

Procedimientos en Microbiología Clínica

Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades
Infecciosas y Microbiología Clínica

23.

Diagnóstico microbiológico de las infecciones del tracto respiratorio superior

2 0 0 6

Editores: Emilia Cercenado y Rafael Cantón

Coordinador: Oscar Díez Gil

Autores: Ninive Batista Díaz

Ana Bordes Benítez

Oscar Díez Gil

María Lecuona Fernández

Magdalena Lara Pérez



ISBN: 978-84-611-5217-9

ÍNDICE DEL DOCUMENTO CIENTÍFICO

1. Introducción

- 1.1 Microbiota habitual de las vías respiratorias altas
- 1.2 Patogenia y clínica de las infecciones de las vías respiratorias altas

2. Faringitis

- 2.1. Introducción
- 2.2. Consideraciones clínicas
 - 2.2.1. Cuadros clínicos
 - 2.2.2. Etiología
 - 2.2.2.1. Virus
 - 2.2.2.2. Bacterias
 - 2.2.2.2.1. Faringitis estreptocócicas
 - 2.2.2.2.2. Faringitis no estreptocócicas
 - 2.2.3. Diagnóstico. Papel del laboratorio
- 2.3. Recogida de la muestra
- 2.4. Transporte y conservación de la muestra. Manejo de la muestra en su recepción en el laboratorio de microbiología
- 2.5. Procesamiento de la muestra
- 2.6. Selección de medios y condiciones de incubación
- 2.7. Criterios de interpretación de resultados
 - 2.7.1. Estreptococos beta-hemolíticos
 - 2.7.2. *Arcanobacterium haemolyticum*
- 2.8. Procedimientos adicionales a realizar en situaciones especiales
 - 2.8.1. *Neisseria gonorrhoeae*
 - 2.8.2. *Mycoplasma pneumoniae*
 - 2.8.3. *Chlamydomphila pneumoniae* y *Chlamydomphila psittaci*
 - 2.8.4. *Treponema pallidum*
- 2.9. Técnicas rápidas de diagnóstico
 - 2.9.1. Técnicas de detección de antígeno de estreptococo grupo A
 - 2.9.2. Técnicas moleculares
 - 2.9.2.1. Sondas de ADN
 - 2.9.2.2. PCR a tiempo real
- 2.10. Información de resultados
- 2.11. Procedimientos no aceptables

3. Síndromes laríngeos

- 3.1. Laringitis aguda y laringotraqueítis
 - 3.1.1. Introducción
 - 3.1.2. Consideraciones clínicas
 - 3.1.2.1. Cuadro clínico
 - 3.1.2.2. Etiología
 - 3.1.2.3. Diagnóstico. Papel del laboratorio
 - 3.1.3. Recogida de la muestra
 - 3.1.4. Transporte y conservación de la muestra. Manejo de la muestra en su recepción en el laboratorio de microbiología
 - 3.1.5. Procesamiento de la muestra
- 3.2. Epiglotitis
 - 3.2.1. Introducción
 - 3.2.2. Consideraciones clínicas
 - 3.2.2.1. Cuadro clínico
 - 3.2.2.2. Etiología
 - 3.2.2.3. Diagnóstico. Papel del laboratorio
 - 3.2.3. Procedimientos adicionales a realizar en situaciones especiales

4. Otitis

4.1. Introducción

4.2. Consideraciones clínicas

4.2.1. Otitis externa

4.2.1.1. Localizada aguda

4.2.1.2. Difusa aguda

4.2.1.3. Crónica

4.2.1.4. Invasiva (maligna)

4.2.1.5. Fúngica

4.2.2. Otitis media

4.2.2.1. Otitis media aguda (OMA)

4.2.2.2. Otitis media serosa (OMS)

4.2.2.3. Otitis media recurrente

4.2.2.4. Otitis media crónica supurada

4.2.2.5. Etiología de la otitis media

4.3. Recogida de la muestra

4.3.1. Otitis externa

4.3.2. Otitis media

4.4. Transporte y conservación de la muestra. Manejo de la muestra en su recepción en el laboratorio de microbiología

4.5. Procesamiento de la muestra

4.6. Selección de medios y condiciones de incubación

4.7. Criterios de interpretación de resultados

4.8. Información de resultados

4.9. Técnicas rápidas de diagnóstico

4.10. Procedimientos no aceptables

5. Sinusitis

5.1. Introducción

5.2. Consideraciones clínicas

5.2.1. Cuadro clínico

5.2.2. Etiología

5.2.3. Diagnóstico. Papel del laboratorio

5.3. Recogida de la muestra

5.4. Transporte y conservación de la muestra. Procesamiento de la muestra

5.5. Selección de medios y condiciones de incubación

5.6. Criterios de interpretación de resultados

5.7. Procedimientos adicionales a realizar en situaciones especiales

5.8. Procedimientos no aceptables

6. Síndromes clínicos producidos por otras bacterias

6.1. Síndrome de lemierre

6.1.1. Introducción

6.1.2. Consideraciones clínicas

6.1.2.1. Cuadro clínico

6.1.2.2. Etiología

6.1.2.3. Diagnóstico. Papel del laboratorio

6.1.3. Recogida de la muestra

6.1.4. Transporte y conservación de la muestra

6.1.5. Procesamiento de la muestra. Selección de medios y condiciones de incubación

6.1.6. Criterios de interpretación de resultados e información de resultados

6.2. Angina de vincent

6.3. Abscesos periamigdalino y faríngeo

6.3.1. Introducción

6.3.2. Consideraciones clínicas

6.3.2.1. Cuadro clínico

6.3.2.2. Etiología

6.3.2.3. Diagnóstico. Papel del laboratorio

6.3.3. Recogida de la muestra

6.3.4. Transporte y conservación de la muestra

6.3.5. Procesamiento de la muestra. Selección de medios y condiciones de incubación

6.3.6. Criterios de interpretación de resultados e información de resultados

6.4. Difteria

6.4.1. Introducción

6.4.2. Consideraciones clínicas

- 6.4.2.1. Cuadro clínico
- 6.4.2.2. Etiología
- 6.4.2.3. Diagnóstico. Papel del laboratorio
- 6.4.3. Recogida de la muestra
- 6.4.4. Transporte y conservación de la muestra.
- 6.4.5. Procesamiento de la muestra
- 6.4.6. Criterios de interpretación de resultados
- 6.4.7. Procedimientos adicionales
- 6.4.8. Información de resultados

7. Candidiasis

- 7.1. Introducción
- 7.2. Consideraciones clínicas
 - 7.2.1. Cuadro clínico
 - 7.2.2. Etiología
 - 7.2.3. Diagnóstico. Papel del laboratorio
- 7.3. Recogida de la muestra
- 7.4. Transporte y conservación de la muestra
- 7.5. Procesamiento de la muestra
- 7.6. Selección de medios y condiciones de incubación
- 7.7. Criterios de interpretación de resultados
- 7.8. Información de resultados
- 7.9. Procedimientos no aceptables

8. Zigomicosis

- 8.1. Introducción
- 8.2. Consideraciones clínicas
 - 8.2.1. Cuadro clínico
 - 8.2.2. Etiología
 - 8.2.3. Diagnóstico. Papel del laboratorio
- 8.3. Recogida, transporte y procesamiento de la muestra
- 8.4. Selección de medios de cultivo y criterios de interpretación de resultados
- 8.5. Información de resultados

9. Bibliografía

INDICE DE LOS DOCUMENTOS TÉCNICOS

- 1. PNT-ITRS-01. Diagnóstico microbiológico de infecciones faríngeas**
- 2. PNT-ITRS-02. Diagnóstico microbiológico de infecciones óticas**
- 3. PNT-ITRS-03. Diagnostico microbiológico de sinusitis**
- 4. PNT-ITRS-04. Diagnóstico microbiológico de infecciones por *Corynebacterium diphtheriae***

Procedimientos en Microbiología Clínica

Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades
Infecciosas y Microbiología Clínica

Editores: Emilia Cercenado y Rafael Cantón

23. DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO DE LAS INFECCIONES DEL TRACTO RESPIRATORIO SUPERIOR. 2006

Coordinador: Oscar Díez Gil

**Autores: Ninive Batista Díaz
Ana Bordes Benítez
Oscar Díez Gil
María Lecuona Fernández
Magdalena Lara Pérez**

1. INTRODUCCIÓN

Los procesos infecciosos de las vías respiratorias superiores constituyen seguramente la causa más frecuente de consulta en la práctica clínica diaria y las enfermedades que más ausencia escolar y laboral producen. Sólo en Estados Unidos se calcula que se producen al año algo más de tres episodios de resfriado común por habitante y año. En España se ha comprobado que casi el 30% de las consultas médicas relacionadas con la infección respiratoria son debidas a resfriados y el 20% a faringitis.

El sistema respiratorio se divide arbitrariamente en vías altas o superiores, que comprenden las áreas anatómicas anteriores a la laringe, incluyendo la nasofaringe, orofaringe, laringe, epiglotis, oído externo y medio, y los senos paranasales, y vías bajas o inferiores que incluyen todas las estructuras posteriores a la laringe. En ocasiones es difícil separar la etiología y la clínica en muchos de estos procesos que finalmente acaban involucrando a ambas áreas comportándose en la práctica como un único cuadro microbiológico y clínico.

En este procedimiento sólo se desarrollará lo que concierne a las vías respiratorias superiores, intentando no duplicar la información referente a aquellos procesos y situaciones que lógicamente por su entidad deberían estudiarse a fondo en un procedimiento exclusivo de vías respiratorias inferiores. En el documento científico se describen los síntomas clínicos, la etiología y el papel que juega el laboratorio de microbiología en el manejo de los principales síndromes clínicos que afectan a las vías respiratorias superiores como son la faringitis, los síndromes laríngeos, la otitis o la sinusitis, así como diversas entidades clínicas cuyo origen primario son las vías altas del sistema respiratorio. El documento analizará principalmente aquellos cuadros producidos por microorganismos cuyo diagnóstico, por ser relativamente fácil y económico para el laboratorio de microbiología, tiene alto beneficio/coste, ya que evita la prescripción de antibióticos innecesarios, y puede prevenir las posibles complicaciones graves que se pueden producir. En los documentos técnicos (PNTs) de este procedimiento se describe específicamente el diagnóstico microbiológico de los grandes síndromes infecciosos que afectan a las vías respiratorias altas.

1.1. MICROBIOTA HABITUAL DE LAS VIAS RESPIRATORIAS ALTAS

Una cantidad importante y variada de microorganismos forman parte de la microbiota normal de las vías respiratorias superiores. Esta microbiota está influenciada por multitud de factores, como la edad, el estado inmunológico, la antibioterapia, la hospitalización, y últimamente la inmunización con las nuevas vacunas frente a *Haemophilus influenzae* y *Streptococcus pneumoniae*.

La microbiota habitual incluye distintos microorganismos entre los que destacan los estreptococos, estafilococos, micrococos, neisserias, *Moraxella catarrhalis*, corinebacterias, *Haemophilus* spp, *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Fusobacterium*, *Veillonella*, *Peptostreptococcus*, *Actinomyces*, etc.

Bacterias potencialmente patógenas como *S. pneumoniae* o *Streptococcus pyogenes* se encuentran en no pocas ocasiones colonizando a las personas sanas. Los bacilos gramnegativos también pueden a veces colonizar a individuos sanos, principalmente si estos han estado hospitalizados o han padecido alguna enfermedad respiratoria recientemente. Los senos paranasales y el oído medio normalmente son zonas estériles.

1.2. PATOGENIA Y CLINICA DE LAS INFECCIONES DE LAS VIAS RESPIRATORIAS ALTAS

Debido al fenómeno de la ventilación, el pulmón y las vías aéreas están continuamente expuestos a microorganismos ambientales que, en ocasiones, alteran o superan las barreras anatómicas naturales con las que cuenta el sistema respiratorio. Barreras como la nariz, y su intrincada estructura, hacen que se formen corrientes de aire que favorecen el depósito de partículas en la mucosa nasal. El aparato mucociliar o la tos elimina los microorganismos que ingresan en el tracto respiratorio y también actúan sustancias con acción antimicrobiana, (lisozima, complemento, interferón e inmunoglobulinas).

Cuando un patógeno invade el epitelio respiratorio produce inicialmente en el huésped una respuesta inflamatoria aguda y posteriormente puede cronificarse. Ambas son las causantes de la mayoría de los signos y síntomas que acompañan a las infecciones respiratorias.

2. FARINGITIS

2.1. INTRODUCCIÓN

Se define la faringitis como la inflamación y/o la infección de la faringe y/o área periamigdal. Puede estar afectada tanto la orofaringe como la nasofaringe, adenoides y amígdalas. El término amigdalitis se refiere a la inflamación de las amígdalas y puede utilizarse indistintamente junto con el de faringitis. En ocasiones la faringitis es parte de un síndrome, como el resfriado común o la gripe.

La faringitis aguda es uno de los motivos más frecuentes de consulta y prescripción de antibióticos en las consultas de atención primaria. En España se estima que suponen un 20% de las consultas por infecciones respiratorias y el 75% aproximadamente de las mismas generan prescripción de antibióticos.

2.2. CONSIDERACIONES CLÍNICAS

2.2.1. Cuadros clínicos. Los signos y síntomas de la faringitis causada por virus o por bacterias son inespecíficos. Los hallazgos clínicos que suelen acompañar a la faringitis aguda causada por *S. pyogenes* son dolor de garganta, a menudo con aparición brusca, fiebre, dolor de cabeza, náuseas, vómitos y dolor abdominal, inflamación y/o presencia de exudado amigdal y adenitis cervical. Los factores epidemiológicos que sugieren una infección estreptocócica son: edad entre 5 y 15 años, presentación en invierno o principios de primavera y antecedente de contacto previo con otro paciente infectado por *S. pyogenes*. Sin embargo ninguno de estos factores es específico de la faringitis por *S.*

pyogenes. La aparición concomitante de conjuntivitis, coriza, tos, exantema, estomatitis, pequeñas lesiones ulceradas y diarrea se asocia más frecuentemente con la etiología vírica.

2.2.2. Etiología. La faringitis infecciosa puede estar causada por diversos microorganismos:

2.2.2.1. Virus. Son la causa más frecuente de faringitis infecciosa aguda. Los virus respiratorios (rinovirus, adenovirus, respiratorio sincitial, influenza, parainfluenza, coronavirus) frecuentemente causan faringitis. Otros virus asociados son: virus coxsackie, echovirus y virus herpes simple. El de Epstein-Barr es causa frecuente de mononucleosis infecciosa; cuadro clínico que cursa con faringitis aguda y suele acompañarse de linfadenopatías y esplenomegalia. Las infecciones sistémicas por citomegalovirus, virus de la rubéola, sarampión y otros también pueden asociarse con faringitis aguda. El virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) también puede producirla; no hay que olvidar que la presentación inicial de esta infección puede ser de un cuadro catarral.

