</b>	
		Edición Nº 01	Página 4 de 5

dilución  $10^{-4}$  sembrando con un asa calibrada de 1  $\mu$ L a partir de la dilución  $10^{-1}$ .

- Sembrar con pipeta estéril 0,1 mL de cada una de las diluciones en medios de agar chocolate y agar McConkey (total 6 placas). Rotular cada placa con su dilución, como  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$  ó  $10^{-4}$ .

Se pueden hacer cultivos cuantitativos para anaerobios, pero los resultados son peores porque las diluciones seriadas dificultan su crecimiento.

## 7.2. CONDICIONES DE INCUBACIÓN

- Agar sangre, MacConkey/CNA, Sabouraud (aerobiosis); 48 horas.
- Agar chocolate (5-7%  $CO_2$ ): 48 horas.
- Agar Brucella, agar kanamicina-vancomicina, agar BBE (anaerobiosis): 7 días.

## 7.3. LECTURA DE LOS CULTIVOS E IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS

Esta información se detalla en el texto del documento científico y se resume en la tabla 6 del mismo.

## 8. OBTENCIÓN Y EXPRESIÓN DE RESULTADOS

### 8.1. TORUNDAS

El recuento semicuantitativo del cultivo procedente de una herida quirúrgica tomada con torunda, se interpreta de la misma manera que los cultivos semicuantitativos de catéteres, es decir, recuentos de  $>15$  ufc/placa de un mismo microorganismo se consideran significativos y son diagnósticos de infección por ese microorganismo, y deben ser valorados. Los microorganismos en recuentos inferiores a este dintel se consideran colonizadores. Se valoran (identificación y antibiograma) únicamente los microorganismos que se recuperen en recuento significativo.

### 8.2. MUESTRAS INVASIVAS

Las muestras obtenidas mediante jeringa y aguja y que se inoculan con la técnica de los 4 cuadrantes se pueden interpretar de manera cualitativa, o semicuantitativamente.

En la interpretación cualitativa, y siempre que la toma se haya realizado de manera correcta sin contaminación superficial, se informan todos los morfotipos observados en la tinción de Gram y se valoran (identificación y antibiograma) todos los microorganismos aislados.

La interpretación de los cultivos semicuantitativos se realizará según se ha descrito anteriormente.

En cuanto a las biopsias y muestras de tejidos, la valoración microbiológica de los cultivos cuantitativos se describe en los apartados 5.5.3 y 6 del documento científico.

Si, por el contrario, las biopsias u otras muestras invasivas no se procesan de manera cuantitativa sino cualitativa, y siempre que la toma se haya realizado de manera correcta sin contaminación superficial, se informan todos los morfotipos observados en la tinción de Gram y se valoran (identificación y antibiograma) todos los microorganismos aislados.

Los anaerobios se identifican sólo a nivel de morfotipos bacterianos.

### 8.3. PARA TODO TIPO DE MUESTRAS

Se valora *siempre* el crecimiento de microorganismos considerados esencialmente patógenos como *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus*  $\beta$ -hemolíticos y *Pseudomonas aeruginosa*, independiente del índice Q y de su recuento. Se recomienda investigar también los microorganismos que crecen en agar chocolate pero no en agar sangre.

El aislamiento de estafilococos coagulasa negativos o de *Enterococcus* spp. tiene valor microbiológico en aquellas muestras en las que se aíslan en cultivo puro, especialmente en muestras invasivas cuando la tinción de Gram es sugestiva de su presencia. El aislamiento de *Staphylococcus epidermidis* en heridas de esternotomía se considera significativo.

Los cultivos en los que se aísla microbiota comensal del área anatómica se informa como "microbiota comensal o microbiota saprofita de...".

Los cultivos sin aislamientos se informan como "no se aíslan microorganismos".

## 9. RESPONSABILIDADES

El proceso de recogida de la muestra es responsabilidad del servicio solicitante o del laboratorio de microbiología si se realiza en él la toma de la muestra.

La información sobre las normas de recogida, transporte y conservación de las muestras y su distribución a los servicios solicitantes es responsabilidad del laboratorio de microbiología.

Área de recogida y procesamiento de muestras del laboratorio de microbiología: recepción, identificación y procesamiento de las muestras. Rechazo de las muestras remitidas en condiciones defectuosas (medios de transporte inadecuados, derramadas) y adopción de medidas correctoras.

Personal técnico: realización de las técnicas microbiológicas de identificación y determinación de la sensibilidad antibiótica. Registro de resultados. Archivo de hojas de trabajo.

Facultativo responsable: valoración de la tinción de Gram, lectura de los cultivos y determinación de los microorganismos a valorar. Supervisión del trabajo del personal técnico, adopción de medidas correctoras de errores cometidos, firma del informe de resultados, interconsultas.

## 10. ANOTACIONES AL PROCEDIMIENTO

Aunque, en general, no se recomienda tomar muestras superficiales mediante torunda, es un método sencillo, barato, no invasivo y conveniente para la mayoría de las heridas abiertas, incluyendo las heridas quirúrgicas.

El cultivo a partir de muestras tomadas con torunda se ha cuestionado en base a que la microbiología de la superficie de la herida puede no

Servicio de Microbiología Hospital..... .....	<b>Diagnóstico microbiológico de las infecciones de heridas quirúrgicas</b>	<b>PNT-IPT-01</b>	
		Edición N° 01	Página 5 de 5

reflejar exactamente lo que ocurre en profundidad, y que pueden aislarse microorganismos de la microbiota comensal del individuo e incluso microorganismos patógenos que no participan en la infección. Sin embargo, dado que la mayoría de las heridas están colonizadas con microorganismos de origen endógeno, cualquier microorganismo presente en la profundidad de la herida es muy probable que también esté en la superficie. Además, estas muestras permiten un estudio semicuantitativo que es más fácil de realizar que los estudios cuantitativos, y se ha demostrado que existe una buena correlación entre cultivos semicuantitativos de torundas y cultivos cuantitativos de biopsias.

El índice Q también es válido para la interpretación cualitativa de cultivos de herida quirúrgica obtenidos con torunda.

Existe cierta controversia acerca de la utilidad de la toma de muestras con torunda para aislamiento de anaerobios. Algunos autores (Bowler, McConville), consideran necesario cultivar todas las muestras de heridas, aunque se recojan con torunda, para aislamiento de anaerobios, siempre y cuando la muestra se envíe en un sistema de transporte adecuado. En el caso de torundas, estos autores consideran que los medios de transporte habituales (por ejemplo, Amies/Stuart) son válidos si el envío al laboratorio no se retrasa.

## 11. LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

El tratamiento antimicrobiano tópico previo a la obtención de la muestra puede alterar los resultados de los cultivos.

No se recomienda rechazar o no procesar ninguna muestra sin consultar previamente con el clínico.

## 12. BIBLIOGRAFÍA

1. Bouza E, Burillo A, Munoz P, Cercenado E, Rodriguez-Creixems M. Semicuantitative culture of open surgical wounds for diagnosis of surgical site infection. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2004; 23:119-122.
2. Bowler PG, Duerden BI, Armstrong DG. Wound microbiology and associated approaches to wound management. *Clin Microbiol Rev* 2001; 14:244-269.
3. Matkoski C, Sharp SE, Kiska DL. Evaluation of the Q score and Q234 systems for cost-effective and clinically relevant interpretation of wound cultures. *J Clin Microbiol* 2006; 44:1869-1872.
4. McConville JH, Timmons RF, Hansen SL. Comparison of three transport systems for recovery of aerobes and anaerobes from wounds. *Am J Clin Pathol* 1979; 72:968-971.



Servicio de Microbiología Hospital..... .....	<b>Diagnóstico microbiológico de las infecciones de heridas agudas de piel y tejidos blandos</b>	<b>PNT-IPT-02</b>	
		Edición N° 01	Página 2 de 5

## 1. PROPÓSITO Y ALCANCE

El objetivo del presente documento es describir los métodos de diagnóstico microbiológico en las infecciones de heridas agudas de piel y tejidos blandos, excluyendo la infección de la herida quirúrgica, que se describe en el PNT-IPT-01.

El espectro de este tipo de infecciones abarca desde procesos leves hasta cuadros graves con gran afección sistémica que precisan de una intervención inmediata. Se incluyen las infecciones superficiales (impétigo, forunculosis, erisipelas, sobreinfección de un quiste epidérmico), las infecciones del tejido celular subcutáneo y abscesos (celulitis y todas sus variedades y fascitis), las miositis (incluyendo la gangrena gaseosa y los abscesos musculares), la linfadenitis, la linfangitis y las infecciones de mordeduras. La clasificación exhaustiva de estas infecciones se recoge en "*Principles and Practice of Infectious Diseases*" editado por Mandell, Bennett y Dolin.

Se describen los tipos de muestras, su procesamiento en el laboratorio y los criterios de interpretación de los cultivos.

## 2. FUNDAMENTO

El diagnóstico de infección en estas entidades es un diagnóstico clínico y no microbiológico. El diagnóstico microbiológico se reserva para los casos en los que se precisa conocer la etiología de la infección, bien porque sean de particular gravedad, o se sospechen microorganismos menos frecuentes (en enfermos inmunodeprimidos) o haya habido mala respuesta a tratamientos antimicrobianos previos.

## 3. DOCUMENTOS DE CONSULTA

- Recogida, transporte y procesamiento general de muestras en el laboratorio de Microbiología (PNT-RTP-01) SEIMC 2003.
- Manual de instrucciones de las técnicas aplicadas
- Normas de bioseguridad

## 4. TOMA DE LAS MUESTRAS

### 4.1. VOLANTE DE PETICIÓN

El volante de petición que acompaña a cada muestra debe ser estrictamente cumplimentado y en el deberá constar la filiación, edad, número de historia, servicio de procedencia, tipo de muestra (de forma muy específica), localización anatómica de la muestra, tratamiento previo y diagnóstico del paciente, así como el código del clínico que realiza la petición.

### 4.2. RECOGIDA DE LA MUESTRA

La forma de presentación de estas infecciones es muy variada. Pueden presentarse como heridas abiertas o lesiones cerradas (vesículas, máculas, pápulas, ectima, nódulos, lesiones purpúricas –petequias–, etc.). La forma de presentación será la que determine qué muestra microbiológica se requiere para el diagnóstico en cada caso.

**4.2.1. Heridas abiertas.** Se recomienda eliminar el pus, el material necrótico y los tejidos desvitalizados y lavar "a chorro" con suero salino estéril.

Con una torunda, muestrear el tejido celular subcutáneo a lo largo de los bordes de la herida, cubriendo un área de aproximadamente 1 cm<sup>2</sup>. No frotar con fuerza para evitar el sangrado. En el caso de heridas muy secas, se recomienda impregnar la torunda en suero salino estéril antes de la toma. Se recomienda que la torunda sea de alginato.

Si la muestra se recoge con torunda, siempre que sea posible, se remitirán dos torundas de la misma muestra; una se empleará para inocular los medios de cultivo y la otra para realizar la extensión para tinción de Gram. En caso de recibir una sola torunda se inocularán primero los medios de cultivo y en último lugar se hace la extensión para Gram.

Las muestras de tejido se pueden obtener mediante el curetaje de la base de la lesión, después del desbridamiento, con hoja de bisturí estéril, o mediante biopsia (con sacabocados o procedimiento quirúrgico abierto). El sacabocado consiste en una cuchilla cilíndrica hueca, con la que se obtiene un cilindro de piel, desde la capa córnea hasta el tejido graso subcutáneo, de 2-6 milímetros de diámetro, normalmente bajo anestesia local y con un punto de sutura.

**4.2.2. Heridas cerradas.** Si el contenido de la lesión se puede aspirar con jeringa y aguja (vesículas, abscesos, nódulos o ganglios que fluctúen), se procederá así, pinchando preferiblemente a través de una zona de piel sana.

En caso de celulitis, se puede inyectar suero salino estéril subcutáneo en el borde activo de la lesión, y luego intentar aspirarlo, aunque la sensibilidad diagnóstica de esta técnica es baja (aproximadamente, 30%).

Las muestras de tejido se obtienen mediante biopsia (con sacabocados o procedimiento quirúrgico abierto), del borde activo de la lesión.

**4.2.3. Otras muestras.** En enfermos con infección grave o repercusión sistémica se recomienda extraer hemocultivos. Como ejemplo, son positivos en el 5% de los enfermos con erisipela, en el 2-4% de los enfermos con celulitis (especialmente si hay linfedema asociado) y en más del 50% de los casos de fascitis necrotizante y de celulitis sinérgica necrotizante.

## 4.3. TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN DE LA MUESTRA

Los resultados del cultivo dependen de la demora en el transporte y de las condiciones de conservación de la muestra.

Si se usan torundas, se enviarán en medio de transporte específico (Amies/Stuart/medio de transporte para anaerobios).

Si la muestra se recoge con jeringa y aguja (absceso, pus), una vez realizada la aspiración se debe expulsar el aire, tapando la aguja con una gasa estéril impregnada en alcohol para eliminar el riesgo

Servicio de Microbiología Hospital..... .....	<b>Diagnóstico microbiológico de las infecciones de heridas agudas de piel y tejidos blandos</b>	<b>PNT-IPT-02</b>	
		Edición N° 01	Página 3 de 5

de aerosoles. A continuación, se cambia la aguja por otra estéril y se inocula el contenido, previa desinfección del tapón de goma, en un vial de transporte para anaerobios. Alternativamente, se puede tapar el cono de la jeringa con un tapón, asegurarlo bien y enviar así la muestra al laboratorio.

Las biopsias y tejidos, si los fragmentos son pequeños, se inoculan en un sistema de transporte para anaerobios. Si son más grandes, se introducen en contenedores estériles sobre una gasa estéril humedecida en suero salino estéril para evitar su desecación.

Las muestras se enviarán inmediatamente al laboratorio, preferiblemente en las dos horas posteriores a la toma. Si el transporte se demora, se mantendrán a temperatura ambiente.

#### 4.4. CRITERIOS DE ACEPTACIÓN Y RECHAZO

Deben ser cuidadosamente observadas las siguientes incidencias relacionadas con la muestra:

- Defectos encontrados en la identificación de la misma: etiquetado erróneo e inadecuada o incompleta cumplimentación de la hoja de petición.
- Mala conservación (temperatura inapropiada, muestras en medio no apropiado).
- Muestras con aspecto de mala conservación (biopsias secas).
- Torundas sin medio de transporte, cuando haya transcurrido más de 1 hora desde el momento de la toma.
- Muestra insuficiente para todas las determinaciones solicitadas.

Todas estas incidencias deben ser comunicadas al clínico correspondiente, indicando el procesamiento o no de la muestra e incidiendo en la interpretación de los resultados si se llevara a cabo el mismo.

#### 5. MEDIOS DE CULTIVO, REACTIVOS Y PRODUCTOS

Medios de cultivo:

- Agar sangre
- Agar chocolate
- Agar MacConkey / agar CNA (optativos)
- Agar Sabouraud
- Agar Brucella / Agar kanamicina-vancomicina / Agar BBE
- Caldo de enriquecimiento, para muestras profundas

Reactivos y productos:

- Sistemas de transporte para anaerobios
- Colorantes para tinción de Gram
- Sistemas comerciales generadores de atmósfera (con 5-7% de CO<sub>2</sub> y de anaerobiosis)

#### 6. APARATOS Y MATERIAL

- Cabina de seguridad biológica
- Hojas de bisturí estériles / cuchillas cilíndricas huecas estériles tipo "punch"
- Pinzas estériles
- Asas de siembra estériles
- Sistema para homogeneización de muestras

- Estufa de aerobiosis a 35°C

- Jarras de incubación

#### 7. PROCESAMIENTO DE LA MUESTRA

##### 7.1. PREPARACIÓN E INOCULACIÓN DE LA MUESTRA

Las torundas y las muestras obtenidas mediante jeringa y aguja se inoculan con la técnica de los 4 cuadrantes, como se describe en el apartado 5.4.2.2. del documento científico, en los siguientes medios de cultivo: agar para anaerobios, agar chocolate, agar sangre, agar MacConkey/CNA, agar Sabouraud; en las muestras obtenidas mediante aspiración se añade un caldo de enriquecimiento; por último, se prepara la extensión sobre porta para tinción de Gram.

Las biopsias y tejidos se procesan de manera cualitativa como se indica a continuación: homogeneizar en 1-2 mL de caldo de enriquecimiento durante 30 segundos, e inocular 0,1 mL del homogeneizado en los medios de cultivo antes mencionados, en el caldo y realizar la extensión sobre porta para tinción de Gram. Las muestras de gran tamaño no precisan trituración, se fracciona la muestra con bisturí y se realiza una impronta con el borde de la muestra recién cortado en los medios y la extensión sobre porta para tinción de Gram. Las muestras muy pequeñas pueden inocularse directamente en el caldo de enriquecimiento.