2.2.2.2. Bacterias. Causan el 5-40% de las faringitis agudas. Las faringitis bacterianas, según la etiología, se pueden dividir en:

2.2.2.2.1. Faringitis estreptocócicas

S. pyogenes es la bacteria más frecuente (responsable del 20-40% de los episodios de faringitis aguda en la edad pediátrica y del 2-26% de los casos en adultos). Otros estreptococos beta-hemolíticos, pertenecientes a los grupos C y G y con tamaño grande de colonia, también se han asociado con brotes de faringitis, pero se desconoce su importancia en los casos esporádicos. Se han descrito numerosos brotes causados por estreptococos del grupo C (*Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus*) que tienen su origen en el consumo de productos lácteos no pasteurizados. Las colonias pequeñas de estreptococos del grupo C (*Streptococcus anginosus*) deben ser consideradas como parte de la microbiota normal de la faringe.

El papel de *S. pyogenes* en la faringitis aguda está claramente establecido, aunque también existen portadores asintomáticos, en particular entre convivientes de un caso índice de infección estreptocócica.

A pesar de que *S. pyogenes* es la causa bacteriana más frecuente de faringitis, sólo un pequeño porcentaje de pacientes están infectados. *S. pyogenes* es la única causa frecuente de faringitis que requiere tratamiento antibiótico específico, cuyos principales objetivos son: prevenir las complicaciones supurativas locales (principalmente absceso periamigdalares, linfadenitis cervical y mastoiditis) y las no supurativas (fiebre reumática aguda y glomerulonefritis). Además, el tratamiento antibiótico mejora la sintomatología, disminuye la infectividad del paciente y por tanto la transmisión de la infección, y puede minimizar potenciales efectos adversos (*rash*, anafilaxia, trastornos gastrointestinales) de tratamientos inadecuados.

Por lo tanto en un paciente con faringitis aguda es necesario descartar la presencia de *S. pyogenes* como agente etiológico.

No se ha descrito la fiebre reumática como complicación de la faringitis por estreptococos del grupo C o G. Sin embargo se han descrito casos de glomerulonefritis aguda como complicación extremadamente infrecuente de faringitis por estreptococos del grupo C, concretamente la especie *S. equi* subsp. *zooepidemicus*, pero no por estreptococos del grupo G.

2.2.2.2.2. Faringitis no estreptocócicas

a) *Arcanobacterium haemolyticum*. Se ha aislado a partir de la piel y faringe de individuos sanos pero también se ha descrito como causa de infección, especialmente faringitis en adolescentes y adultos jóvenes. La faringitis asociada a este patógeno se acompaña generalmente de un *rash* similar al que se observa en la escarlatina. Se ha implicado también en infecciones cutáneas e invasivas como sinusitis, celulitis y septicemia, a menudo en combinación con otros patógenos.

b) *Neisseria gonorrhoeae*. Puede producir faringitis de forma ocasional en pacientes que tienen contacto sexual orogenital. A pesar de la baja incidencia, debe incluirse en el diagnóstico diferencial de faringitis en adultos sexualmente activos, en grupos de alto riesgo y entre pacientes con gonorrea urogenital.

c) *Mycoplasma pneumoniae*. Produce principalmente traqueobronquitis y neumonía, aunque también se ha asociado a casos de faringitis recurrentes.

d) *Chlamydia pneumoniae* y *Chlamydia psittaci*. Son causa de neumonía y en muchos casos se describe la faringitis como manifestación inicial de la infección. La verdadera incidencia de faringitis por estos microorganismos no se conoce, ya que generalmente el diagnóstico se realiza mediante técnicas serológicas.

e) *Treponema pallidum*. La infección faríngea se puede adquirir tras relaciones sexuales orogenitales. Aparece el chancro faríngeo asociado a linfadenopatía. En el caso de sospecha de sífilis habría que realizar las pruebas serológicas correspondientes. Se puede examinar una muestra del chancro mediante tinción con anticuerpos fluorescentes.

f) *Corynebacterium diphtheriae*. Consultar apartado 6.4 de este documento

g) *Yersinia enterocolitica*. Muy poco frecuente. Sólo hay descritos dos brotes de faringitis en la literatura: el primero en el contexto de un brote de yersiniosis por consumo de leche contaminada detectándose *Y. enterocolitica* en 14 muestras faríngeas de adultos cuyos síntomas son fiebre y dolor de garganta sin enteritis; el otro brote se describe en dos miembros de una familia con faringitis que no responde a terapia con eritromicina.

h) *Francisella tularensis*. La tularemia orofaríngea puede adquirirse a través del contacto con artrópodos o animales infectados. La recogida y el procesamiento de muestras para el aislamiento de *F. tularensis* suponen un elevado pues el microorganismo puede penetrar a través de la piel intacta y mucosas durante la recogida de la muestra o puede ser inhalado si se producen aerosoles sobre todo durante el procesamiento de las muestras. Se describe con frecuencia la tularemia como una infección adquirida en el laboratorio a pesar de que los casos de enfermedad son infrecuentes.

i) Anaerobios. Consultar el apartado 6 (síndromes clínicos causados por otras bacterias) de este documento.

2.2.3. Diagnóstico. Papel del laboratorio. El principal objetivo del diagnóstico de una faringitis aguda es detectar la faringitis estreptocócica, así como identificar las causas poco frecuentes pero frente a las cuales se dispone de tratamiento específico. En la mayoría de los pacientes los hallazgos clínicos son inespecíficos y no orientan hacia el diagnóstico etiológico correcto.

2.3. RECOGIDA DE LA MUESTRA

El cultivo del exudado faringoamigdalario es la técnica de referencia para realizar el diagnóstico etiológico. La muestra debe obtenerse tan pronto como sea posible tras la aparición de los síntomas y antes de instaurar la terapia antibiótica. La muestra se debe obtener con hisopos de Dacron o alginato cálcico; con la ayuda de un depresor se inmoviliza la lengua, y se realiza la toma del área amigdalario y faríngeo posterior, así como de cualquier zona inflamada o ulcerada. Es fundamental evitar rozar la torunda con la úvula, la mucosa bucal, los labios o con la lengua, tanto antes como después de la toma. La torunda se introducirá en un tubo con medio de transporte tipo Amies-Stuart. Incluso en las mejores circunstancias, el cultivo de las muestras de exudado faríngeo presenta sus limitaciones debido a la variabilidad en la obtención, la ausencia de métodos de laboratorio estandarizados, la existencia de portadores asintomáticos y el tiempo de diagnóstico.

2.4. TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN DE LA MUESTRA. MANEJO DE LA MUESTRA EN SU RECEPCIÓN EN EL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA

La muestra se trasladará lo más rápidamente posible al laboratorio después de su obtención. El límite para aceptar la muestra en el laboratorio es un máximo de 24 h a temperatura ambiente. Esta debe estar correctamente identificada con el nombre del paciente y tipo de muestra y se acompañará siempre de una hoja de solicitud de análisis microbiológico. Se debe comprobar siempre que el contenedor de la muestra es adecuado (contiene medio de transporte) y en caso contrario se procederá a rechazarla. Sería deseable que se hicieran constar en la petición datos clínicos de interés. En el laboratorio se comprobará que los datos de la solicitud coinciden con los de la

muestra y se procederá a su procesamiento previa asignación de un número de registro. Se puede consultar información más detallada de este proceso en el Procedimiento 1a de la SEIMC (Recogida, transporte y procesamiento general de las muestras en el laboratorio de microbiología).

2.5. PROCESAMIENTO DE LA MUESTRA

Se debe inocular una placa de agar sangre (preferentemente de carnero al 5%) con la torunda. Hay que asegurarse de rotar la torunda de modo que toda su superficie quede en contacto sobre el primer cuadrante de inoculación en la placa. A continuación se extiende la muestra con un asa estéril por los tres cuadrantes restantes de la placa, con el fin de obtener colonias bien aisladas. Finalmente se harán varias incisiones en el medio con la misma asa de siembra, para favorecer la visualización de la beta-hemólisis que sugiere la presencia de *S. pyogenes*.

2.6. SELECCIÓN DE MEDIOS Y CONDICIONES DE INCUBACIÓN

La placa con el medio de agar-sangre se incuba en estufa con 5% de CO₂ a 35°C durante 24 h. En caso de negatividad se reincubará hasta 48 h. Otra alternativa para el cultivo consiste en sembrar la muestra de la forma anteriormente descrita en una placa de agar sangre e incubarla en anaerobiosis 48 h a 35°C o bien sembrarla en medio de agar sangre selectivo (como por ejemplo agar sangre con colistina y ácido nalidíxico, CNA). En caso de sospecha de infección por neisserias, los medios de cultivo utilizados para la siembra serán enriquecidos y selectivos: Thayer-Martin, Martin-Lewis, New York City o GC. Todos estos medios tienen antibióticos (vancomicina, colistina, nistatina, trimetoprim) que inhiben el crecimiento de la microbiota normal. Debe inocularse también una placa de agar chocolate, dado que algunas cepas de *N. gonorrhoeae* pueden inhibirse por los antibióticos que contienen los medios selectivos. Se deben incubar las placas a 35°C en atmósfera con 5% de CO₂ durante 72 h.

2.7. CRITERIOS DE INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

2.7.1. Estreptococos beta-hemolíticos. Las colonias de *S. pyogenes* miden >0,5 mm de diámetro, son blancas o grises y algunas tienen apariencia mucosa. Los bordes son enteros, están rodeadas por una zona relativamente amplia de beta-hemólisis, que es mayor en zonas con baja tensión de oxígeno, y no producen catalasa. Las pruebas definitivas para la identificación de *S. pyogenes* una vez confirmadas las características ya descritas son: la presencia de cualquier halo de inhibición con un disco con 0,04 unidades de bacitracina, la detección de pirrolidonicilamidas (PYR) y la detección del antígeno A de Lancefield mediante la utilización de sistemas comercializados. La identificación de los estreptococos del grupo C y G relacionados con faringitis aguda se indica en la tabla 1.

Tabla 1. Identificación de estreptococos beta-hemolíticos con significado clínico en pacientes con faringitis aguda

Especie	Antígeno de Lancefield	Bacitracina	PYR	Sorbitol	Trehalosa
<i>S. pyogenes</i>	A	Sensible	+	-	+
<i>S. dysgalactiae</i> subsp. <i>equisimilis</i>	C	Resistente	-	-	+
<i>S. dysgalactiae</i> subsp. <i>equisimilis</i>	G	Resistente	-	-	+
<i>S. dysgalactiae</i> subsp. <i>zoepidemicus</i>	C	Resistente	-	+	-

En la infección estreptocócica hay que tener en cuenta que existen cepas de *S. pyogenes* y *S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis* denominadas variantes hemolisina-deficientes que no producen hemólisis o producen alfa-hemólisis en agar sangre. Para potenciar su actividad hemolítica se recomiendan medios selectivos y diferenciales con colistina, ácido nalidixico y pH 7,5 ajustado con tampón PIPES (CNA-P). Su contribución en la faringitis estreptocócica está aún por dilucidar, ya que estas cepas en muchos casos están infravaloradas si se emplean medios de agar sangre convencionales.

La detección de anticuerpos antiestreptocócicos mediante técnicas serológicas no es útil para el diagnóstico de faringitis por *S. pyogenes* pues la presencia de anticuerpos específicos refleja contacto previo con el antígeno y no necesariamente infección activa. Sólo sería útil la detección de dichos anticuerpos para documentar la infección estreptocócica previa en pacientes con sospecha de fiebre reumática aguda o glomerulonefritis postestreptocócica.

2.7.2. *Arcanobacterium haemolyticum*. Su detección no requiere un procesamiento especial de la muestra. Es un bacilo grampositivo aerobio y de lento crecimiento, por lo que se recomienda la incubación de los cultivos durante 72 h, es inmóvil y no produce catalasa. Esta especie perteneció al género *Corynebacterium* hasta hace pocos años. Produce beta-hemólisis en agar sangre. Se han descrito dos morfotipos de colonia y el tipo rugoso es el que se aísla con más frecuencia a partir de muestras respiratorias. Esta especie se distingue por ser positiva en la prueba del CAMP inverso, utilizando una cepa de *Staphylococcus aureus* productora de beta-hemolisina. El laboratorio debe de informar la presencia de *A. haemolyticum* en muestras faríngeas siempre que el crecimiento sea moderado o abundante.

2.8. PROCEDIMIENTOS ADICIONALES A REALIZAR EN SITUACIONES ESPECIALES

2.8.1. *Neisseria gonorrhoeae*. Para su aislamiento es fundamental el procesamiento rápido de la muestra; incluso en el mismo momento de su obtención. Si esto no fuera posible, se debe introducir el hisopo en un medio de transporte y mantener la muestra a temperatura ambiente. Dadas las consecuencias sociales y médico-legales que puede tener el diagnóstico de una infección de transmisión

sexual (ITS) en una localización extragenital es importante confirmar su identificación a nivel de especie mediante dos métodos independientes, como puede ser la identificación bioquímica y mediante sondas de ADN [Accuprobe *N. gonorrhoeae* Culture Confirmation Test (Gen Probe, Inc.)]. Las técnicas moleculares, como la reacción en cadena de la ligasa (LCR) han mejorado la detección en muestras faríngeas. Sin embargo este tipo de técnicas, no basadas en el cultivo, no han sido aprobadas aún por la FDA para su utilización en muestras rectales y faríngeas y no se pueden recomendar para este tipo de diagnóstico.

2.8.2. *Mycoplasma pneumoniae*. Su cultivo no se realiza en la mayoría de los laboratorios asistenciales ya que los medios necesarios para el aislamiento son caros y complejos, el procedimiento para cultivo es laborioso y el tiempo de incubación es prolongado. Por este motivo, el diagnóstico de la infección por *M. pneumoniae* sigue basándose en las técnicas serológicas. La fijación de complemento fue la técnica de referencia durante años y aún se utiliza en muchos laboratorios. Actualmente también se dispone de técnicas de inmunofluorescencia o enzimoimmunoensayo.