##### 7.2. CONDICIONES DE INCUBACIÓN

- Agar sangre, MacConkey, Sabouraud (aerobiosis); 48 horas.
- Agar chocolate (5-7% CO<sub>2</sub>): 48 horas.
- Agar Brucella, agar kanamicina-vancomicina, agar BBE (anaerobiosis): 7 días.

##### 7.3. LECTURA DE LOS CULTIVOS E IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS

Esta información se detalla en el texto del documento científico y se resume en la tabla 6.

#### 8. OBTENCIÓN Y EXPRESIÓN DE RESULTADOS

##### 8.1. TORUNDAS

La lectura del cultivo de las muestras tomadas con torundas, que se siembran mediante la técnica de los 4 cuadrantes, se puede interpretar de manera cualitativa, mediante el índice Q, o semicuantitativamente.

Para la interpretación cualitativa, se calcula el índice Q a partir de la tinción de Gram, tal y como se describe en los apartados 5.5.1 y 6 del documento científico, y se valoran (identificación y antibiograma) hasta 3 patógenos.

Cuando se aíslan más de 3 microorganismos potencialmente patógenos y sólo se identifican morfológicamente los que previamente no se han observado en la tinción de Gram, se recomienda incluir la siguiente observación en el informe: "Se han aislado varios microorganismos potencialmente

Servicio de Microbiología Hospital..... .....	<b>Diagnóstico microbiológico de las infecciones de heridas agudas de piel y tejidos blandos</b>	<b>PNT-IPT-02</b>	
		Edición N° 01	Página 4 de 5

patógenos. La correlación entre lo observado en la tinción de Gram y los resultados del cultivo no permite asignar un papel patógeno claro a ninguno de los aislados. Estos aislados pueden representar colonización o contaminación”.

Existen microorganismos que producen celulitis en determinadas situaciones, como es el caso de *Aeromonas hydrophila* (tras inmersión en agua dulce), vibrios halófilos (tras inmersión en agua salada), *Streptococcus iniae* (en personas que trabajan en acuicultura), *Erysipelothrix rhusiopathiae* (en personas que trabajan en contacto con pescado o carne) y *Haemophilus influenzae* (celulitis periorbital en niños).

En las infecciones de mordeduras de animales (perros, gatos) los microorganismos más frecuentes son estreptococos del grupo viridans. En estos casos pueden aislarse otros microorganismos menos frecuentes como *Pasteurella multocida*, *Capnocytophaga canimorsus*, *Bartonella henselae* y *Eikenella corrodens*. En mordeduras humanas, los principales patógenos también son estreptococos del grupo viridans, especialmente *Streptococcus anginosus*. En mordeduras de serpientes, la microbiota oral del reptil incluye *P. aeruginosa*, *Proteus* spp., estafilococos coagulasa negativa y *Clostridium* spp., y además *Bacteroides fragilis* y *Salmonella arizonae* si la serpiente es de cascabel.

La interpretación de los cultivos semicuantitativos se describe en el apartado 5.5.2. del documento científico.

## 8.2. MUESTRAS INVASIVAS

Los cultivos de las muestras obtenidas por aspiración con jeringa y aguja se pueden interpretar de manera cualitativa o de manera semicuantitativa.

En la interpretación cualitativa, y siempre que la toma se haya realizado de manera correcta sin contaminación superficial, se informan todos los morfotipos observados en la tinción de Gram y se valoran (identificación y antibiograma) todos los microorganismos aislados.

La interpretación de los cultivos semicuantitativos se describe en el apartado 5.5.2. del documento científico.

En el caso de biopsias y muestras de tejidos, y siempre que la toma se haya realizado de manera correcta sin contaminación superficial, se informan todos los morfotipos observados en la tinción de Gram y se valoran (identificación y antibiograma) todos los microorganismos aislados.

Los anaerobios se identifican sólo a nivel de morfotipos bacterianos.

## 8.3. PARA TODO TIPO DE MUESTRAS

Se valora *siempre* el crecimiento de microorganismos considerados esencialmente patógenos como *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* β-hemolíticos y *Pseudomonas aeruginosa*, independiente del índice Q y de su recuento. Se recomienda investigar también los

microorganismos que crecen en agar chocolate pero no en agar sangre.

Los cultivos en los que se aísla microbiota comensal del área anatómica se informan como “microbiota comensal o microbiota saprofita de...”.

Los cultivos sin aislamientos se informan como “no se aíslan microorganismos”.

## 9. RESPONSABILIDADES

El proceso de recogida de la muestra es responsabilidad del servicio solicitante o del laboratorio de microbiología si se realiza en él la toma de la muestra.

La información sobre las normas de recogida, transporte y conservación de las muestras y su distribución a los servicios solicitantes es responsabilidad del laboratorio de microbiología.

Área de recogida y procesamiento de muestras del laboratorio de microbiología: recepción, identificación y procesamiento de las muestras. Rechazo de las muestras remitidas en condiciones defectuosas (medios de transporte inadecuados, derramadas) y adopción de medidas correctoras.

Personal técnico: realización de las técnicas microbiológicas de identificación y determinación de la sensibilidad antibiótica. Registro de resultados. Archivo de hojas de trabajo.

Facultativo responsable: valoración de la tinción de Gram, lectura de los cultivos y determinación de los microorganismos a valorar. Supervisión del trabajo del personal técnico, adopción de medidas correctoras de errores cometidos, firma del informe de resultados, interconsultas.

## 10. ANOTACIONES AL PROCEDIMIENTO

Aunque, en general, no se recomienda tomar muestras superficiales mediante torunda, es un método sencillo, barato, no invasivo y conveniente para la mayoría de las heridas abiertas. En un estudio de Bamberg y cols., en el que se preguntaba a profesionales del cuidado de heridas de Estados Unidos, con una experiencia media de 11 años en este campo, los encuestados contestaron que trataban hasta el 69,7% de las heridas sin realizar cultivo previo. El diagnóstico de infección se basaba en datos clínicos en el 98,3% de las ocasiones. Acerca de los motivos para cultivar una herida, el 64,7% manifestó que dependía de la situación de la herida, y el 20,2% que se cultivaban las heridas en las que el tratamiento previo había fracasado. Cuando se cultivaban, la muestra se obtenía con “torunda” en el 53,4% de los casos, con “torunda/biopsia en función del tipo de herida” en el 41,8% de los casos, y mediante “biopsia” únicamente en el 4,3% de las ocasiones.

Existe cierta controversia acerca de la utilidad de la toma de muestras con torunda para aislamiento de anaerobios. Algunos autores (Bowler, McConville), consideran necesario cultivar todas las muestras de heridas, aunque se recojan con torunda, para aislamiento de anaerobios, siempre y cuando la



Servicio de Microbiología Hospital..... .....	<b>Diagnóstico microbiológico de las infecciones de heridas agudas de piel y tejidos blandos</b>	<b>PNT-IPT-02</b>	
		Edición N° 01	Página 5 de 5

muestra se envíe en un sistema de transporte adecuado. En el caso de torundas, estos autores consideran que los medios de transporte habituales (Amies/Stuart) son válidos si el envío al laboratorio no se retrasa.

#### **11. LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO**

El tratamiento antimicrobiano tópico previo a la obtención de la muestra puede alterar los resultados de los cultivos.

No se recomienda rechazar o no procesar ninguna muestra sin consultar previamente con el clínico.

#### **12. BIBLIOGRAFÍA**

1. Bamberg R, Sullivan K, Conner-Kerr, T. Diagnosis of wound infections: current culturing practices of US wound care professionals. *Wounds* 2002; 14:314-327.
2. Bowler PG, Duerden BI, Armstrong DG. Wound microbiology and associated approaches to wound management. *Clin Microbiol Rev* 2001; 14:244-269.
3. McConville JH, Timmons RF, Hansen SL. Comparison of three transport systems for recovery of aerobes and anaerobes from wounds. *Am J Clin Pathol* 1979; 72:968-971.
4. Sachs MK. The optimum use of needle aspiration in the bacteriologic diagnosis of cellulitis in adults. *Arch Intern Med* 1990; 150:1907-1912.
5. Skin and soft tissue infections. 86: Cellulitis and subcutaneous tissue infections. 87: Myositis. 88: Lymphadenitis and lymphangitis. 318: Bites. *Principles and Practice of Infectious Diseases*. GL Mandell, JE Bennett, R Dolin, editores. 6ª edición. Elsevier Churchill Livingstone. Philadelphia, 2005.



Servicio de Microbiología Hospital..... .....	<b>Diagnóstico microbiológico de las infecciones de quemaduras</b>	<b>PNT- IPT -03</b>	
		Edición N° 01	Página 2 de 4

## 1. PROPÓSITO Y ALCANCE

El objetivo del presente documento es describir los métodos de diagnóstico microbiológico en las infecciones de quemaduras. Se describen los tipos de muestras, su procesamiento en el laboratorio y los criterios de interpretación de los cultivos.

## 2. FUNDAMENTO

Las infecciones constituyen en la actualidad la principal amenaza vital en los pacientes que superan la fase inicial de shock-resucitación tras una agresión térmica severa. La vigilancia continua de la quemadura permite detectar cambios en su aspecto que sugieran la presencia de microorganismos, y por tanto, la posibilidad de una infección local.

Aunque clásicamente la herida cutánea ha sido el principal foco de sepsis, su importancia ha disminuido notablemente debido a importantes avances en el manejo de la herida (escarectomías e injertos precoces, antimicrobianos tópicos, mejor uso de antibioterapia, etc.), emergiendo la infección pulmonar como foco séptico relevante y causa frecuente de mortalidad en quemados.

La sospecha clínica de infección de la quemadura debe acompañarse de cultivos microbiológicos de muestras superficiales y de biopsias, con el fin de diferenciar la colonización de la quemadura de la infección invasiva.

## 3. DOCUMENTOS DE CONSULTA

- Recogida, transporte y procesamiento general de muestras en el laboratorio de Microbiología (PNT-RTP-01) SEIMC 2003.
- Manual de instrucciones de las técnicas aplicadas
- Normas de bioseguridad

## 4. TOMA DE LAS MUESTRAS

### 4.1. VOLANTE DE PETICIÓN

El volante de petición que acompaña a cada muestra debe ser estrictamente cumplimentado y en el deberá constar la filiación, edad, número de historia, servicio de procedencia, tipo de muestra (de forma muy específica), localización anatómica de la muestra, tratamiento previo y diagnóstico del paciente, así como el código del clínico que realiza la petición.

### 4.2. RECOGIDA DE LA MUESTRA

Se admiten torundas y muestras de biopsias y de tejidos.

**4.2.1. Torundas.** Previamente es necesario eliminar los antimicrobianos tópicos y el tejido desvitalizado, y lavar la superficie de la herida con alcohol al 70%.

Con una torunda muestrear una área de aproximadamente 1 cm<sup>2</sup> de la superficie de la quemadura, de los bordes de la herida o de la base de la lesión. No frotar con fuerza para evitar el sangrado. En el caso de heridas muy secas, se recomienda impregnar la torunda en suero salino estéril antes de la toma. Se recomienda que la torunda sea de alginato.

**4.2.2. Biopsias y tejidos.** Biopsia con sacabocados. También se denomina "punch". Se realiza con una cuchilla cilíndrica hueca. Se obtiene un cilindro de piel, desde la capa córnea hasta el tejido graso subcutáneo, de 2-6 milímetros de diámetro, normalmente bajo anestesia local y con un punto de sutura.

Biopsia incisional: limpiar previamente la superficie de la quemadura con alcohol al 70%, y realizar dos incisiones paralelas en la piel de aproximadamente 1 ó 2 cm. de longitud, separadas 1,5 cm. Posteriormente, con bisturí y pinzas estériles, se obtendrá una muestra lo suficientemente profunda como para llegar hasta tejido viable. La mitad de la muestra obtenida se envía para estudios microbiológicos y la otra mitad para estudios histológicos.

### 4.3. TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN DE LA MUESTRA

Los resultados del cultivo dependen de la demora en el transporte y de las condiciones de conservación de la muestra.

Las torundas se enviarán en medio de transporte específico (Amies/Stuart/medio de transporte para anaerobios).

Las biopsias y tejidos, si los fragmentos son pequeños, se inoculan en un sistema de transporte para anaerobios. Si son más grandes, se introducen en contenedores estériles sobre una gasa estéril humedecida en suero salino estéril para evitar su desecación.

Las muestras se enviarán inmediatamente al laboratorio, preferiblemente en las dos horas posteriores a la toma. Si el transporte se demora, se mantendrán a temperatura ambiente.

### 4.4. CRITERIOS DE ACEPTACIÓN Y RECHAZO

Deben ser cuidadosamente observadas las siguientes incidencias relacionadas con la muestra:

- Defectos encontrados en la identificación de la misma: etiquetado erróneo e inadecuada o incompleta cumplimentación de la hoja de petición.
- Mala conservación (temperatura inapropiada, muestras en medio no apropiado).
- Muestras con aspecto de mala conservación (biopsias secas).
- Muestra insuficiente para todas las determinaciones solicitadas.

Todas estas incidencias deben ser comunicadas al clínico correspondiente, indicando el procesamiento o no de la muestra e incidiendo en la interpretación de los resultados si se llevara a cabo el mismo.

## 5. MEDIOS DE CULTIVO, REACTIVOS Y PRODUCTOS

Medios de cultivo:

- Agar sangre
- Agar chocolate
- Agar MacConkey / agar CNA (optativos)
- Agar Sabouraud

Servicio de Microbiología Hospital..... .....	<b>Diagnóstico microbiológico de las infecciones de quemaduras</b>	<b>PNT- IPT -03</b>	
		Edición N° 01	Página 3 de 4

- Agar Brucella / Agar kanamicina-vancomicina / Agar BBE
- Caldo de enriquecimiento, para muestras invasivas

Reactivos y productos:

- Sistemas de transporte para anaerobios
- Colorantes para tinción de Gram
- Sistemas comerciales generadores de atmósfera (con 5-7% de CO<sub>2</sub> y de anaerobiosis)

## 6. APARATOS Y MATERIAL

- Cabina de seguridad biológica
- Hojas de bisturí estériles / cuchillas cilíndricas huecas estériles tipo "punch"
- Pinzas estériles
- Asas de siembra estériles
- Sistema para homogeneización de muestras
- Estufa de aerobiosis a 35°C
- Jarras de incubación

## 7. PROCESAMIENTO DE LA MUESTRA

### 7.1. PREPARACIÓN E INOCULACIÓN DE LA MUESTRA

El exudado de la quemadura, remitido mediante torunda, se inocula con la técnica de los 4 cuadrantes, como se describe en el apartado 5.4.2.2. del documento científico, en los siguientes medios de cultivo: agar para anaerobios, agar chocolate, agar sangre, agar MacConkey/CNA, agar Sabouraud y, por último, se prepara la extensión sobre porta para Gram.

Las biopsias y tejidos se procesan de manera cuantitativa, como se describe en el apartado 5.4.2.4. del documento científico.

### 7.2. CONDICIONES DE INCUBACIÓN

- Agar sangre, MacConkey/CNA, Sabouraud (aerobiosis); 48 horas.
- Agar chocolate (5-7% CO<sub>2</sub>): 48 horas.
- Agar Brucella, agar kanamicina-vancomicina, agar BBE (anaerobiosis): 7 días.

### 7.3. LECTURA DE LOS CULTIVOS E IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS

Esta información se detalla en el texto del documento científico y se resume en la tabla 6.

## 8. OBTENCIÓN Y EXPRESIÓN DE RESULTADOS

### 8.1. MUESTRAS NO INVASIVAS

Los cultivos obtenidos con torunda se pueden interpretar de manera cualitativa o de manera semicuantitativa.

Para la interpretación cualitativa, se calcula el índice Q a partir de la tinción de Gram, tal y como se describe en los apartados 5.5.1 y 6 del documento científico, y se valoran (identificación y antibiograma) hasta 3 patógenos.

Cuando se aíslan más de 3 microorganismos potencialmente patógenos y sólo se identifican morfológicamente los que previamente no se han observado en la tinción de Gram, se recomienda

incluir la siguiente observación en el informe: "Se han aislado varios microorganismos potencialmente patógenos. La correlación entre lo observado en la tinción de Gram y los resultados del cultivo no permite asignar un papel patógeno claro a ninguno de los aislados. Estos aislados pueden representar colonización o contaminación".

La interpretación de los cultivos semicuantitativos se describe en el apartado 5.5.2 del documento científico.

### 8.2. MUESTRAS INVASIVAS

La valoración microbiológica de los cultivos cuantitativos de biopsias y tejidos se describe en los apartados 5.5.3 y 6 del documento científico.