2.8.3. *Chlamydomphila pneumoniae* y *Chlamydomphila psittaci*. No existe método de referencia para su diagnóstico y en muchos laboratorios se emplean métodos no estandarizados, lo que condiciona que el diagnóstico de la infección por estos patógenos sea muy variable. Al ser microorganismos de difícil aislamiento las técnicas moleculares podrían tener utilidad, sin embargo aún no se ha aprobado su comercialización.

El diagnóstico serológico de la infección por *C. pneumoniae* no afecta al manejo del paciente, ya que se requieren dos muestras de suero para demostrar seroconversión; sin embargo es la mejor herramienta para los estudios epidemiológicos. La única técnica con la que se han obtenido buenos resultados es la microinmunofluorescencia. Esta técnica utiliza como antígeno cuerpos elementales purificados especie-específicos y es la técnica serológica recomendada como referencia.

2.8.4. *Treponema pallidum*. El diagnóstico es fundamentalmente serológico.

2.9. TÉCNICAS RÁPIDAS DE DIAGNÓSTICO

Debido al tiempo requerido para la detección de *S. pyogenes* mediante técnicas de cultivo, se han

desarrollado múltiples técnicas para su diagnóstico rápido. La sensibilidad depende del método y de la cantidad de microorganismos presentes en la muestra. Estas técnicas son de dos tipos:

2.9.1. Técnicas de detección de antígeno de estreptococo grupo A. La principal desventaja del cultivo para el diagnóstico de la faringitis estreptocócica es el tiempo que se tarda en obtener resultados. En los años 80, y ante la necesidad de obtener resultados con mayor rapidez, se desarrollaron técnicas de detección de antígeno de *S. pyogenes* en muestras faríngeas tomadas con torunda. Estas técnicas presentan la ventaja de la disponibilidad del resultado en el mismo momento de la consulta. Se basan en la detección del carbohidrato de la pared celular de *S. pyogenes*, solubilizado tras su extracción ácida, mediante una reacción inmunológica. Los primeros sistemas comercializados utilizaban una técnica de aglutinación con látex. A continuación se desarrollaron técnicas de enzoinmunoensayo con puntos de corte claramente definidos y que tienen mejores resultados en cuanto a la sensibilidad.

2.9.2. Técnicas moleculares

2.9.2.1. Sondas de ADN. (Group A Streptococcus Direct test; Gen Probe, Inc., San Diego, Calif.). Detectan secuencias de ARN ribosómico específicos de *S. pyogenes* por quimioluminiscencia. La sensibilidad y especificidad son 86-94,8% y 95-100%, respectivamente, en comparación con el cultivo. Los resultados están disponibles en 2 h aproximadamente y se requiere de un equipo especializado para su realización. Tiene la ventaja de que la lectura de los resultados es objetiva.

2.9.2.2. PCR a tiempo real. (LightCycler Strep-A assay; Roche Applied Science, Indianápolis, Ind.). Comparando con el cultivo, la sensibilidad y especificidad son 93% y 98%, respectivamente. La duración de la realización de la técnica es de 1,5 horas aproximadamente y se requiere de un equipamiento especializado. Actualmente no se realiza de rutina en los laboratorios asistenciales.

2.10. INFORMACIÓN DE RESULTADOS

Los laboratorios deberían informar la presencia de *Arcanobacterium* spp. en los cultivos faríngeos en aquellos casos en los que se cultive en un número elevado (de moderado a abundante).

La tinción de Gram no es adecuada para el diagnóstico de la infección faríngea por *N. gonorrhoeae*, dada la presencia de neisserias saprofitas en la microbiota faríngea normal. Se debe informar la presencia de cualquier número de colonias de *N. gonorrhoeae* en un frotis faríngeo.

Es un tema controvertido la información de rutina de *N. meningitidis*, ya que hacerlo implicaría que el microorganismo es patógeno y que requiere tratamiento, cuando de hecho la mayor parte de las veces forma parte de la microbiota comensal. La presencia de *N. meningitidis* en cultivos faríngeos sólo se debe informar si se aísla en abundancia o si el clínico ha especificado su investigación con fines epidemiológicos.

Las técnicas rápidas empleadas para el diagnóstico etiológico de la faringitis aguda únicamente detectan la presencia de *S. pyogenes* pero no descartan otras etiologías, como las producidas por estreptococos beta-hemolíticos de los grupos C y G, cuyas manifestaciones clínicas pueden ser similares a las que produce *S. pyogenes*. Los resultados están influenciados tanto por la toma de muestra como por la cualificación del personal que los interpreta. Deben efectuarse siempre los controles necesarios para garantizar la calidad de los resultados. Recientemente se han formulado diversas recomendaciones respecto a la utilización de estas técnicas de diagnóstico rápido para el diagnóstico de la faringitis estreptocócica. El Comité de Enfermedades Infecciosas de la Sociedad Americana de Pediatría y la Sociedad Americana de Enfermedades Infecciosas establecen la necesidad de realizar el cultivo faríngeo en los niños con resultados negativos con técnicas de diagnóstico rápido y sospecha de faringitis estreptocócica. En los adultos no parece necesaria la confirmación mediante cultivo de resultados negativos con estas técnicas.

2.11. PROCEDIMIENTOS NO ACEPTABLES

Se debe evitar la realización de técnicas rápidas de detección de antígeno como prueba de confirmación de curación en pacientes que se encuentran ya asintomáticos y que han recibido un ciclo completo de antibióticos, ya que pueden obtenerse resultados falsos positivos.

3. SÍNDROMES LARÍNGEOS

3.1. LARINGITIS AGUDA Y LARINGOTRAQUEÍTIS

3.1.1. Introducción. La laringitis es una manifestación frecuente de las infecciones del tracto respiratorio superior, caracterizada por rinorrea, tos y dolor de garganta, que normalmente afecta a niños mayores, adolescentes y adultos. La laringitis aguda es un síndrome clínico muy frecuente en las consultas de atención primaria. La duración de los síntomas es variable según las diferentes series de la bibliografía. Asimismo, las cifras de incidencia de laringitis aguda que se registran en la literatura también son variables y dependen de los métodos de estudio que se hayan utilizado.

La laringotraqueítis aguda o síndrome denominado *crup* es una infección vírica de las vías respiratorias superiores e inferiores específica de la infancia, que produce inflamación en la zona de la subglotis y un cuadro de disnea acompañada de una inspiración estridente característica. El *crup* puede ser una infección grave, influyendo en esta gravedad factores del huésped como la edad y el sexo, así como el tipo de virus causante de la infección. En muchos niños el *crup* sólo se desarrolla una vez durante la infancia, aunque se produzcan múltiples infecciones por los virus que la causan. En ocasiones, sin embargo, estas infecciones víricas causan episodios repetidos de *crup* en la primera infancia.

3.1.2. Consideraciones clínicas.

3.1.2.1. Cuadro clínico. La laringitis comienza como un catarro común sin fiebre asociada o con febrícula. El paciente se queja de ronquera y las cuerdas vocales aparecen hiperémicas, como consecuencia del edema. Por lo general, el diagnóstico de la laringitis aguda se realiza solo en función de los datos clínicos. El examen de la laringe revela las cuerdas vocales hiperémicas y eritematosas debido al edema y a la ingurgitación vascular de las mucosas. El debut del *crup* es gradual, y va seguido de una infección del tracto respiratorio superior. El *distress* respiratorio severo, especialmente en niños pequeños, y la fiebre son manifestaciones comunes. El *crup* produce estrechamiento de la vía aérea y signos y síntomas similares a los de la epiglotitis, pero los niños con *crup* tienden a tener un curso de la enfermedad más largo, empeorando por las noches y con tos "perruna". Sin embargo, en los niños con edad inferior a 6 meses, la presentación del *crup* y de la epiglotitis puede ser indistinguible.

3.1.2.2. Etiología. Los agentes etiológicos primarios de ambas enfermedades son los virus respiratorios; de este modo, en pacientes mayores de cinco años con laringitis se ha aislado parainfluenza, rinovirus, virus de la gripe o adenovirus. También se ha observado que la ronquera es una manifestación destacada de la infección por coronavirus y por el virus de la parainfluenza, identificándose tanto en niños como en adultos jóvenes.

Las infecciones bacterianas también se han asociado en ocasiones a laringitis aguda, como son los casos de la faringitis estreptocócica aguda, de infecciones por *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis*, y de infecciones por *M. catarrhalis* o *H. influenzae*.

En muchas circunstancias, la infección inicial está ocasionada por varios virus, y las bacterias juegan un papel como agentes sobreinfectantes sobre la mucosa del tracto respiratorio previamente dañada. Entre las causas poco frecuentes de laringitis aguda se encuentran los herpesvirus, *Candida* spp., *Coccidioides immitis*, *Cryptococcus neoformans* y estreptococos beta-hemolíticos del grupo G, tanto en pacientes inmunocompetentes como en inmunocomprometidos. Entre los herpesvirus se han visto implicados los virus del herpes simple 1 y 2, el virus varicela-zóster y el citomegalovirus.

La laringitis producida por *Mycobacterium tuberculosis* o por una blastomycosis está asociada con la infección pulmonar. Los hallazgos clínicos varían desde parálisis de los nervios craneales y lesiones ulcerativas de la laringe posterior, a masas similares a tumores en la laringe anterior. Dado que este cuadro clínico es variable, es necesario que exista una gran sospecha clínica para realizar el diagnóstico. La histoplasmosis laríngea es una complicación de la infección diseminada y se manifiesta como ronquera de aparición indolente sin tos. La blastomycosis y la histoplasmosis de la laringe pueden confundirse con el carcinoma escamoso. El diagnóstico depende de la demostración del hongo en la submucosa.

En la tabla 2 se indican los patógenos que con frecuencia se asocian al desarrollo laringitis.

Tabla 2. Frecuencia de la laringitis asociada a agentes patógenos respiratorios comunes

Agentes causales	%
Rinovirus	25-29
Gripe	28-35
Parainfluenza	8,5-90
Adenovirus	22-35
Coronavirus	25-63
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	3-37
<i>Chlamydomphila pneumoniae</i>	30
<i>Streptococcus pyogenes</i>	2,3-19
Metapneumovirus humano	4-91

3.1.2.3. Diagnóstico. Papel del laboratorio. Debido a que el diagnóstico de laringitis y el *crup* es fundamentalmente clínico, y de etiología es vírica en la mayoría de los casos, los cultivos para bacterias y hongos son sólo necesarios cuando no hay otra causa aparente o cuando se realiza un diagnóstico diferencial de infecciones crónicas (por ejemplo, histoplasmosis y tuberculosis) con malignidad laríngea.

3.1.3. Recogida de la muestra. Para un correcto diagnóstico virológico, es indispensable, la selección adecuada de la muestra. Las muestras adecuadas son fundamentalmente las respiratorias, siendo válidas el aspirado nasofaríngeo, los exudados nasofaríngeos y el lavado faríngeo. Dichas muestras deben contener el mayor número posible de células epiteliales, que son las que fundamentalmente mantienen la replicación del virus, de hecho la calidad de la muestra es crítica, especialmente en las técnicas de aislamiento del virus o de detección de sus antígenos. También se pueden extraer muestras de sangre para estudio por métodos serológicos o por métodos moleculares.

3.1.4. Transporte y conservación de la muestra. Manejo de la muestra en su recepción en el laboratorio de microbiología. La muestra se trasladará lo más rápido posible al laboratorio después de su obtención. Se puede conservar o transportar a un laboratorio de referencia manteniéndola a 4°C (hasta 72 h), o a -70°C, hasta su procesamiento. En el caso de envío a un laboratorio de referencia o retraso en el procesamiento se debe utilizar un medio de transporte específico para virus que consiste en una solución salina con pH neutro con estabilizadores de proteínas, como seroalbúmina y con antibióticos para reducir el crecimiento de bacterias comensales. En estas condiciones se puede guardar a -70°C durante 6 meses o a 4°C una semana antes de su procesamiento.

3.1.5. Procesamiento de la muestra. La identificación del agente vírico específico de la laringotraqueobronquitis puede lograrse mediante su aislamiento en los cultivos celulares o por técnicas de detección rápida de antígenos. En la mayoría de las

series publicadas, el agente etiológico se determinó en aproximadamente un tercio a dos tercios de los pacientes con *crup*. El aislamiento e identificación del virus de la parainfluenza y del virus de la gripe a partir de un raspado nasofaríngeo, o de un lavado nasofaríngeo en los niños mayores, puede estar disponible en 24-48 h utilizando cultivos celulares mediante amplificación por centrifugado en vial cerrado. Se dispone de pruebas comerciales rápidas para detección de antígenos del virus influenza A y B en muestras respiratorias y son especialmente útiles durante los brotes de los meses de invierno.

En los casos esporádicos en los que haya que realizar cultivo celular para diagnóstico diferencial con tuberculosis o histoplasmosis se deben seguir los Procedimientos 9a (Micobacterias), y 21 (Diagnóstico microbiológico de las micosis y estudios de sensibilidad a los antifúngicos) de la SEIMC.

3.2. EPIGLOTITIS

3.2.1. Introducción. La epiglotitis es un proceso infeccioso que produce inflamación y edema de las estructuras supraglóticas, lo que incluye la epiglotis, la úvula, la base de la lengua, aritenoides, las falsas cuerdas vocales y las paredes faríngeas adyacentes. En contraste con la faringitis y el *crup*, la epiglotitis tiene una etiología primariamente bacteriana. La mayoría de los casos de epiglotitis en niños menores de cinco años están causadas por *H. influenzae* tipo b.

Desde la introducción de la vacuna frente a *H. influenzae* tipo b (Hib) ha habido un gran descenso en el número de casos de epiglotitis aguda ocasionada por este organismo. La mayoría de los niños que presentan la enfermedad no están vacunados. No obstante, se ha publicado un caso esporádico de enfermedad de un niño previamente inmunizado con Hib, que presentaba epiglotitis aguda por *H. influenzae* tipo b.

3.2.2. Consideraciones clínicas

3.2.2.1 Cuadro clínico. La epiglotitis aguda se produce típicamente en niños entre 2 y 6 años y característicamente presenta un inicio agudo con fiebre alta, dolor de garganta y obstrucción respiratoria con estridor, disfagia, y agitación. Es importante diferenciar esta situación del *crup* vírico por las implicaciones terapéuticas (ver tabla 3). Los adultos con epiglotitis a menudo tienen una presentación menos aguda caracterizada por odinofagia y cambios en la voz. Otras manifestaciones menos comunes en los adultos son disnea, estridor, faringitis, fiebre, adenopatías cervicales, tos y hemoptisis. La epiglotitis afecta aproximadamente a 1 de cada 100.000 adultos por año.