### 8.3. PARA TODO TIPO DE MUESTRAS

Se valora *siempre* el crecimiento de microorganismos considerados esencialmente patógenos como *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* β-hemolíticos y *Pseudomonas aeruginosa*, independiente del índice Q y de su recuento. Se recomienda investigar también los microorganismos que crecen en agar chocolate pero no en agar sangre.

El aislamiento de estafilococos coagulasa negativa o de *Enterococcus* spp. tiene valor microbiológico en aquellas muestras en las que se aíslan en cultivo puro, especialmente en muestras invasivas cuando la tinción de Gram es sugestiva de su presencia.

Los cultivos sin aislamientos se informan como "no se aíslan microorganismos".

## 9. RESPONSABILIDADES

El proceso de recogida de la muestra es responsabilidad del servicio solicitante o del laboratorio de microbiología si se realiza en él la toma de la muestra.

La información sobre las normas de recogida, transporte y conservación de las muestras y su distribución a los servicios solicitantes es responsabilidad del laboratorio de microbiología.

Área de recogida y procesamiento de muestras del laboratorio de Microbiología: recepción, identificación y procesamiento de las muestras. Rechazo de las muestras remitidas en condiciones defectuosas (medios de transporte inadecuados, derramadas) y adopción de medidas correctoras.

Personal técnico: realización de las técnicas microbiológicas de identificación y determinación de la sensibilidad antibiótica. Registro de resultados. Archivo de hojas de trabajo.

Facultativo responsable: valoración de la tinción de Gram, lectura de los cultivos y determinación de los microorganismos a valorar. Supervisión del trabajo del personal técnico, adopción de medidas correctoras de errores cometidos, firma del informe de resultados, interconsultas.

Servicio de Microbiología Hospital..... .....	<b>Diagnóstico microbiológico de las infecciones de quemaduras</b>	<b>PNT- IPT -03</b>	
		Edición Nº 01	Página 4 de 4

## 10. ANOTACIONES AL PROCEDIMIENTO

Para el diagnóstico de infección, no sólo es necesario realizar un cultivo cuantitativo de la quemadura, sino que además es necesaria la valoración histológica de la misma. La combinación de ambos estudios es la técnica de referencia o "*gold standard*" para el diagnóstico de infección. Se confirma la presencia de infección invasiva de la quemadura cuando se aíslan más de  $10^5$  UFC/g de bacterias, y mediante histología se confirma la presencia de microorganismos en la dermis por debajo de la escara y alrededor de los tejidos sanos adyacente.

## 11. LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

El tratamiento antimicrobiano tópico previo a la obtención de la muestra puede alterar los resultados de los cultivos.

Se recomienda recoger más de una muestra, de diferentes zonas de la quemadura, porque una única muestra puede no reflejar todos los microorganismos productores de infección.

Es imprescindible evidenciar la presencia de signos clínicos de infección de la quemadura antes de valorar los resultados obtenidos. En ausencia de infección clínica, la presencia de microorganismos en muestras superficiales indica en la mayoría de los casos colonización de la quemadura con microbiota de la piel. No se deben tomar muestras en estos casos, a no ser que sea como parte de un protocolo de vigilancia de la infección.

## 12. BIBLIOGRAFÍA

1. Bowler PG, Duerden BI, Armstrong DG. Wound microbiology and associated approaches to wound management. Clin Microbiol Rev 2001; 14:244-269.
2. Church D, Elsayed S, Reid O, Winston B, Lindsay R. Burn wound infections. Clin Microbiol Rev 2006; 19:403-34.
3. Herruzo-Cabrera R, Vizcaino-Alcaide MJ, Pinedo-Castillo C, Rey-Calero J. Diagnosis of local infection of a burn by semiquantitative culture of the eschar surface. J Burn Care Rehabil 1992; 13: 639-641.
4. Lawrence JC. The bacteriology of burns. J Hosp. Infect 1985; 6 Suppl B:3-17.
5. Matkoski C, Sharp SE, Kiska DL. Evaluation of the Q score and Q234 systems for cost-effective and clinically relevant interpretation of wound cultures. J Clin Microbiol 2006; 44:1869-1872.
6. Vindenes H, Bjerknes R. Microbial colonization of large wounds. Burns 1995; 21:575-579.



Servicio de Microbiología Hospital..... .....	<b>Diagnóstico microbiológico de las infecciones de heridas crónicas de piel y tejidos blandos</b>	<b>PNT- IPT -04</b>	
		Edición N° 01	Página 2 de 4

## 1. PROPÓSITO Y ALCANCE

El objetivo del presente documento es describir los métodos de diagnóstico microbiológico en las infecciones de heridas crónicas de piel y tejidos blandos, fundamentalmente las úlceras por presión y las úlceras vasculares. Se describen los tipos de muestras, su procesamiento en el laboratorio y los criterios de interpretación de los cultivos.

## 2. FUNDAMENTO

El diagnóstico de infección de una úlcera crónica se basa únicamente en los signos clásicos (eritema, edema, aumento local de la temperatura cutánea y dolor). Sin embargo, estos signos suelen existir en ausencia de infección, ya que son lesiones en un estado de inflamación crónica. Es más importante determinar si hay cualquier cambio, por muy sutil que sea, ya que predice mucho mejor el desarrollo de infección. Uno de los sistemas de puntuación más completos para identificar criterios clínicos de infección en distintos tipos de heridas, propuesto recientemente (2004), es el estudio Delphi de la Sociedad Europea para el Tratamiento de las Heridas, EWMA.

El diagnóstico microbiológico se reserva para los casos en los que haya habido mala respuesta a tratamientos antimicrobianos previos, o heridas de larga evolución que no cicatrizan dentro de un periodo de tiempo razonable, ante el riesgo de extensión de la infección (aparición de celulitis, osteomielitis o bacteriemia).

## 3. DOCUMENTOS DE CONSULTA

- Recogida, transporte y procesamiento general de muestras en el laboratorio de Microbiología (PNT-RTP-01) SEIMC 2003.
- Manual de instrucciones de las técnicas aplicadas
- Normas de bioseguridad

## 4. TOMA DE LAS MUESTRAS

### 4.1. VOLANTE DE PETICIÓN

El volante de petición que acompaña a cada muestra debe ser estrictamente cumplimentado y en el deberá constar la filiación, edad, número de historia, servicio de procedencia, tipo de muestra (de forma muy específica), localización anatómica de la muestra, tratamiento previo y diagnóstico del paciente, así como el código del clínico que realiza la petición.

### 4.2. RECOGIDA DE LA MUESTRA

La obtención de muestra por aspiración percutánea es el mejor método por su sencillez y facilidad. También puede recogerse la muestra mediante biopsia y, en último caso, con torunda.

**4.2.1. Aspiración percutánea.** La punción se realiza a través de la piel íntegra periulceral, seleccionando la zona de la úlcera con mayor presencia de tejido de granulación o ausencia de esfacelos.

Esa zona de punción se limpia de forma concéntrica con alcohol al 70%. Seguidamente, se

desinfecta con povidona yodada al 10% y se deja secar durante al menos un minuto. Se elimina el yodo con alcohol antes de tomar la muestra.

Se realiza una punción-aspiración con jeringa y aguja, manteniendo una inclinación de unos 45° y aproximándose hasta la pared de la lesión. Se recomienda aspirar un volumen de entre 1 y 5 mL.

En procesos no supurados, se carga la jeringa con suero salino estéril, que se inyecta y posteriormente se aspira, tal como se ha descrito anteriormente.

Una vez realizada la aspiración se debe expulsar el aire, tapando la aguja con una gasa estéril impregnada en alcohol para eliminar el riesgo de aerosoles. A continuación, se cambia la aguja por otra estéril y se inocula el contenido, previa desinfección del tapón de goma, en un vial de transporte para anaerobios. Alternativamente, se puede tapar el cono de la jeringa con un tapón, asegurarlo bien y enviar así la muestra al laboratorio.

**4.2.2. Biopsias y tejidos.** Previamente, eliminar el pus, el material necrótico y los tejidos desvitalizados y lavar "a chorro" con suero salino estéril. Las muestras de tejido se obtienen mediante biopsia (con sacabocados o procedimiento quirúrgico abierto), de las zonas que manifiesten signos de infección.

**4.2.3. Torundas.** Previamente es necesario eliminar los antimicrobianos tópicos y el tejido desvitalizado, y lavar meticulosamente la superficie de la herida con suero salino estéril.

Hay que girar la torunda entre los dedos con movimientos rotatorios de derecha a izquierda y de izquierda a derecha.

Se recomienda muestrear el tejido celular subcutáneo de los bordes de la úlcera en la zona donde los signos de infección sean más evidentes. Se recomienda no frotar con fuerza para evitar el sangrado. En el caso de heridas muy secas, se recomienda impregnar la torunda en suero salino estéril antes de la toma. Se recomienda que la torunda sea de alginato.

### 4.3. TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN DE LA MUESTRA

Los resultados del cultivo dependen de la demora en el transporte y de las condiciones de conservación de la muestra.

Las torundas se enviarán en medio de transporte específico (Amies/Stuart/medio de transporte para anaerobios).

Las biopsias y tejidos, si los fragmentos son pequeños, se inoculan en un sistema de transporte para anaerobios. Si son más grandes, se introducen en contenedores estériles sobre una gasa estéril humedecida en suero salino estéril para evitar su desecación.

Las muestras se enviarán inmediatamente al laboratorio, preferiblemente en las dos horas posteriores a la toma. Si el transporte se demora, se mantendrán a temperatura ambiente.

Servicio de Microbiología Hospital..... .....	<b>Diagnóstico microbiológico de las infecciones de heridas crónicas de piel y tejidos blandos</b>	<b>PNT- IPT -04</b>	
		Edición N° 01	Página 3 de 4

#### 4.4. CRITERIOS DE ACEPTACIÓN Y RECHAZO

Deben ser cuidadosamente observadas las siguientes incidencias relacionadas con la muestra:

- Defectos encontrados en la identificación de la misma: etiquetado erróneo e inadecuada o incompleta cumplimentación de la hoja de petición.
- Mala conservación (temperatura inapropiada, muestras en medio no apropiado).
- Muestras con aspecto de mala conservación (biopsias secas).
- Torundas sin medio de transporte, cuando haya transcurrido más de 1 hora desde el momento de la toma.
- Muestra insuficiente para todas las determinaciones solicitadas.

Todas estas incidencias deben ser comunicadas al clínico correspondiente, indicando el procesamiento o no de la muestra e incidiendo en la interpretación de los resultados si se llevara a cabo el mismo.

#### 5. MEDIOS DE CULTIVO, REACTIVOS Y PRODUCTOS

Medios de cultivo:

- Agar sangre
- Agar chocolate
- Agar MacConkey / agar CNA (optativos)
- Agar Sabouraud
- Agar Brucella / Agar kanamicina-vancomicina / Agar BBE
- Caldo de enriquecimiento, para muestras profundas

Reactivos y productos:

- Sistemas de transporte para anaerobios
- Colorantes para tinción de Gram
- Sistemas comerciales generadores de atmósfera (con 5-7% de CO<sub>2</sub> y de anaerobiosis)

#### 6. APARATOS Y MATERIAL

- Cabina de seguridad biológica
- Hojas de bisturí estériles / cuchillas cilíndricas huecas estériles tipo "punch"
- Pinzas estériles
- Asas de siembra estériles
- Sistema para homogeneización de muestras
- Estufa de aerobiosis a 35°C
- Jarras de incubación

#### 7. PROCESAMIENTO DE LA MUESTRA

##### 7.1. PREPARACIÓN E INOCULACIÓN DE LA MUESTRA

Las torundas y las muestras obtenidas mediante jeringa y aguja se inoculan con la técnica de los 4 cuadrantes, como se describe en el apartado 5.4.2.2 del documento científico, en los siguientes medios de cultivo: agar para anaerobios, agar chocolate, agar sangre, agar MacConkey/CNA, agar Sabouraud; en las muestras obtenidas mediante aspiración se añade un caldo de enriquecimiento; por último, se prepara la extensión sobre porta para tinción de Gram.

Las biopsias y tejidos se procesan de manera cuantitativa, como se describe en el apartado 5.4.2.4 del documento científico.

Si el laboratorio considera que la relación coste-eficacia es demasiado alta para los cultivos cuantitativos de biopsias y tejidos, pueden procesarse de manera cualitativa, como se describe en los apartados 5.4.2.2 y 6 del documento científico.

##### 7.2. CONDICIONES DE INCUBACIÓN

- Agar sangre, MacConkey/CNA, Sabouraud (aerobiosis); 48 horas.
- Agar chocolate (5-7% CO<sub>2</sub>): 48 horas.
- Agar Brucella, agar kanamicina-vancomicina, agar BBE (anaerobiosis): 7 días.

##### 7.3. LECTURA DE LOS CULTIVOS E IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS

Esta información se detalla en el texto del documento científico y se resume en la tabla 6.

#### 8. OBTENCIÓN Y EXPRESIÓN DE RESULTADOS

##### 8.1. TORUNDAS

Las cultivos de las muestras tomadas con torundas y las muestras obtenidas mediante jeringa y aguja y que se inoculan con la técnica de los 4 cuadrantes se pueden interpretar de manera cualitativa, mediante el índice Q, o semicuantitativamente.

Para la interpretación cualitativa, se calcula el índice Q a partir de la tinción de Gram, tal y como se describe en el documento científico (consultar los apartados 5.5.1 y 6 del documento científico), y se valoran (identificación y antibiograma) hasta 3 patógenos.

Cuando se aíslan más de 3 microorganismos potencialmente patógenos y sólo se identifican morfológicamente los que previamente no se han observado en la tinción de Gram, se recomienda incluir la siguiente observación en el informe: "Se han aislado varios microorganismos potencialmente patógenos. La correlación entre lo observado en la tinción de Gram y los resultados del cultivo no permite asignar un papel patógeno claro a ninguno de los aislados. Estos aislados pueden representar colonización o contaminación".

La interpretación de los cultivos semicuantitativos se describe en el apartado 5.5.2 del documento científico.

##### 8.2. MUESTRAS INVASIVAS

Las muestras obtenidas mediante jeringa y aguja y que se inoculan con la técnica de los 4 cuadrantes se pueden interpretar de manera cualitativa, o semicuantitativamente.

En la interpretación cualitativa, y siempre que la toma se haya realizado de manera correcta sin contaminación superficial, se informan todos los morfotipos observados en la tinción de Gram y se valoran (identificación y antibiograma) todos los microorganismos aislados.



Servicio de Microbiología Hospital..... .....	<b>Diagnóstico microbiológico de las infecciones de heridas crónicas de piel y tejidos blandos</b>	<b>PNT- IPT -04</b>	
		Edición N° 01	Página 4 de 4

La interpretación de los cultivos semicuantitativos se describe en el apartado 5.5.2 del documento científico.

En cuanto a las biopsias y muestras de tejidos, la valoración microbiológica de los cultivos cuantitativos de biopsias y tejidos se describe en los apartados 5.5.3 y 6 del documento científico.

Si, por el contrario, las biopsias u otras muestras invasivas no se procesan de manera cuantitativa sino cualitativa, y siempre que la toma se haya realizado de manera correcta sin contaminación superficial, se informan todos los morfotipos observados en la tinción de Gram y se valoran (identificación y antibiograma) todos los microorganismos aislados..

Los anaerobios se identifican sólo a nivel de morfotipos bacterianos.

### 8.3. PARA TODO TIPO DE MUESTRAS

Se valora *siempre* el crecimiento de microorganismos considerados esencialmente patógenos como *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus*  $\beta$ -hemolíticos y *Pseudomonas aeruginosa*, independiente del índice Q y de su recuento. Se recomienda investigar también los microorganismos que crecen en agar chocolate pero no en agar sangre.

El aislamiento de estafilococos coagulasa negativa o de *Enterococcus* spp. tiene valor microbiológico en aquellas muestras en las que se aíslan en cultivo puro, especialmente en muestras invasivas cuando la tinción de Gram es sugestiva de su presencia.

Los cultivos sin aislamientos se informan como "no se aíslan microorganismos".

### 9. RESPONSABILIDADES

El proceso de recogida de la muestra es responsabilidad del servicio solicitante o del laboratorio de microbiología si se realiza en él la toma de la muestra.

La información sobre las normas de recogida, transporte y conservación de las muestras y su distribución a los servicios solicitantes es responsabilidad del laboratorio de microbiología.

Área de recogida y procesamiento de muestras del laboratorio de Microbiología: recepción, identificación y procesamiento de las muestras. Rechazo de las muestras remitidas en condiciones defectuosas (medios de transporte inadecuados, derramadas) y adopción de medidas correctoras.

Personal técnico: realización de las técnicas microbiológicas de identificación y determinación de la sensibilidad antibiótica. Registro de resultados. Archivo de hojas de trabajo.