3.2.2.2. Etiología. Aún cuando la incidencia de enfermedad invasiva en la población pediátrica debido a *H. influenzae* ha disminuido dramáticamente como resultado de la vacunación, con menos de 100 casos anuales en los Estados Unidos, la vacuna no es 100% eficaz y se han descrito casos esporádicos de epiglotitis por *H. influenzae* en niños previamente

vacunados. Otras especies bacterianas que se han asociado con epiglotitis son *H. influenzae* no tipable, *Haemophilus parainfluenzae*, *S. pneumoniae*, *S. pyogenes* y *S. aureus*. En algunos casos se deben tener en cuenta también varios virus respiratorios.

3.2.2.3. Diagnóstico. Papel del laboratorio. Se pueden realizar una endoscopia o una laringoscopia indirecta para evidenciar la supraglotitis en los adultos, pero no deben realizarse en niños pequeños sin soporte anestésico dado que una ligera agitación puede precipitar una obstrucción aguda de las vías respiratorias que podría requerir intubación. Sin embargo, los cambios en las características radiológicas que revelan un alargamiento de la epiglotis y la presencia de leucocitosis con desviación a la izquierda sugieren el diagnóstico. El diagnóstico es esencialmente clínico sin necesidad de realizar el aislamiento etiológico de los organismos desde el lugar de la infección, más aún, la manipulación de la epiglotis puede conducir a obstrucción respiratoria, siendo por tanto una contraindicación absoluta.

El cultivo de sangre puede ser con frecuencia confirmatorio, ya que el 50% de los casos son bacteriémicos, y el único que se puede realizar en el laboratorio de microbiología para el diagnóstico de epiglotitis. Se puede consultar una información más detallada de este proceso en el Procedimiento 1a (Hemocultivos) de la SEIMC.

3.2.3. Procedimientos adicionales a realizar en situaciones especiales. El aislamiento de *H. influenzae* u otra bacteria asociada con epiglotitis en personas sanas puede simplemente representar contaminación local.

El tratamiento de la enfermedad invasiva por *H. influenzae* tipo b podría no eliminar la colonización de las vías respiratorias altas. El fracaso en erradicar la colonización de las vías respiratorias altas podría suponer un riesgo para el paciente y para los contactos familiares susceptibles. La colonización persistente podría suponer una causa recurrente de enfermedad invasiva por *H. influenzae*. Los hisopados faríngeos pueden ser muestras útiles para determinar la colonización de las vías respiratorias altas por *H. influenzae* tipo b y se utilizan generalmente con fines epidemiológicos.

4. OTITIS

4.1. INTRODUCCIÓN

La otitis es la inflamación del oído, tanto del canal auditivo externo como del oído medio, cuya causa más frecuente es la infección bacteriana.

La otitis media aguda (OMA) representa una de las patologías más frecuentes en el niño, pero su diagnóstico puede ser difícil; la OMA no siempre es sintomática y los métodos y dispositivos de diagnóstico, escasos. Al mismo tiempo, dado el alto índice de curación espontánea, puede existir una subestimación del número real de casos.

Tabla 3. Características diferenciales de los síndromes laríngeos más comunes

Síndrome	Grupo de edad	Agentes etiológicos	Presentación clínica
LARINGITIS	Niños mayores, adolescentes y adultos	Virus Influenza, adenovirus, rinovirus, virus parainfluenza, VRS*, <i>M. catarrhalis</i> , <i>M. pneumoniae</i> , <i>C. pneumoniae</i>	Ronquera, dolor de garganta, fiebre, congestión nasal
LARINGOTRAQUEOBRONQUITIS (CRUP)	Bebés y niños pequeños (3 meses-3 años)	Virus parainfluenza, VRS*, adenovirus, <i>H. influenzae</i> , <i>M. pneumoniae</i> , <i>S. pyogenes</i> , <i>S. aureus</i> , <i>M. catarrhalis</i>	Fiebre, tos "perruna", dificultad respiratoria, tiraje, estridor
EPIGLOTITIS	Niños de 2-6 años	<i>H. influenzae</i> , <i>H. parainfluenzae</i> , <i>S. pneumoniae</i> , <i>S. pyogenes</i> , <i>S. aureus</i>	Aparición brusca de fiebre, dolor de garganta y agitación

*VRS: virus respiratorio sincitial

4.2. CONSIDERACIONES CLÍNICAS

4.2.1. Otitis externa. La infección del conducto auditivo externo es similar a una infección de la piel y los tejidos blandos en cualquier otra parte del organismo. Generalmente está causada por humedad excesiva que permite a las bacterias multiplicarse en el canal auditivo, dando lugar a maceración e inflamación. El dolor y el prurito resultantes pueden ser importantes debido al escaso espacio disponible para la expansión de los tejidos inflamados. También pueden ser el resultado de un traumatismo (al intentar limpiar el oído), o de distintos cuadros dermatológicos (eczema, psoriasis).

Aunque el cuadro de otitis no corresponde en sentido estricto al tracto respiratorio superior, es importante distinguir la otitis externa de la otitis media supurada secundaria a la ruptura de la membrana timpánica.

La otitis externa puede aparecer a cualquier edad, y puede dividirse en varias categorías que, exceptuando los casos invasivos, no suelen diferenciarse como tales en la práctica clínica.

4.2.1.1. Localizada aguda. Puede manifestarse como una lesión pustulosa o un forúnculo, causados generalmente por *S. aureus*. Las erisipelas causadas por *S. pyogenes* pueden afectar al pabellón auricular y al conducto auditivo externo.

4.2.1.2. Difusa aguda. Es un cuadro común en adultos, que aparece en condiciones cálidas y húmedas, denominado también "oído del nadador". El principal agente etiológico es *Pseudomonas aeruginosa*.

4.2.1.3. Crónica. Aparece como consecuencia de la irritación provocada por el drenaje del oído medio en pacientes con una otitis media supurativa crónica.

4.2.1.4. Invasiva ("maligna"). Es una infección necrotizante grave que se propaga desde el epitelio escamoso del conducto auditivo externo hacia los tejidos blandos, los vasos sanguíneos, el cartílago y el hueso circundantes.

Esta enfermedad afecta principalmente a las personas de edad avanzada, a los pacientes diabéticos e inmunocomprometidos. La diseminación de la infección hacia el hueso temporal y posteriormente al seno sigmoideo, la base del cráneo, las meninges y el cerebro puede ser fatal. El agente causal es casi siempre *Pseudomonas aeruginosa*.

4.2.1.5. Fúngica. Puede formar parte de una infección micótica local o general y en el canal auditivo externo puede presentarse de forma superficial, crónica o subaguda. Las especies de *Aspergillus* son responsables de la mayoría de los casos.

4.2.2. Otitis media. La otitis media (OM) o inflamación del oído medio se asocia a presencia de líquido en el oído medio, o con otorrea (secreción desde el oído a través de una perforación de la membrana timpánica o de un tubo de ventilación).

Puede clasificarse por los síntomas asociados y duración, frecuencia y complicaciones, así como por los hallazgos otoscópicos. No parece haber consenso en la forma de denominar las distintas formas de presentación de la OM, aunque los más comunes se indican a continuación, así como sus características clínicas y patogenia.

4.2.2.1. Otitis media aguda (OMA). Es una otitis de comienzo brusco que se acompaña de signos y síntomas que no siempre son específicos.

La OMA se debe a la colonización del oído medio por bacterias procedentes de la nasofaringe, que causa una reacción aguda inflamatoria con producción de pus. Una vez resuelto el episodio agudo, puede persistir en el oído medio cierta cantidad de líquido por dificultades de drenaje. La presencia de este fluido puede causar dificultades auditivas.

Se sabe que la mencionada colonización se ve facilitada por el incremento de la adherencia bacteriana al revestimiento de la trompa de Eustaquio, debido a la presencia de virus y enzimas bacterianas, endotoxinas y mediadores inflamatorios. Más de dos tercios de los niños de tres años ya han padecido uno o más episodios de OMA, y un tercio ha sufrido ya tres o más episodios; la incidencia máxima se observa entre los 6 y 24 meses de edad. La mayor frecuencia en niños de estas edades se atribuye a factores inmunológicos, tales como la ausencia de anticuerpos antineumocócicos, a factores anatómicos, incluyendo un menor ángulo de la trompa de Eustaquio en relación a la nasofaringe, así como a la mayor incidencia de infecciones víricas del tracto respiratorio, que pueden conducir al bloqueo de la trompa de Eustaquio.

4.2.2.2. Otitis media serosa (OMS). Se define como una secreción asintomática del oído medio que puede asociarse a sensación de "oído taponado". Se sabe

que la eliminación incompleta de las bacterias del oído medio después de una OMA puede ser responsable de la inflamación persistente del oído medio, que conduciría a la OMS.

4.2.2.3. Otitis media recurrente. Se define como la aparición de tres episodios de OMA en seis meses, o cuatro o más episodios en un año.

4.2.2.4. Otitis media crónica supurada. Se debe a episodios recurrentes de infección aguda y a una duración prolongada del derrame del oído medio, generalmente producido por un episodio previo de infección aguda.

4.2.2.5. Etiología de la otitis media. Tres especies bacterianas representan el 80% de las causas de OMA: *S. pneumoniae*, *H. influenzae* (no capsulado en la mayoría de los casos), y *M. catarrhalis*. En nuestro medio, el neumococo es responsable del 25-50% de los episodios, y *H. influenzae* del 15-30%; en los países anglosajones, *M. catarrhalis* está implicada hasta en el 20% de los casos, sin embargo en el sur de Europa este porcentaje es mucho menor, siendo prácticamente inexistente en nuestro medio. Otras bacterias, como *S. pyogenes* y *S. aureus* también pueden ser causa de otitis media.

Hace aproximadamente 15 años se estableció la presencia, mediante timpanocentesis, de una nueva bacteria, *Alloicoccus otitidis*, en una serie de niños con otitis media crónica. Desde entonces, se han realizado nuevos estudios mediante técnicas de PCR que apoyan que la presencia de esta bacteria en el oído medio es una causa de este tipo de otitis. Otras bacterias del grupo de las corineformes, como *Corynebacterium auris* y sobre todo, *Turicella otitidis*, también se han relacionado con la otitis media, pero en este caso, no se han desarrollado trabajos suficientes para apoyar esta teoría.

La coinfección con virus se observa en el 30-40% de los casos, pero menos del 10% de estos están causadas exclusivamente por virus (VRS, adenovirus, enterovirus, virus influenza y rinovirus). De forma ocasional, se asocian a la otitis media *Chlamydomphila*, *Mycoplasma pneumoniae* y *Chlamydia trachomatis* en niños menores de seis meses. También se han aislado especies bacterianas anaerobias del oído de niños con OMA y otitis crónica. Hay otras formas muy infrecuentes de otitis: otitis diftérica, tuberculosa, tétanos otógeno, otitis por *Mycobacterium chelonae* y la otitis por *Ascaris lumbricoides*.

4.3. RECOGIDA DE LA MUESTRA

La toma de la muestra se realiza en función de la sospecha diagnóstica. Al utilizar torundas, se recomienda usar dos por separado, una para una tinción de Gram y otra para cultivo.

4.3.1. Otitis externa. Utilizando una torunda se toma la muestra del canal del oído externo; en caso de tomarse a partir de forúnculos se debe realizar por aspiración; y si es necesario también podrían tomarse muestras por desbridamiento quirúrgico. Para estudio de otitis fúngica se prefieren las muestras obtenidas por raspado del canal ótico.

4.3.2. Otitis media. La muestra mas representativa es la obtenida por timpanocentesis. El contenido del

oído medio se debe extraer por aspiración, evitando la contaminación con la microbiota habitual del canal del oído externo. En el caso de que exista perforación timpánica espontánea puede utilizarse el exudado o pus que fluye al canal externo del oído medio. Esta muestra se tomará mediante torunda.

4.4. TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN DE LA MUESTRA. MANEJO DE LA MUESTRA EN SU RECEPCIÓN EN EL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA

La muestra se debe transportar al laboratorio y procesarse lo antes posible. Si la muestra se recoge mediante torunda y no se va a procesar en las dos horas siguientes, se debe utilizar un medio de transporte (tipo Amies-Stuart). Se pueden mantener a temperatura ambiente durante 48 h como máximo antes de su procesamiento.

Los raspados para cultivo fúngico se transportarán en recipiente estéril; se pueden mantener a temperatura ambiente hasta 2 h; en caso de prolongación del tiempo antes de su procesamiento, se deben mantener a 4°C.

Las muestras líquidas (obtenidas por timpanocentesis) o de tejido deben refrigerarse a 4°C si no se procesan antes de dos horas.

Si se solicita cultivo de bacterias anaerobias la muestra debe transportarse mediante algún sistema (tubo, frasco) que garantice la anaerobiosis, y mantenerse a temperatura ambiente.

4.5. PROCESAMIENTO DE LA MUESTRA

Con la torunda se inocula en el agar, rotando toda la superficie de la torunda sobre el primer cuadrante de la placa donde se inocula, y a continuación extendiendo la muestra con un asa estéril por los tres cuadrantes restantes de la placa, con el fin de obtener colonias bien aisladas. En el caso de muestras líquidas se deben depositar tres o cuatro gotas en la superficie del agar y extenderlas posteriormente con el asa de cultivo.

4.6. SELECCIÓN DE MEDIOS Y CONDICIONES DE INCUBACIÓN

4.6.1. Medios de cultivo. En el caso de otitis externa, se deben utilizar agar sangre y agar MacConkey; en otitis media, agar sangre, agar MacConkey y agar chocolate suplementado. En caso de sospecha de otitis fúngica, añadir agar Sabouraud. Si se desea detectar la presencia de anaerobios, emplear además agar selectivo y no selectivo para anaerobios (tipo Schaedler y Schaedler neomicina-vancomicina).

El líquido procedente de timpanocentesis debería cultivarse en agar sangre, agar chocolate suplementado y tioglicolato u otro medio líquido de enriquecimiento.

4.6.2. Condiciones de incubación. Deben incubarse en aerobiosis el agar MacConkey, el agar Sabouraud y el medio de tioglicolato, y en atmósfera enriquecida en CO₂ el agar sangre y el agar chocolate, inicialmente durante 48 h; si se considera necesario, se prolongará el tiempo para el agar Sabouraud, y

para el agar sangre si se desea descartar la presencia de *A. otitidis*.

Los medios de cultivo para anaerobios deben incubarse en anaerobiosis durante cinco días. En todos los casos la temperatura de incubación será de 35°-37°C.