Facultativo responsable: valoración de la tinción de Gram, lectura de los cultivos y determinación de los microorganismos a valorar. Supervisión del trabajo del personal técnico, adopción de medidas correctoras de errores cometidos, firma del informe de resultados, interconsultas.

### 10. ANOTACIONES AL PROCEDIMIENTO

Las úlceras crónicas están colonizadas por microbiota de los tractos gastrointestinal y respiratorio del propio enfermo, y por bacterias del ambiente hospitalario, que llegan a través de fómites o del personal sanitario.

Las infecciones son polimicrobianas. La patogenicidad de cada uno de los microorganismos aislados es difícil de determinar. Parece que las interacciones entre aerobios y anaerobios son más importantes en la patogenia de la infección que la presencia en sí de determinados microorganismos.

### 11. LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

El tratamiento antimicrobiano tópico previo a la obtención de la muestra puede alterar los resultados de los cultivos.

Es imprescindible evidenciar la presencia de signos clínicos de infección de la úlcera antes de valorar los resultados obtenidos. En ausencia de infección clínica, la presencia de microorganismos en muestras superficiales indica en la mayoría de los casos colonización de la lesión con microbiota saprofita. No se deben tomar muestras en estos casos, a no ser que sea como parte de un protocolo de vigilancia de la infección.

### 12. BIBLIOGRAFÍA

1. Bowler PG, Duerden BI, Armstrong DG. Wound microbiology and associated approaches to wound management. Clin Microbiol Rev 2001; 14:244-269.
2. Breidenbach WC, Trager S. Quantitative culture technique and infection in complex wounds of the extremities closed with free flaps. Plast Reconstr Surg 1995; 95:860-865.
3. Dow. G. Bacterial swabs and the chronic wound: when, how, and what do they mean? Ostomy Wound Manage 2003; 49 (5A Suppl):8-13.
4. European Wound Management Association (EWMA). Position Document: Identifying criteria for wound infection. London: MEP Ltd, 2005. <http://www.ewma.org>; publications; position papers & conference proceedings.
5. Majewski W, Cybulski Z, Napierala M, Pukacki F, Staniszewski R, Pietkiewicz K et al. The value of quantitative bacteriological investigations in the monitoring of treatment of ischaemic ulcerations of lower legs. Int Angiol 1995; 14:381-384.
6. Sapico F, Ginunas V, Thornhill-Joynes M, Canawati H, Capen D, Klein N et al. Quantitative microbiology of pressure sores in different stages of healing. Diagn Microbiol Infect Dis 1986; 5:31-38.



Servicio de Microbiología Hospital..... .....	<b>Diagnóstico microbiológico de las infecciones del pie diabético</b>	<b>PNT- IPT -05</b>	
		Edición Nº 01	Página 2 de 4

## 1. PROPÓSITO Y ALCANCE

El objetivo del presente documento es describir los métodos de diagnóstico microbiológico en las infecciones del pie diabético. Se describen los tipos de muestras, su procesamiento en el laboratorio y los criterios de interpretación de los cultivos.

## 2. FUNDAMENTO

La infección de las heridas del pie de los enfermos diabéticos constituye una complicación muy grave que puede conducir a la amputación parcial o total de la extremidad afectada.

El diagnóstico de la infección es clínico, no microbiológico. Sin embargo, es necesario conocer la etiología de la infección para administrar un tratamiento antimicrobiano dirigido que cubra todos los patógenos implicados. Por ejemplo, en enfermos con tratamiento antibiótico reciente, hospitalización previa o que residen en unidades de cuidados crónicos, se aíslan con más frecuencia microorganismos multirresistentes.

El principal problema que plantea la interpretación de los cultivos de estos enfermos, y por tanto el diagnóstico etiológico de la infección, es la exposición de las lesiones a la microbiota habitual de la piel, dificultando la diferenciación de conceptos microbiológicos como "contaminación", "colonización crítica" e "infección".

## 3. DOCUMENTOS DE CONSULTA

- Recogida, transporte y procesamiento general de muestras en el laboratorio de Microbiología (PNT-RTP-01) SEIMC 2003.
- Manual de instrucciones de las técnicas aplicadas
- Normas de bioseguridad

## 4. TOMA DE LAS MUESTRAS

### 4.1. VOLANTE DE PETICIÓN

El volante de petición que acompaña a cada muestra debe ser estrictamente cumplimentado y en el deberá constar la filiación, edad, número de historia, servicio de procedencia, tipo de muestra (de forma muy específica), localización anatómica de la muestra, tratamiento previo y diagnóstico del enfermo, así como el código del clínico que realiza la petición.

### 4.2. RECOGIDA DE LA MUESTRA

Se admiten las siguientes muestras:

**4.2.1. Abscesos cerrados.** Se recomienda aspirar el pus con jeringa y aguja, preferiblemente a través de piel sana. Si así no se obtiene muestra, se puede inyectar suero salino estéril subcutáneo, e intentar volver a aspirar.

**4.2.2. Pus.** Se recomienda aspirar el pus de la zona más profunda de la herida con jeringa y aguja.

**4.2.3. Biopsias y tejidos.** Se recomienda eliminar el material necrótico y los tejidos desvitalizados y lavar "a chorro" con suero salino estéril.

Las muestras deben obtenerse mediante el curetaje de lesiones profundas (raspado del tejido de

la base de la úlcera, después del desbridamiento, con hoja de bisturí estéril) y la toma de biopsia de los tejidos desbridados (muy útil en caso de osteomielitis).

También se pueden tomar biopsias con sacabocados ("punch"). La toma se realiza con una cuchilla cilíndrica hueca. Se obtiene un cilindro de piel, desde la capa córnea hasta el tejido graso subcutáneo, de 2-6 milímetros de diámetro.

Muchas veces, por la neuropatía sensitiva que presentan estos enfermos, la toma de biopsia no requiere anestesia. La toma de biopsias no se asocia con complicaciones (empeoramiento de la circulación, fracturas, infección del hueso).

**4.2.4. Otras muestras.** En enfermos con infección grave o repercusión sistémica se recomienda extraer hemocultivos.

### 4.3. TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN DE LA MUESTRA

Los resultados del cultivo dependen de la demora en el transporte y de las condiciones de conservación de la muestra.

Las biopsias y tejidos, si los fragmentos son pequeños, se inoculan en un vial de transporte para anaerobios. Si son más grandes, se introducen en contenedores estériles sobre una gasa estéril humedecida en suero salino estéril para evitar su desecación.

En el caso de muestras óseas, se recomienda recoger varios fragmentos y enviarlos por separado en contenedores estériles diferentes.

Si la muestra se recoge con jeringa y aguja (por ejemplo, absceso, pus), una vez realizada la aspiración se debe expulsar el aire, tapando la aguja con una gasa estéril impregnada en alcohol para eliminar el riesgo de aerosoles. A continuación, se cambia la aguja por otra estéril y se inocula el contenido, previa desinfección del tapón de goma, en un vial de transporte para anaerobios. Alternativamente, se puede tapar el cono de la jeringa con un tapón, asegurarlo bien y enviar así la muestra al laboratorio.

Las muestras se enviarán inmediatamente al laboratorio, preferiblemente en las dos horas posteriores a la toma. Si el transporte se demora, se mantendrán a temperatura ambiente.

### 4.4. CRITERIOS DE ACEPTACIÓN Y RECHAZO

Deben ser cuidadosamente observadas las siguientes incidencias relacionadas con la muestra:

- Defectos encontrados en la identificación de la misma: etiquetado erróneo e inadecuada o incompleta cumplimentación de la hoja de petición.
- Mala conservación (temperatura inapropiada, muestras en medio no apropiado).
- Muestras con aspecto de mala conservación (biopsias secas).
- Muestra insuficiente para todas las determinaciones solicitadas.

Servicio de Microbiología Hospital..... .....	Diagnóstico microbiológico de las infecciones del pie diabético	PNT- IPT -05	
		Edición N° 01	Página 3 de 4

Todas estas incidencias deben ser comunicadas al clínico correspondiente, indicando el procesamiento o no de la muestra e incidiendo en la interpretación de los resultados si se llevara a cabo el mismo.