4.7. CRITERIOS DE INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Debe tenerse en cuenta el tipo de otitis y la forma en que se tomó la muestra, así como los microorganismos definidos previamente como causantes de estos cuadros.

Hay que considerar que los cultivos tomados con torunda pueden reflejar la microbiota habitual del canal ótico externo, constituida por bacterias aerobias (estafilococos coagulasa negativa, corinebacterias, micrococos, neisserias no patógenas, *Acinetobacter*), anaerobias (*Propionibacterium*, *Peptostreptococcus*, *Clostridium*,) y hongos (*Candida*, *Absidia*, *Mucor*, *Malassezia*).

Debe evaluarse el tipo y número relativo de microorganismos potencialmente patógenos aislados en cultivo, junto con el resultado de la tinción de Gram, en la que se observaría la presencia y el tipo de células inflamatorias.

Todas las bacterias que se aíslan, a excepción de las que compongan la microbiota habitual, deben identificarse hasta el nivel de especie en la medida de lo posible.

4.7.1. Identificación

4.7.1.1. *Streptococcus pneumoniae*. Cocos grampositivos en parejas y cadenas; colonias alfa-hemolíticas; catalasa negativa; optoquina y solubilidad en bilis, positivas.

4.7.1.2. *Haemophilus*. Pequeños bacilos o cocobacilos gramnegativos que crecen en agar chocolate incubado en 5% de CO₂, pero no en agar sangre; las especies pueden clasificarse por sus requerimientos de los factores X (hemina) y V (NAD) y por su comportamiento bioquímico en diferentes paneles comerciales (estos paneles permiten asimismo el biotipado de las especies, pero esta determinación parece tener más interés epidemiológico que clínico).

4.7.1.3. *Moraxella catarrhalis*. Diplococos gramnegativos, oxidasa, ADNasa, catalasa y tributirina positivas; no fermentación de carbohidratos; habitualmente beta-lactamasa positiva.

4.7.1.4. *Staphylococcus aureus*. Cocos grampositivos, catalasa y coagulasa positivas, colonias de color amarillo en agar manitol salado.

4.7.1.5. *Streptococcus pyogenes*. Descrito en el apartado 2 de este documento.

4.7.1.6. *Pseudomonas aeruginosa* y otros bacilos gramnegativos. Crecimiento en agar MacConkey, oxidasa y pruebas bioquímicas incluidas en numerosos sistemas comerciales manuales y automatizados.

4.7.1.7. Hongos. Crecimiento en Sabouraud, morfología colonial y observación microscópica del aislado.

4.7.1.8. Anaerobios. Morfología en la tinción de Gram, ensayos con discos de alta carga antibiótica y pruebas bioquímicas incluidas en diversos paneles comerciales.

4.7.1.9. *Alloicoccus otitidis*. Cocos grampositivos, similares en disposición a los estafilococos; crecimiento en agar sangre pero no en agar chocolate ni en tioglicolato; requerimiento de incubación prolongada en atmósfera enriquecida en CO₂ (mínimo tres, hasta cinco días); colonias muy pequeñas alfa-hemolíticas; catalasa positiva (puede ser débil, y a veces negativa), PYR y leucina-aminopeptidasa (LAP) positivas; sensible a vancomicina.

4.7.1.10. Corinebacterias. La identificación de *Turicella otitis* puede hacerse mediante la tinción de Gram (bacilos grampositivos largos, algo irregulares) a partir del crecimiento en agar sangre o agar chocolate. La prueba CAMP es positiva. La identificación bioquímica puede realizarse mediante paneles comerciales (API CORYNE, API ZYM; bioMérieux).

4.8. INFORMACIÓN DE RESULTADOS

Se debe informar en la tinción de Gram de la presencia de células inflamatorias, bacterias, levaduras o estructuras fúngicas.

El resultado del cultivo puede ser negativo, revelar la presencia de microbiota habitual o de cualquier bacteria descrita como patógena en el contexto de una otitis, tanto en cultivo puro como mixto.

Si las bacterias aisladas reflejan la presencia de microbiota mixta sin predominio de ningún microorganismo debe indicarse así en el informe; si el cuadro clínico lo requiere, debería comunicarse al médico esta circunstancia.

En la lectura del resultado del cultivo para bacterias anaerobias hay que ser cuidadoso al valorar la presencia de aquellos anaerobios que forman parte de la microbiota habitual del canal auditivo externo.

En el caso de bacterias cuyo carácter patógeno aún está en estudio hay que ser especialmente cauto al informar de su presencia en el cultivo, valorando si aparecen en cultivo puro, e informando del posible significado clínico-microbiológico del aislamiento.

Se debe informar de cualquier aislamiento a partir de muestras obtenidas por timpanocentesis, así como de células inflamatorias y microorganismos observados en la tinción de Gram.

En ocasiones se han de realizar informes urgentes o preliminares, a requerimiento médico o si se trata de un cuadro clínico potencialmente grave, como es el caso de la otitis externa invasiva.

4.9. TÉCNICAS RÁPIDAS DE DIAGNÓSTICO

En los últimos años se han desarrollado diversas técnicas de PCR que han permitido detectar la presencia de los patógenos más comunes en la otitis media (*S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *M. catarrhalis*) a partir de muestras que ofrecían resultado negativo en el cultivo, de modo que ofrecían resultados de sensibilidad significativamente superiores.

Las técnicas de PCR, de tipo múltiple para las tres especies mencionadas, permiten obtener resultados en el mismo día, y además han permitido estudiar la presencia de bacterias de cultivo más difícil, como el caso de *A. otitidis*, en muestras obtenidas por timpanocentesis practicadas en pacientes con otitis media serosa.

4.10. PROCEDIMIENTOS NO ACEPTABLES

No deben procesarse para cultivo las muestras de exudado nasofaríngeo recogidas para estudio de otitis.

5. SINUSITIS

5.1. INTRODUCCIÓN

Los senos paranasales comprenden el seno frontal, el maxilar, el etmoidal y el esfenoidal. Cada uno de ellos está recubierto por un epitelio ciliado pseudo-estratificado con orificios de drenaje (ostiums) que se abren a la nariz. Cualquier obstrucción de éstos conduce a la alteración de la fisiología normal y potencialmente puede producir sinusitis, cuyas causas son una infección vírica, bacteriana o micótica. A menudo es difícil distinguir de una simple rinofaringitis vírica o de una inflamación sinusal de causa alérgica, y estos dos procesos son importantes factores predisponentes para la aparición de una infección bacteriana de los senos paranasales.

5.2. CONSIDERACIONES CLÍNICAS

5.2.1 Cuadro clínico. Los síntomas de la sinusitis aguda pueden ser inespecíficos y su diagnóstico se fundamenta en una cuidadosa historia clínica y un buen examen físico. La mayoría de los pacientes probablemente sufren una sinusitis de causa vírica. Diferenciar la sinusitis vírica de la sinusitis bacteriana es difícil, debido a que las infecciones víricas preceden a las sinusitis bacterianas. En general se dice que si los síntomas persisten por más de 7 días, son más severos que en la infección vírica o empeoran, se puede diagnosticar una sinusitis bacteriana.

La impresión clínica general es un indicador diagnóstico más seguro de sinusitis aguda bacteriana. El diagnóstico, depende de la presencia de al menos dos síntomas mayores, o un síntoma mayor y dos menores. Los síntomas mayores son: dolor o presión facial, obstrucción nasal, rinorrea purulenta, hiposmia o anosmia. Los síntomas menores son: cefalea, halitosis, dolor dental superior, tos (especialmente en niños), otalgia o presión en oídos.

5.2.2. Etiología. Varios factores pueden contribuir a la obstrucción de los orificios de drenaje:

- Inflamación de la mucosa que obstruye el ostium
- Anormalidades en el sistema ciliar.
- Anormalidades anatómicas y estructurales.
- Sobreproducción de moco.

Las infecciones víricas o los daños del epitelio debilitan las defensas y facilitan la penetración de bacterias a la mucosa sinusal. Las alergias, el decúbito prolongado y el uso de sondas o tubos nasales, también contribuyen a la inflamación de la

mucosa nasal y pueden obstruir el ostium de drenaje de los senos paranasales.

La sinusitis puede estar causada por virus, bacterias u hongos. La mayoría de las veces la etiología es vírica (rinovirus, virus influenza, virus parainfluenza o adenovirus) o alérgica, pero en un pequeño porcentaje de casos, puede aparecer una infección bacteriana secundaria. Esto ocurre especialmente en los niños pequeños en los que las infecciones respiratorias víricas se complican en sinusitis bacteriana. En adultos esta complicación se produce entre el 5-13% de los casos. La probabilidad de que un paciente con síntomas respiratorios sugerentes de sinusitis tenga realmente esta condición no supera el 40%.

Por convención se denomina sinusitis aguda a aquel proceso infeccioso que dura hasta 4 semanas y sinusitis crónica a aquel que dura al menos 3 meses, que recurre más de 3 o 4 veces al año o en las que el tratamiento médico fracasa frecuentemente.

Los agentes etiológicos involucrados en la sinusitis aguda o crónica son diversos, aunque predominan dos especies que explican el 40-90% de los casos. Estas son *S. pneumoniae* (20-35%) y *H. influenzae* (6-26%). En menor frecuencia están los anaerobios (tales como *Bacteroides*, *Fusobacterium* y cocos anaerobios), *M. catarrhalis*, *S. pyogenes*, *S. aureus* y los bacilos gramnegativos. Los bacilos gramnegativos son agentes causantes de sinusitis nosocomial, especialmente en pacientes que sometidos a ventilación mecánica o intubados durante mucho tiempo.

Los hongos son agentes causantes de sinusitis crónica que se produce especialmente en pacientes inmunodeprimidos o con anomalías mecánicas. Los hongos más frecuentes son *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp., los hongos dermatofitos (*Bipolaris spicifera*, *Cladosporium* spp., *Curvularia* spp., y *Alternaria* spp.) y los zigomicetos (*Mucor* spp., y *Rhizopus* spp.).

5.2.3. Diagnóstico. Papel del laboratorio. La aspiración y el cultivo sinusal son de referencia en el diagnóstico de la sinusitis bacteriana. Sin embargo, es un procedimiento invasor, doloroso y que puede llevar a complicaciones y sobre-infecciones. No se realiza de manera rutinaria y se reserva este procedimiento a circunstancias que requieren un diagnóstico microbiológico preciso como sinusitis grave, sinusitis nosocomial, pacientes inmunodeprimidos, complicación local-regional, o mala respuesta al tratamiento antibiótico.

5.3. RECOGIDA DE LA MUESTRA

La obtención de muestras destinadas a establecer el diagnóstico etiológico de la sinusitis puede llevarse a cabo mediante diversos procedimientos:

1. Aspiración de secreciones nasales. Se considera un método poco fiable dada la inevitable contaminación de la muestra por la microbiota habitual del vestíbulo nasal. Es una muestra inaceptable para el diagnóstico de sinusitis aguda, siendo válida para el diagnóstico de invasión fúngica de los senos.

2. Aspiración bajo visión endoscópica del meato medio. Actualmente se considera la técnica de elección dada la buena correlación con los resultados obtenidos mediante aspiración directa del seno (90%). El procedimiento es inocuo y de fácil realización por el especialista. Se lleva a cabo a través de un endoscopio rígido dirigido directamente al meato medio, lo cual permite visualizar la salida de material purulento a través de dicho meato además de la obtención de las muestras.

3. Punción aspirativa sinusal. Es una técnica altamente fiable pero invasiva. Exige la aplicación de anestesia local, causa una hemorragia moderada y no está totalmente exenta de complicaciones. Su práctica debe restringirse a los casos graves.

5.4. TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN DE LA MUESTRA. PROCESAMIENTO DE LA MUESTRA

Todas las muestras clínicas se deben enviar al laboratorio para ser procesadas lo antes posible.

En el caso de los aspirados, se debe inocular una parte de la muestra en un medio de transporte para anaerobios y el resto se introducirá en un contenedor estéril o en la propia jeringa para su envío al laboratorio. Las biopsias se deben transportar en un envase estéril con solución salina. Lo ideal es que todas las muestras clínicas se procesen lo antes posible una vez recibidas en el laboratorio. De no ser posible, deben conservarse a 4°C por un periodo no superior a 24-48 h antes de su procesamiento. Se puede consultar una información más detallada de este proceso en el Procedimiento 1a de la SEIMC (Recogida, transporte y procesamiento general de las muestras en el laboratorio de microbiología).

5.5. SELECCIÓN DE MEDIOS Y CONDICIONES DE INCUBACIÓN

Se debe realizar una tinción de Gram al material obtenido y sembrarlo en medios de agar sangre y agar chocolate. Los cultivos se deben realizar de forma cuantitativa, ya que ninguno de los procedimientos descritos para la toma de muestra, ni siquiera la punción-aspiración sinusal, está totalmente exento del riesgo de contaminación con la microbiota normal. La incubación de los medios se realizará a 35°C en atmósfera con 5% de CO₂ y la lectura se realizará tras 24-48 h de incubación. Se puede prolongar su incubación hasta 4 días si se sospecha la presencia de organismos de crecimiento lento, principalmente en los casos de sinusitis crónica.

En el caso de que la sinusitis sea de origen nosocomial o que en la tinción de Gram se observen bacilos gramnegativos, la muestra también se debe sembrar en un medio de agar MacConkey. Se realizarán cultivos para bacterias anaerobias en sinusitis complicadas o en sinusitis nosocomiales. Se utilizarán medios para cultivo de hongos en el caso de sinusitis crónica. Estos medios deben contener antibióticos, como el medio de agar glucosado de Sabouraud con cloranfenicol y gentamicina o el agar con infusión cerebro-corazón y antibióticos que permite el crecimiento selectivo de los hongos. Los medios con cicloheximida (o actidiona) no se deben

emplear debido a que en la etiología de estas micosis predominan los hongos filamentosos principalmente *Aspergillus* y zigomicetos, que pueden inhibirse por estos antifúngicos. Estos medios se incubarán a 30°C y se realizarán lecturas diarias durante los 5 primeros y posteriormente de forma periódica semanal durante 3-5 semanas de incubación.

5.6. CRITERIOS DE INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Debe evaluarse el tipo y número relativo de microorganismos potencialmente patógenos aislados en cultivo, junto con el resultado de la tinción de Gram, en la que se observaría la presencia y el tipo de células inflamatorias y que supone una ayuda para la interpretación del cultivo.