## 5. MEDIOS DE CULTIVO, REACTIVOS Y PRODUCTOS

Medios de cultivo:

- Agar sangre
- Agar chocolate
- Agar MacConkey / agar CNA (optativos)
- Agar Sabouraud
- Agar Brucella / Agar kanamicina-vancomicina / Agar BBE

- Caldo de enriquecimiento, para muestras invasivas

Reactivos y productos:

- Sistemas de transporte para anaerobios
- Colorantes para tinción de Gram
- Sistemas comerciales generadores de atmósfera (con 5-7% de CO<sub>2</sub> y de anaerobiosis)

## 6. APARATOS Y MATERIAL

- Cabina de seguridad biológica
- Hojas de bisturí estériles / cuchillas cilíndricas huecas estériles tipo "punch"
- Pinzas estériles
- Asas de siembra estériles
- Sistema para homogeneización de muestras
- Estufa de aerobiosis a 35°C
- Jarras de incubación

## 7. PROCESAMIENTO DE LA MUESTRA

### 7.1. PREPARACIÓN E INOCULACIÓN DE LA MUESTRA

Las muestras obtenidas mediante jeringa y aguja (abscesos, pus) se inoculan con la técnica de los 4 cuadrantes, como se describe en el apartado 5.4.2.2 del documento científico, en los siguientes medios de cultivo: agar para anaerobios, agar chocolate, agar sangre, agar MacConkey/CNA, agar Sabouraud, caldo de enriquecimiento y, por último, se prepara la extensión sobre porta para tinción de Gram.

Las biopsias y tejidos se homogeneizan en 1-2 mL de caldo de enriquecimiento durante 30 segundos, y se inocula 0,1 mL del homogeneizado en cada placa con la técnica de los 4 cuadrantes, igual que las muestras de abscesos y de pus. Las muestras de gran tamaño no precisan trituración, se fracciona la muestra con bisturí y se realiza una impronta con el borde de la muestra recién cortado en los medios y la extensión sobre porta para tinción de Gram. Las muestras muy pequeñas pueden inocularse directamente en el caldo de enriquecimiento.

**No se recomienda el cultivo cuantitativo de las muestras del pie diabético.**

Las muestras de tejidos duros o adheridos a tejidos duros plantean más dificultades. Siempre que la muestra lo permita se procede a la homogeneización o la extracción de pequeños

fragmentos de muestra, procesándose seguidamente como se ha descrito. En el caso de fragmentos óseos se inoculan directamente en caldo de enriquecimiento. Si hay fragmentos de tejidos blandos se procede a separarlos del tejido duro y procesarlos, de forma paralela, como otra muestra.

### 7.2. CONDICIONES DE INCUBACIÓN

- Agar sangre, MacConkey/CNA, Sabouraud (aerobiosis); 48 horas.
- Agar chocolate (5-7% CO<sub>2</sub>): 48 horas.
- Agar Brucella, agar kanamicina-vancomicina, agar BBE (anaerobiosis): 7 días.

### 7.3. LECTURA DE LOS CULTIVOS E IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS

Esta información se detalla en el texto del documento científico y se resume en la tabla 6 del mismo.

## 8. OBTENCIÓN Y EXPRESIÓN DE RESULTADOS

### 8.1. MUESTRAS NO INVASIVAS

Se calcula el índice Q a partir de la tinción de Gram, tal y como se describe en los apartados 5.5.1 y 6 del documento científico, y se valoran (identificación y antibiograma) hasta 3 patógenos.

Cuando se aíslan más de 3 microorganismos potencialmente patógenos y sólo se identifican morfológicamente los que previamente no se han observado en la tinción de Gram, se recomienda incluir la siguiente observación en el informe: "Se han aislado varios microorganismos potencialmente patógenos. La correlación entre lo observado en la tinción de Gram y los resultados del cultivo no permite asignar un papel patógeno claro a ninguno de los aislados. Estos aislados pueden representar colonización o contaminación".

### 8.2. MUESTRAS INVASIVAS

En el caso de biopsias y otras muestras invasivas, y siempre que la toma se haya realizado de manera correcta sin contaminación superficial, se informan todos los morfotipos observados en la tinción de Gram y se valoran (identificación y antibiograma) todos los microorganismos aislados.

La identificación de los anaerobios se hará sólo a nivel de morfotipos bacterianos, como se indica en el documento científico.

### 8.3. PARA TODO TIPO DE MUESTRAS

Se valora siempre el crecimiento de microorganismos considerados esencialmente patógenos como *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* β-hemolíticos y *Pseudomonas aeruginosa*, independiente del índice Q y de su recuento. Se recomienda investigar también los microorganismos que crecen en agar chocolate pero no en agar sangre.

El aislamiento de estafilococos coagulasa negativa, *Streptococcus* grupo *viridans* o de *Enterococcus* spp. tiene valor microbiológico en

Servicio de Microbiología Hospital..... .....	<b>Diagnóstico microbiológico de las infecciones del pie diabético</b>	<b>PNT- IPT -05</b>	
		Edición Nº 01	Página 4 de 4

aquellas muestras en las que se aíslan en cultivo puro, especialmente en muestras invasivas cuando la tinción de Gram es sugestiva de su presencia.

Los cultivos sin aislamientos se informan como “no se aíslan microorganismos”.

## 9. RESPONSABILIDADES

El proceso de recogida de la muestra es responsabilidad del servicio solicitante o del laboratorio de microbiología si se realiza en él la toma de la muestra.

La información sobre las normas de recogida, transporte y conservación de las muestras y su distribución a los servicios solicitantes es responsabilidad del laboratorio de microbiología.

Área de recogida y procesamiento de muestras del laboratorio de Microbiología: recepción, identificación y procesamiento de las muestras. Rechazo de las muestras remitidas en condiciones defectuosas (medios de transporte inadecuados, derramadas) y adopción de medidas correctoras.

Personal técnico: realización de las técnicas microbiológicas de identificación y determinación de la sensibilidad antibiótica. Registro de resultados. Archivo de hojas de trabajo.

Facultativo responsable: valoración de al tinción de Gram, lectura de los cultivos y determinación de los microorganismos a valorar. Supervisión del trabajo del personal técnico, adopción de medidas correctoras de errores cometidos, firma del informe de resultados, interconsultas.

## 10. ANOTACIONES AL PROCEDIMIENTO

La valoración de los resultados depende en gran medida de indicaciones muy precisas acerca del tipo de muestra y de la localización anatómica y extensión de la lesión (superficial o profunda).

## 11. LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Es imprescindible evidenciar la presencia de signos clínicos de infección del pie diabético antes de valorar los resultados obtenidos. En ausencia de infección clínica, la presencia de microorganismos en muestras superficiales indica en la mayoría de los casos colonización de la lesión con microbiota de la piel. No se deben tomar muestras en estos casos, a no ser que sea como parte de un protocolo de vigilancia de la infección.

El tratamiento antimicrobiano tópico previo a la obtención de la muestra puede alterar los resultados de los cultivos.

No se recomienda rechazar o no procesar ninguna muestra sin consultar previamente con el clínico.

Se recomienda recoger más de una muestra, de diferentes zonas de la herida, porque una única muestra puede no reflejar todos los microorganismos productores de infección.

Se debe evitar tomar muestras superficiales mediante torunda. Estas muestras están contaminadas con microbiota colonizadora e incluso

con microorganismos potencialmente patógenos que no participan en la infección, y no reflejan toda la microbiota que produce infección en la profundidad de la herida.

Las muestras de trayectos fistulosos no representan la verdadera etiología en casos de osteomielitis subyacente.

El aislamiento de *Pseudomonas aeruginosa* puede representar únicamente colonización superficial de la herida, excepto en el caso de osteomielitis o afectación del calcáneo.

**No se recomienda el cultivo cuantitativo** de las muestras del pie diabético.

## 12. BIBLIOGRAFÍA

1. Bowler PG, Duerden BI, Armstrong DG. Wound microbiology and associated approaches to wound management. Clin Microbiol Rev 2001; 14:244-269.
2. Embil JM, Trepman E. Microbiological evaluation of diabetic foot osteomyelitis. Clin Infect Dis 2006; 42:63-65.
3. Lipsky BA, Berendt AR, Deery HG, Embil JM, Joseph WS, Karchmer AW, LeFrock JL, Lew DP, Mader JT, Norden C, Tan JS. Diagnosis and treatment of diabetic foot infections. Clin Infect Dis 2004; 39:885-910.
4. O'Meara S, Nelson EA, Golder S, Dalton JE, Craig D, Iglesias C. Systematic review of methods to diagnose infection in foot ulcers in diabetes. Diabet Med 2006; 23: 341-347.
5. Senneville E, Melliez H, Beltrand E, Legout L, Valette M, Cazaubiel M et al. Culture of percutaneous bone biopsy specimens for diagnosis of diabetic foot osteomyelitis: concordance with ulcer swab cultures. Clin Infect Dis 2006; 42:57-62.