En la mayoría de los pacientes con sinusitis aguda se aíslan más de 10⁴ UFC/ml, mientras que el hallazgo de menos de 10³ UFC/ml suele corresponder a una contaminación.

El aislamiento de *S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *M. catarrhalis*, o *S. pyogenes* generalmente indica infección, y se deben realizar las pruebas ya descritas anteriormente en este documento para su identificación. La identificación de *S. aureus* o bacilos gramnegativos se realizará solo en el caso de un aislamiento masivo de dichos microorganismos.

Los hongos no se deben identificar a nivel de especie en el caso de sinusitis aguda.

Para una correcta identificación de microorganismos anaerobios debe consultarse el Procedimiento 16 de la SEIMC (Bacterias anaerobias).

5.7. PROCEDIMIENTOS ADICIONALES A REALIZAR EN SITUACIONES ESPECIALES

En casos graves en los que se está realizando un tratamiento antibiótico que puede ocultar la presencia de una infección activa, puede estar indicada la utilización de técnicas de PCR para la detección de algunos microorganismos causales.

5.8. PROCEDIMIENTOS NO ACEPTABLES

En el diagnóstico de la sinusitis, las muestras nasofaríngeas u orofaríngeas, muestras de esputo y de saliva no son aceptables para el cultivo.

6. SÍNDROMES CLÍNICOS PRODUCIDOS POR OTRAS BACTERIAS

6.1. SÍNDROME DE LEMIERRE

6.1.1. Introducción. El síndrome de Lemierre es una entidad clínica caracterizada por una infección orofaríngea aguda que origina una tromboflebitis de la vena yugular interna, así como embolismos sépticos múltiples que afectan preferentemente al pulmón. Afecta principalmente a adolescentes y adultos jóvenes. Es actualmente una enfermedad rara debido al uso generalizado de antibióticos; no obstante es importante tenerla en consideración y mantener un alto índice de sospecha diagnóstica, ya que un tratamiento precoz es esencial para una evolución satisfactoria.

6.1.2. Consideraciones clínicas

6.1.2.1. Cuadro clínico. La presentación típica de esta enfermedad es la fiebre, malestar general, disfagia y antecedentes de faringitis en los días previos. Puede haber induración del borde anterior del esternocleidomastoideo y dolor cervical intenso, que son manifestaciones de tromboflebitis de la vena yugular interna. Los émbolos sépticos desde la vena yugular interna facilitan la diseminación metastásica de la enfermedad y la formación de abscesos en pulmón, hígado, articulaciones y otros lugares.

6.1.2.2. Etiología. El agente causal en la mayor parte de los casos es *Fusobacterium necrophorum*, bacilo gramnegativo, anaerobio estricto, saprofito habitual de la microbiota de la boca. En algunos casos pueden aislarse asociados otros anaerobios como *Fusobacterium nucleatum*, *Bacteroides* o *Peptostreptococcus*.

6.1.2.3. Diagnóstico. Papel del laboratorio. El diagnóstico puede ser difícil por la rareza del cuadro, aunque debe sospecharse ante toda sepsis severa con sintomatología pulmonar en personas jóvenes y con antecedentes recientes de infección orofaríngea, especialmente si existe tumefacción cervical dolorosa. Las técnicas de imagen, como la ecografía *doppler* y la TAC con contraste, se utilizan para diagnosticar la trombosis de la vena yugular interna. El diagnóstico se confirma con el aislamiento microbiológico, en hemocultivos fundamentalmente, del microorganismo responsable.

6.1.3. Recogida de la muestra. El organismo causante se puede aislar en hemocultivos o en cultivos de otras muestras obtenidas de lugares de infección metastásica. Las muestras de sangre se deben procesar según el Procedimiento 3a (Hemocultivos) de la SEIMC.

En los abscesos, empiemas e infecciones de cavidades cerradas las muestras se deben tomar, si es posible, mediante punción percutánea-aspiración. En las infecciones abiertas se deben tomar de la parte profunda, quirúrgicamente por aspiración percutánea o tras la eliminación de los tejidos necróticos superficiales por curetaje o por aspiración. En su defecto, se puede tomar la muestra con un hisopo de la base de la lesión. Se puede consultar una información más detallada de este proceso en el Procedimiento 1a de la SEIMC (Recogida, transporte y procesamiento general de las muestras en el laboratorio de microbiología).

6.1.4. Transporte y conservación de la muestra. Las muestras se deben enviar en medios de transporte para anaerobios. En el mercado se encuentran disponibles tubos, frascos y viales con una atmósfera anaerobia que contienen un medio de transporte reducido y resazurina como indicador de la presencia de oxígeno (Port-A-Cul®, Becton Dickinson). El envío de las muestras al laboratorio de microbiología debe ser inmediato. Se deben transportar manteniéndolas a temperatura ambiente. Las temperaturas de incubación pueden ocasionar el sobrecrecimiento de especies poco exigentes, fundamentalmente anaerobias facultativas, y la pérdida de algunas más sensibles, mientras que las

temperaturas bajas permiten un aumento de la difusión del oxígeno.

6.1.5. Procesamiento de la muestra. Selección de medios y condiciones de incubación. Consultar los Procedimientos 3a (Hemocultivos), y 16 (Bacterias anaerobias), de la SEIMC.

6.1.6. Criterios de interpretación de resultados e información de resultados. Se identificarán los microorganismos presentes en los cultivos. En el caso de infección polimicrobiana no es necesario realizar la identificación a nivel de especie si crecen más de tres especies diferentes.

6.2. ANGINA DE VINCENT

Es una infección de la cavidad oral caracterizada por faringitis, presencia de exudado membranoso, aliento fétido y úlceras orales. Es infrecuente en niños, pero sí se presenta en adultos que tienen una mala higiene bucal, estrés o una enfermedad sistémica grave. Está causada por ciertas especies aerobias como *Borrelia* spp. y anaerobias como *Fusobacterium* spp. Para confirmar el diagnóstico, además de la clínica y la exploración, se debe realizar una tinción de Gram de las úlceras bucales en la que se observarán espiroquetas, bacilos fusiformes y leucocitos polimorfonucleares. El cultivo no es útil para el diagnóstico de esta enfermedad.

6.3. ABSCESOS PERIAMIGDALINO Y FARINGEO

6.3.1. Introducción. El absceso periamigdalino es una colección purulenta localizada entre la cápsula amigdalina, el músculo constrictor superior de la faringe y el músculo palatofaríngeo. Es la complicación más frecuente de una infección amigdalina. El absceso retrofaríngeo afecta fundamentalmente a niños menores de 5 años, en los que se produce la infección de los ganglios linfáticos situados entre la pared posterior de la faringe y la fascia prevertebral. El absceso parafaríngeo se sitúa lateralmente al músculo constrictor superior de la faringe y cerca de la carótida, y suele deberse a la complicación de un absceso periamigdalino, aunque en ocasiones son de naturaleza idiopática.

6.3.2. Consideraciones clínicas

6.3.2.1. Cuadro clínico. El absceso periamigdalino clínicamente se caracteriza porque en el curso de una amigdalitis aguda, aparece odinofagia y disfagia intensa, otalgia refleja, mal estado general y fiebre elevada, trismus, y voz gangosa con sialorrea. A la exploración se aprecia un abombamiento unilateral de la amígdala hacia la línea media con el consiguiente desplazamiento de la úvula hacia el lado sano. La palpación de los ganglios linfáticos de la región mandibular suele ser dolorosa.

El absceso retrofaríngeo se manifiesta con fiebre elevada, odinofagia acentuada que puede comprometer la alimentación, e incluso estridor y disnea por obstrucción de la vía aérea. A la exploración se aprecia un abombamiento en la pared faríngea posterior. Este signo es difícil de detectar en niños pequeños debido al tamaño de la orofaringe y al acúmulo de secreciones en la hipofaringe y en la cavidad oral. Los síntomas más frecuentes del

absceso parafaríngeo son el dolor y tumefacción cervical, seguido por la odinofagia y en menor medida por el trismus y tortícolis. Si un paciente con absceso periamigdalino presenta una clínica atípica, como cierta profusión de pared faríngea, edema de epiglotis, o los síntomas anteriormente indicados, se debe sospechar una extensión al espacio parafaríngeo. Asimismo, la imagen típica de abombamiento amigdalario y el desplazamiento contralateral de la úvula son signos menos evidentes si el absceso periamigdalino se ha convertido en parafaríngeo.

6.3.2.2. Etiología. Suele tratarse de una infección polimicrobiana con participación de la microbiota aerobia (*S. pyogenes*, *S. aureus*, *H. influenzae*) y anaerobia (*Prevotella*, *Porphyromonas*, *Fusobacterium*, y *Peptostreptococcus* spp.).

6.3.2.3. Diagnóstico. Papel del laboratorio. La presencia del absceso se confirma mediante la punción-aspiración. La colección extraída se enviará al laboratorio para cultivo. Las exploraciones de imagen como la TAC o la resonancia magnética dan a conocer la extensión del absceso.

6.3.3. Recogida de la muestra. Se extraerá material purulento tras la punción con aguja o bien por incisión o drenaje. Para una información más detallada de este proceso puede consultarse el Procedimiento 1a de la SEIMC (Recogida, transporte y procesamiento general de las muestras en el laboratorio de microbiología).

6.3.4. Transporte y conservación de la muestra. El material del absceso se debe introducir en un medio de transporte para anaerobios. La conservación se deberá efectuar a temperatura ambiente durante el menor tiempo posible.

6.3.5. Procesamiento de la muestra. Selección de medios y condiciones de incubación. Se debe realizar una tinción de Gram de la muestra y sembrarla en medios de agar sangre, agar chocolate, agar MacConkey y en medios de cultivo para anaerobios. Para una información más detallada de este proceso puede consultarse en el Procedimiento 16 de la SEIMC (Bacterias anaerobias).

Los cultivos para bacterias aerobias se incubarán a 35-37°C en atmósfera con 5% de CO₂ durante 24-48 horas y los de bacterias anaerobias a 35-37°C en el sistema de anaerobiosis disponible.

6.3.6. Criterios de interpretación de resultados e información de resultados. Se identificarán los microorganismos presentes en los cultivos. En el caso de infección polimicrobiana en el que ningún microorganismo es predominante se identificarán los tres microorganismos más frecuentes y se informará como "flora mixta".

6.4. DIFTERIA

6.4.1. Introducción. La difteria es una enfermedad distribuida por todo el mundo, fundamentalmente en zonas urbanas pobres donde el hacinamiento y el grado de protección de la inmunidad inducida por la vacuna es bajo. La mayor epidemia del final del siglo XX tuvo lugar en la antigua Unión Soviética por haber descuidado la administración sistemática de la

vacuna, donde en 1994 se documentaron casi 48.000 casos con 1746 fallecimientos. Debido a los programas de inmunización activa la difteria se ha convertido en una enfermedad infrecuente en nuestro medio. La difteria es fundamentalmente una enfermedad pediátrica, pero en las zonas donde hay programas de inmunización activa para niños, la incidencia más elevada se observa en los grupos de más edad.

6.4.2. Consideraciones clínicas

6.4.2.1. Cuadro clínico. Cuando el microorganismo *Corynebacterium diphtheriae* llega al sujeto susceptible, inicia su multiplicación. Su virulencia está relacionada con la capacidad de elaborar y excretar toxina desde el foco local, ya que no produce bacteriemia, lo cual explica las manifestaciones locales y los efectos tóxicos a distancia (miocardio, sistema nervioso, riñón, etc.). Las lesiones se localizan en la mucosa respiratoria del tracto respiratorio superior y tras 2-4 días de periodo de incubación, las cepas lisógenas elaboran la toxina, que a nivel local dan lugar a fenómenos necróticos, inflamatorios y exudativos que condicionan un ambiente propicio para el crecimiento del microorganismo y para que siga elaborando más toxinas. Por su parte las células epiteliales necróticas, los leucocitos, hematíes, material fibrinoide y los propios bacilos diftéricos junto a otros microorganismos presentes en la mucosa respiratoria dan lugar a las típicas membranas diftéricas en las que se elabora y libera la exotoxina. Estas membranas en ocasiones producen un auténtico molde del árbol respiratorio.

Las manifestaciones clínicas tóxicas, a distancia, aparecen tras un periodo latente variable, de 10-14 días para la miocarditis y de 3-7 semanas para las neuritis periféricas. Hay que resaltar que es necesario instaurar precozmente el tratamiento con antitoxina ya que esta puede neutralizar la toxina circulante o la toxina absorbida por las células pero es ineficaz una vez que la toxina ha penetrado la célula. Las complicaciones más frecuentes son la miocarditis y la neuritis.

6.4.2.2. Etiología. El agente etiológico de la difteria es *C. diphtheriae* (del cual se conocen 4 biotipos: *gravis*, *mitis*, *intermedius* y *belfanti*) así como algunas cepas de *C. ulcerans* y *C. pseudotuberculosis*. Todos pueden portar el gen de la toxina diftérica, que se introduce en las cepas de *C. diphtheriae* mediante un fago lisogénico. Investigaciones posteriores a esta clasificación en biotipos demostraron que todos los tipos producen la misma toxina con diferencias más cuantitativas que cualitativas y que incluso las formas graves y mortales pueden estar condicionadas por el tipo *mitis*, por lo que esta clasificación, distinguiendo tipos, no tiene mayor interés práctico.

C. diphtheriae resiste bien la desecación y las bajas temperaturas (hasta 1 año en los cultivos conservados en la oscuridad), mientras que resiste poco la luz solar directa, por lo que se trata de una enfermedad "heliófaga" y esto explica que los microorganismos virulentos pueden permanecer con

capacidad de contagio en juguetes, libros, muebles, etc. durante largo tiempo.

6.4.2.3 Diagnóstico. Papel del laboratorio. En nuestro país, la difteria es una enfermedad erradicada y su reaparición sería excepcional. El cribado de especies de *Corynebacterium* se recomienda únicamente en las siguientes circunstancias:

1) Paciente con uno de los siguientes factores de riesgo:

- Faringitis membranosa.
- Viaje en los 10 días previos o contacto con alguien que haya viajado recientemente a países de la antigua Unión Soviética, África, América del Sur o Sudeste asiático.
- Consumo de productos lácteos sin pasteurizar o contacto con animales domésticos (*C. ulcerans*).
- Trabajo en un laboratorio donde se manipulen cepas de *C. diphtheriae*.

2) Paciente con úlceras crónicas o lesiones cutáneas y uno de los siguientes factores de riesgo:

- Viaje reciente a regiones tropicales.
- Contacto con viajeros recientes a zonas tropicales.
- Trabajo en un laboratorio donde se manipulen cepas de *C. diphtheriae*.

Dada la rareza de la enfermedad y su potencial gravedad, ante la sospecha clínica debe alertarse al laboratorio y enviarse una muestra para cultivo. El diagnóstico se confirma con el aislamiento de *C. diphtheriae* en el cultivo y la comprobación de su capacidad toxigénica, mediante el test de Elek o bien mediante inoculación animal, en el caso de que el primero sea negativo.

6.4.3. Recogida de la muestra. Se debe recoger la muestra de secreción faríngea mediante el empleo de un hisopo de algodón estéril. Si existe presencia de pseudomembrana, se debe obtener desde el borde de la misma, idealmente en profundidad. En caso de sospecha de difteria cutánea se debe obtener una muestra de la zona de la piel afectada y también una muestra faríngea.

6.4.4. Transporte y conservación de la muestra. El hisopo se deberá introducir en un tubo con medio de transporte (Amies gel, Cary Blair, Stuart o similar). La conservación se deberá efectuar a temperatura ambiente durante el menor tiempo posible.

6.4.5. Procesamiento de la muestra. El procesamiento de la muestra es el siguiente:

- Se realizará una tinción de Gram directa de muestra donde se observarán bacilos grampositivos difterimorfos dispuestos en V, letras chinas y/o empalizada.

- Se sembrará en los siguientes medios de cultivo:

- a) Agar con sangre de cordero al 5%. En este medio *C. diphtheriae* forma colonias de tamaño medio (1-2 mm de diámetro) de color gris pizarra.
- b) Agar sangre con cistina y telurito (ASCT): es una modificación del agar Tinsdale y ambos son medios selectivos y diferenciales para *C. diphtheriae* en los que este microorganismo forma colonias negro-grisáceas.

c) Medio de Loeffler: es un medio enriquecido no selectivo.

Los medios de cultivo se incubarán a 35-37°C en atmósfera con 5% de CO₂ durante 24-48 horas.

Sólo algunos laboratorios disponen de pruebas serológicas, aunque estas no sirven de mucha ayuda para iniciar el tratamiento, ya que la presencia de bajos niveles de anticuerpos no indican necesariamente enfermedad, y altos niveles de anticuerpos inducidos por la vacunación no suponen tampoco una enfermedad.

6.4.6. Criterios de interpretación de resultados. De las colonias sospechosas en los cultivos se realizará una tinción de Gram donde se observarán bacilos grampositivos pleomórficos.

Hay algunos sistemas comercializados que identifican *C. diphtheriae* mediante pruebas bioquímicas. Este microorganismo es catalasa positiva, ureasa negativa, reduce los nitratos, y fermenta la glucosa, la maltosa y la ribosa.

El diagnóstico de confirmación se efectúa en laboratorios de referencia determinando la capacidad toxigénica de la cepa mediante el test de Elek e inoculación animal en caso que el primero sea negativo, como ya se indicó anteriormente.

6.4.7. Procedimientos adicionales. El Laboratorio de Referencia de la Difteria de los CDC (*Diphtheria Reference Laboratory at the Centers for Disease Control and Prevention*) de Atlanta diseñó y evaluó la detección rápida de la toxina de la difteria mediante la prueba TaqMan® PCR y consiste en la detección inmediata, en muestras clínicas, de la secuencia del gen de la toxina por medio de una técnica de PCR cuantitativa en tiempo real. Las investigaciones preliminares subrayan las ventajas, entre las que se incluyen: una sensibilidad diez veces superior que la detección del gen de la toxina por PCR convencional estándar, eliminación de la manipulación posterior a la amplificación, obtención de un rendimiento elevado y la cuantificación sencilla de los productos amplificados. Las evaluaciones realizadas adicionalmente pueden convertir al formato TaqMan® PCR en una valiosa herramienta que sustituya al método estándar de detección por PCR del gen de la toxina directamente a partir de material clínico. Sin embargo, el coste de inversión inicial limita su aplicación a los laboratorios de referencia centrales.

6.4.8. Información de resultados. Si en la tinción de Gram de la muestra se observan bacilos grampositivos de morfología característica (dispuestos en V, letras chinas y/o empalizada), el laboratorio debe entregar un informe preliminar donde se indique: "bacilos grampositivos difterimorfos". Posteriormente se enviará el informe definitivo como *C. diphtheriae* cuando se haya confirmado.

7. CANDIDIASIS

7. 1. INTRODUCCIÓN

Las micosis de la cavidad oral son frecuentes y habitualmente de carácter leve o moderado. Se observan especialmente en pacientes portadores de prótesis o con inmunodeficiencias.

La mayor parte de las candidiasis orales son asintomáticas y más frecuentes en lactantes, ancianos y personas con factores predisponentes generales o locales. La infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) es un importante factor predisponente y, en personas con SIDA, estas lesiones pueden ser indicadoras de la evolución de la enfermedad.

7.2. CONSIDERACIONES CLÍNICAS

7.2.1. Cuadro clínico. La candidiasis orofaríngea puede ser asintomática o producir dolor o sensación de mal sabor de boca. Se describen cuatro formas de candidiasis orofaríngea:

- Candidiasis pseudomembranosa o muguet: se caracteriza por las típicas lesiones blanquecinas cremosas, adheridas a la mucosa bucal, que dejan un área eritematosa cuando se desprenden. Afecta sobre todo a la mucosa bucal, labios y paladar.
- Candidiasis atrófica: se manifiesta como un eritema brillante con pérdida de papilas en la lengua y en toda la cavidad oral.
- Candidiasis hiperplásica crónica: se caracteriza por áreas eritematosas de distribución simétrica junto a lesiones blanquecinas sobre elevadas que no se desprenden. Es la forma menos frecuente.
- Queilitis angular: existe eritema y grietas o fisuras en las comisuras labiales.

7.2.2. Etiología. La mayoría están producidas por *Candida albicans* y, en menor medida, por otras especies de *Candida* como *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, y *C. glabrata*.

7.2.3. Diagnóstico. Papel del laboratorio. Para el diagnóstico de candidiasis orofaríngea suele ser suficiente la clínica. El cultivo no suele ser necesario a menos que se produzca en un paciente con una enfermedad crónica o con una mala respuesta al tratamiento.

7.3. RECOGIDA DE LA MUESTRA

La recogida irá precedida de un enjuague con agua o solución salina. Las lesiones pseudomembranosas y las secreciones se deben recoger con una torunda o hisopo de algodón estéril. Para una información más detallada de este proceso se puede consultar el Procedimiento 1a de la SEIMC (Recogida, transporte y procesamiento general de las muestras en el laboratorio de microbiología).

7.4. TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN DE LA MUESTRA

Todas las muestras clínicas deben ser enviadas al laboratorio para su procesamiento lo antes posible (en menos de 2 horas desde su recogida). Las torundas o hisopos de algodón se deben introducir en un medio de transporte para microorganismos aerobios (medio de Stuart modificado, Amies o similar). Las muestras recogidas mediante enjuague o lavado oral se transportarán en un envase estéril. Estas muestras no necesitan refrigerarse para su transporte ya que la temperatura ambiente no va a afectar a la supervivencia de los hongos presentes en ellas.

Lo ideal es que todas las muestras clínicas se procesen lo antes posible una vez recibidas en el laboratorio. De no ser posible, deben conservarse a 3-6°C hasta media hora antes de su procesamiento. El tiempo que se pueden mantener las muestras refrigeradas es difícil de establecer, pero éste no debería sobrepasar las 48 h.

7.5. PROCESAMIENTO DE LA MUESTRA

El procesamiento de la muestra incluye la observación directa al microscopio y el cultivo en un medio apropiado.

La observación microscópica en fresco, se realiza habitualmente utilizando un líquido de aclarado (KOH, NaOH), colorantes (tinta, azul de metileno, fucsina), blanco de calcoflúor o similares (blankophor, Univitex). Si se emplea el blanco de calcoflúor, las levaduras, hifas y pseudohifas adquieren una fluorescencia blanco azulada o amarillo verdosa, según el filtro utilizado, resaltando nítidamente sobre el fondo más oscuro.

Con las muestras obtenidas también se pueden realizar frotis o improntas. Estas preparaciones son más duraderas y permiten realizar lecturas posteriores para confirmar o desechar anteriores conclusiones. Una tinción rápida de los frotis, como la de Gram, puede facilitar la visión de las levaduras y pseudomicelios de *Candida* o las estructuras de los hongos filamentosos que se tiñen de color violeta o azul oscuro intenso. También se puede utilizar una tinción de Giemsa (de utilidad más limitada) o de PAS que permite apreciar mejor las estructuras fúngicas.

7.6. SELECCIÓN DE MEDIOS Y CONDICIONES DE INCUBACIÓN

La mayoría de los organismos levaduriformes crecen fácilmente en un gran número de medios de cultivo usados rutinariamente en el laboratorio de microbiología (agar sangre, agar chocolate, agar CLED, etc). Sin embargo el agar glucosado de Sabouraud (AGS), con o sin antibióticos añadidos, es el medio de aislamiento por excelencia para la identificación de levaduras. En el medio AGS las colonias de levaduras suelen ser completas, ligeramente abombadas o planas, de consistencia mantecosa, lisa o rugosa, con olor dulzón agradable, volviéndose más pastosas a medida que la colonia envejece. Por lo general, las colonias de levaduras no desarrollan micelio aéreo, aunque en ocasiones pueden aparecer prolongaciones aracneiformes en la periferia de las colonias.

Los cultivos se incuban a 30°C y 37°C, si esto no fuera posible, las muestras orales se incubarán a 37°C.

7.7. CRITERIOS DE INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Consultar el Procedimiento 21 de la SEIMC (Diagnóstico microbiológico de las micosis y estudios de sensibilidad a los antifúngicos).

7.8. INFORMACIÓN DE RESULTADOS

La evaluación de un cultivo de muestras orales con colonias fúngicas no puede realizarse de forma independiente de la presencia de lesiones compatibles con candidiasis oral, ya que *Candida* spp. forma parte de la microbiota habitual de la cavidad oral. También es importante valorar el número de colonias en los medios de cultivo y su relación con lo observado en la tinción del frotis oral.

7.9. PROCEDIMIENTOS NO ACEPTABLES

No se deben realizar pruebas de sensibilidad a antifúngicos, salvo un fallo objetivo del tratamiento.

8. ZIGOMICOSIS

8.1. INTRODUCCIÓN

Las zigomicosis son un grupo heterogéneo de infecciones causadas por hongos oportunistas miceliares ubicuos y generalmente saprofitos. Los zigomicetos son hongos ubicuos de distribución mundial que tienen relativamente poco grado de patogenicidad, salvo cuando existen factores predisponentes siendo la acidosis metabólica el más implicado. Otros factores son la inmunosupresión, ruptura de barreras, enfermedades crónicas debilitantes, administración de corticoesteroides o antibióticos de amplio espectro. El uso de desferroxamina se ha asociado con distintas presentaciones de la zigomicosis pero no con la cutánea. La infección se origina al germinar las esporas del hongo y al producirse el crecimiento invasor de las hifas.

8.2. CONSIDERACIONES CLÍNICAS

8.2.1. Cuadro clínico. El cuadro típico de la mucormicosis es la *rinocerebral*, que se caracteriza por una sinusitis aguda, rápidamente progresiva, que invade los vasos sanguíneos y se extiende a la zona orbital y el cerebro. La especie que causa con mayor frecuencia esta infección es *Rhizopus oryzae*. Se han descrito otros tipos de mucormicosis, como la cutánea, la subcutánea, la gastrointestinal, la pulmonar e infecciones diseminadas.

Las *entomoforamosis* son cuadros crónicos que suelen afectar al tejido subcutáneo o a la mucosa nasofaríngea. *Basidiobolus ranarum* origina micosis subcutáneas en la cara, en el cuello y en el tórax y *Conidiobolus coronatus* causa una infección caracterizada por pólipos nasales. Ambos hongos son endémicos en zonas tropicales de América del Sur, África, Sudeste asiático y Australia. En los últimos años se han descrito infecciones diseminadas mortales en enfermos con SIDA.

8.2.2. Etiología. Los zigomicetos pertenecen a la división *Zygomycota*, clase *Zygomycetes*, la cual está formada, según las últimas revisiones taxonómicas, por tres órdenes: *Mucorales*, *Entomophthorales* y *Mortierellales*. Las infecciones por *Mucorales* reciben el nombre de *mucormicosis*, entre las que existen infecciones localizadas y diseminadas. Los *Entomophthorales* causan infecciones cutáneas y subcutáneas crónicas, que reciben el nombre de *entomoforamosis*. Los *Mortierellales* son patógenos

animales, principalmente del ganado bovino, y hasta la fecha no existen casos confirmados de infección en humanos.

8.2.3. Diagnóstico. Papel del laboratorio. El diagnóstico de las zigomicosis se basa en el aislamiento e identificación del hongo causal, en el curso de un cuadro clínico compatible.

8.3. RECOGIDA, TRANSPORTE Y PROCESAMIENTO DE LA MUESTRA

La mayor rentabilidad se consigue con el material de biopsia de los tejidos necróticos, aunque lo ideal es realizar diagnósticos más precoces a partir de material extraído por punción aspiración o drenaje de los senos en caso de alta sospecha clínica. Consultar el Procedimiento 21 de la SEIMC (Diagnóstico microbiológico de las micosis y estudios de sensibilidad a los antifúngicos).

8.4. SELECCIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO Y CRITERIOS DE INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Debido a que los *Zygomycota* son muy sensibles a los cambios medioambientales, no crecen bien en los cultivos y en el 50% de las zigomicosis no se consigue aislar el organismo causal, aunque éste se haya observado en los exámenes microscópicos. No obstante, los *Zygomycota* se caracterizan por presentar hifas coenocíticas, es decir, hifas gruesas escasamente tabicadas, por lo que la visión de una hifa de estas características en una biopsia puede ayudar a diagnosticar una zigomicosis. Las técnicas serológicas no colaboran en el diagnóstico, aunque se están diseñando pruebas de detección de antígenos que quizá tengan utilidad en un futuro. Existen estudios novedosos en diagnóstico por PCR. Consultar el Procedimiento 21 de la SEIMC (Diagnóstico microbiológico de las micosis y estudios de sensibilidad a los antifúngicos)

8.5. INFORMACIÓN DE RESULTADOS

Cualquier aislamiento presuntivo de un zigomiceto con clínica compatible debe informarse inmediatamente, dada la gravedad de esta infección. Posteriormente se continuará en el laboratorio con la identificación de la especie implicada.

9. BIBLIOGRAFIA

9.1. FARINGITIS

1. Bisno AL., Gerber MA., Gwaltney JM et al. 2002. Practice guidelines for diagnosis and management of group A streptococcal pharyngitis. Clin Infect Dis 35: 113-125.
2. Committee on Infectious Diseases. 2003. Group A streptococcal infection, pp. 573-584. In LK Pickering (ed.), 2003 red book American Academy of Pediatrics, Elk Grove Village, IU.
3. Chapin KC., Blake P., Wilson CD. 2002. Performance characteristics and utilization of rapid antigen test, DNA Probe, and culture for detection of group A Streptococci in an acute care clinic. J Clin Microbiol 40: 4207-4210.
4. Dierksen KP., Tagg JR. 2000. Haemolysin-deficient variants of *Streptococcus pyogenes* and *S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis* may be overlooked as aetiological agents of pharyngitis. J Med Microbiol 49: 811-816.

5. Gerber MA., Shulman ST. 2004. Rapid diagnosis of pharyngitis caused by group A streptococci. *Clin Microbiol Rev* 17: 571-580.
6. Isenberg HD. 2003. Respiratory Tract Cultures, 3.11.1.1 in *Clinical Microbiology Procedures Handbook*, 2nd ed. Vol.1 ASM Press, Washington, D.C.
7. Mackensie A., Fuite LA, Chan FT et al. 1995. Incidence and pathogenicity of *Arcanobacterium haemolyticum* during a two year study in Ottawa. *Clin Infect Dis* 21:177-181.
8. Page-Shafer K., Graves A., Kent C. et al. 2002. Increased sensitivity of DNA amplification testing for detection of pharyngeal gonorrhoea in men who have sex with men. *Clin Infect Dis* 34:173-176.
9. Rose FB., Camp CJ., Antes EJ. 1987. Family outbreak of fatal *Yersinia enterocolitica* pharyngitis. *Am J Med* 82: 636-637.
10. Singh S., Dolan JG., Centor RM. 2006. Optimal management of adults with pharyngitis – a multi-criteria decision analysis. *BMC Medical Informatics and Decision Making*. 6: 14. <http://www.biomedcentral.com/1472-6947/6/14>.
11. Ticket CO., Davis BR., Carter GP et al. 1983. *Yersinia enterocolitica* pharyngitis. *Ann Intern Med* 1983 99:40-42.
12. Turner JC., Hayden FG., Lobo MC et al. 1997. Epidemiologic evidence for Lancefield group C beta-hemolytic streptococci as a cause of exudative pharyngitis in college students. *J Clin Microbiol* 35: 1-4.

9.2. EPIGLOTITIS

1. Gwaltney, J. M. 1995. Sinusitis, p. 585-590. In G. L. Mandell, J. E. Bennett, and R. Dolin (ed.), *Mandell, Douglas and Bennett's principles and practices of infectious diseases*. Churchill Livingstone, Inc., New York, N.Y.
2. Isenberg HD. 2003. Respiratory Tract Cultures, 3.11.1.1 in *Clinical Microbiology Procedures Handbook*, 2nd ed. Vol.1 ASM Press, Washington, D.C.
3. Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC. 2003. *Manual of Clinical Microbiology*, Eighth Edition. American Society for Microbiology, Washington, D.C.; 2003.
4. Pérez Trallero E, Vicente Anza D. Infecciones de las vías respiratorias superiores. En: *Tratado SEIMC de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. Ed. Médica Panamericana 2006. pp.1201-1208.
5. Waites KB, Saubolle MA, Talkington DF, et al. *Cumitech 10A: laboratory diagnosis of upper respiratory tract infections*. Sharp SE, coordinating ed. Washington, DC: ASM Press, 2006.

9.3. OTITIS

1. Hendolin PH, Paulin L, Ylikoski J. 2000. Clinically applicable multiplex PCR for four middle ear pathogens. *J Clin Microbiol* ; 38: 125-132.
2. Klein JO. Otitis externa, otitis media, and mastoiditis. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, editors. *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*. Edinburgh: Churchill Livingstone; 2000. p.669-775.
3. Pechère JC, Garau J, Gehanno P. 1997. Acute otitis media. *Clin Microbiol Infect*; 3, suppl 3 : 3S1-3S25.
5. Simonet M, De Briel D, Boucot I, Minck R, Veron M. 1993. Coryneform bacteria isolated from middle ear fluid. *J Clin Microbiol*; 31:1667-1668.

9.4. SINUSITIS

1. Gwaltney, J. M. 1995. Sinusitis, p. 585-590. In G. L. Mandell, J. E. Bennett, and R. Dolin (ed.), *Mandell, Douglas and Bennett's principles and practice of infectious diseases*. Churchill Livingstone, Inc., New York, N.Y.

2. Isenberg HD. 2003. Respiratory Tract Cultures, 3.11.1.1 in *Clinical Microbiology Procedures Handbook*, 2nd ed. Vol.1 ASM Press, Washington, D.C.
3. Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC. 2003. *Manual of Clinical Microbiology*, Eighth Edition. American Society for Microbiology, Washington, D.C.; 2003.
4. Pérez Trallero E, Vicente Anza D. Infecciones de las vías respiratorias superiores. En: *Tratado SEIMC de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. Ed. Médica Panamericana 2006. pp.1201-1208.

9.5. SINDROMES CLÍNICOS PRODUCIDOS POR OTRAS BACTERIAS

1. Efstratiou A, George RC. 1996. Microbiology and epidemiology of diphtheria. *Reviews in Medical Microbiology*;7 :31–42.
2. Efstratiou A., K. Engler, C. Dawes, and D. Sesardic. 1998. Comparison of phenotypic and genotypic methods for detection of diphtheria toxin among isolates of pathogenic corynebacteria. *J. Clin. Microbiol.* 36:3173-3177.
3. Isenberg HD. 2003., in *Clinical Microbiology Procedures Handbook*, 2nd ed. Vol.1 ASM Press, Washington, D.C.
4. Jousimies-Somer HR, Summanen PH, Wexler H, Finegold SM, Gharbia SE, Shah HN. *Bacteroides, Porphyromonas, Prevotella, Fusobacterium*, and other anaerobic gram-negative bacteria. En: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC editores. *Manual of Clinical Microbiology*, Eighth Edition. American Society for Microbiology, Washington, D.C.; 2003. pp. 880-901.
5. Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC. 2003. *Manual of Clinical Microbiology*, Eighth Edition. American Society for Microbiology, Washington, D.C.; 2003.
6. *Procedimientos en Microbiología Clínica*. 2003. 1a. Recogida, transporte y procedimiento general de las muestras en el laboratorio de microbiología. 2ª ed. Coord. Sánchez-Carrillo C. SEIMC.
7. Waites KB, Saubolle MA, Talkington DF, et al. *Cumitech 10A: laboratory diagnosis of upper respiratory tract infections*. Sharp SE, coordinating ed. Washington, DC: ASM Press, 2006.

9.6. CANDIDIASIS

1. Cuenca-Estrella M. Infecciones por *Candida* spp. Infecciones superficiales y profundas, 8ª ed, vol. 68. Ediciones Doyma S.L., Barcelona. 2002
2. Merz WG, Roberts GD. Detection and recovery of fungi from clinical specimens. En: P. R. Murray, E. J. Baron, M. A. Pfaller, F. C. Tenover, and R. H. Tenover (ed.), *Manual of Clinical Microbiology*. American Society for Microbiology, Washington D.C. 1999. pp. 588-600.
3. Pemán J, Martín-Mazuelos E, Rubio MC. Guía práctica de identificación y diagnóstico en Micología Clínica, 2 ed. Revista Iberoamericana de Micología, Bilbao. 2006.
4. *Procedimientos en Microbiología Clínica*. 2006. 21. Diagnóstico microbiológico de las micosis y estudios de sensibilidad a los antifúngicos. 2ª ed. Coord. Gadea I. SEIMC.

9.7. ZIGOMICOSIS

1. De Hoog GS, Guarro J. Atlas of clinical fungi. Centralbureau voor Schimmelcultures/ Universitat Rovira y Virgili. Baarn and Delf, The Netherlands, Universitat Rovira y Virgili, Reus, Spain. 2000.
2. Eucker, J., O. Sezer, B. Graf, and K. Possinger. 2001. *Mucormycoses*. *Mycoses* 44:253-260
3. Isenberg HD. 2003. Respiratory Tract Cultures, 3.11.1.1 in *Clinical Microbiology Procedures Handbook*, 2nd ed. Vol.1 ASM Press, Washington, D.C.

4. Machouart M, Larché J, Burton K, Collomb J, Maurer P, Cintrat A, Biava MF, Greciano S, Kuijpers AFA, Contet-Audonneau de Hoog NGS, Gérard A, Fortier B. 2006. Genetic identification of the main opportunistic mucorales by PCR-restriction fragment length polymorphism. *J Clin Microbiol*; 44: 805–810.
5. Procedimientos en Microbiología Clínica. 2006. 21. Diagnóstico microbiológico de las micosis y estudios de sensibilidad a los antifúngicos. 2ª ed. Coord. Gadea I. SEIMC.

PNT-ITRS-01
DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO DE INFECCIONES FARINGEAS

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

EDICIÓN	FECHA	ALCANCE MODIFICACIONES
01		Edición inicial

COPIA REGISTRADA N°..... 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.....	Diagnóstico microbiológico de infecciones faringneas	PNT-ITRS-01	
		Edición N° 01	Página 2 de 3

1. PROPOSITO Y ALCANCE

Descripción de la sistemática de procesamiento, lectura e interpretación de cultivos faríngeos para el diagnóstico microbiológico de faringitis fundamentalmente estreptocócica. Ocasionalmente y bajo sospecha clínica se admitirán muestras para investigar la presencia de *N. gonorrhoeae*, *Corynebacterium diphtheriae* (ver documento técnico PNT-ITRS-04), y bacterias anaerobias (Angina de Vincent).

2. FUNDAMENTO

El principal objetivo del diagnóstico de la faringitis aguda consiste en diferenciar los casos de etiología vírica común, que son los que predominan y no requieren tratamiento antimicrobiano, de los producidos por *S. pyogenes*, y descubrir e identificar los casos ocasionales producidos por microorganismos poco frecuentes. Esta diferenciación resulta crítica, ya que a la mayoría de los pacientes que van a la consulta del médico se les prescriben antibióticos innecesarios. La naturaleza inespecífica de los signos y síntomas clínicos que acompañan a las faringitis obligan a que los clínicos confíen en los hallazgos del laboratorio y remitan muestras adecuadas para obtener un diagnóstico microbiológico.

3. DOCUMENTOS DE CONSULTA

- Procedimiento n° 10 de la SEIMC (Seguridad en el laboratorio de microbiología).
- Procedimiento n° 1a de la SEIMC (Recogida, transporte y procesamiento general de las muestras en el laboratorio de microbiología).
- Manuales de instrucciones de las técnicas aplicadas (sistemas de detección de antígenos).

4. TOMA DE MUESTRAS

4.1. VOLANTE DE PETICIÓN

El volante de petición que acompaña a cada muestra debe ser estrictamente cumplimentado y en él deberá constar la filiación, edad, número de historia, servicio de procedencia, tipo de muestra, tratamiento previo, diagnóstico del enfermo y sistema de identificación del clínico peticionario.

4.2. RECOGIDA DE LA MUESTRA (EXUDADO FARÍNGEO)

- Utilizar un depresor
- La muestra se obtendrá con uno o dos hisopos de Dacron o alginato cálcico
- Realizar la toma del área amigdalár y de la faringe posterior, así como de cualquier área inflamada o ulcerada.
- No realizar la toma si la epiglotitis está inflamada.

4.3. TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN DE LA MUESTRA

Se enviará la muestra al laboratorio en una torunda con medio de transporte de tipo Amies. La

muestra se trasladará lo más rápidamente posible al laboratorio después de su obtención. El límite para aceptar la muestra en el laboratorio es un máximo de 24 horas a temperatura ambiente. Para una información más detallada de este proceso puede consultarse el Procedimiento 1a de la SEIMC (Recogida, transporte y procesamiento general de las muestras en el laboratorio de microbiología).

4.4. CRITERIOS DE ACEPTACIÓN Y RECHAZO

Se procederá al rechazo de la muestra si se observan las siguientes incidencias relacionadas con la misma:

- Defectos encontrados en la identificación y cumplimentación del volante
- Mala conservación
- Torundas sin medio de transporte

5. MEDIOS DE CULTIVO, REACTIVOS Y PRODUCTOS

Medios de cultivo:

- Agar con sangre de carnero al 5%
- Alternativa: agar sangre selectivo con antibióticos (colistina, ácido nalidíxico, CNA)
- Thayer-Martin, Martin-Lewis, New York City o GC (en caso de sospecha de *N. gonorrhoeae*)

Reactivos y productos:

- Disco con 0,04 U de bacitracina,
- Pirrolidónilaramidasa (PYR)
- Sistemas comercializados para detección del antígeno de estreptococos beta-hemolíticos.
- Paneles de identificación caseros o comerciales.
- Colorantes para tinción de Gram
- Sistemas comerciales generadores de atmósfera con 5% CO₂ y de anaerobiosis.

6. APARATOS Y MATERIAL

- Microscopio óptico
- Estufa de cultivo con control diario de temperatura
- Jarras de incubación
- Asas de siembra estériles.

7. PROCESAMIENTO DE LA MUESTRA

Ante sospecha de Angina de Vincent realizar únicamente una tinción de Gram, no es necesario realizar cultivo.

7.1. SIEMBRA

Con la torunda se procederá a la inoculación de la muestra en una placa de agar sangre (preferentemente agar sangre de carnero al 5%). En el caso de sospecha de *N. gonorrhoeae* se sembrará también en medio Thayer-Martin, Martin-Lewis, New York City o GC.

Rotar toda la superficie de la torunda sobre el primer cuadrante de la placa donde se inocula la muestra. A continuación extender la muestra con un asa estéril por los tres cuadrantes restantes de la placa, con el fin de obtener colonias bien aisladas. Finalmente se harán varias incisiones en el medio de agar sangre con la misma asa utilizada para la

Servicio de Microbiología Hospital.....	Diagnóstico microbiológico de infecciones faringéas	PNT-ITRS-01	
		Edición N° 01	Página 3 de 3

siembra, para favorecer la visualización de la beta-hemólisis que sugiere la posible presencia de *S. pyogenes*.

7.2. CONDICIONES DE INCUBACIÓN

- Agar-sangre/agar sangre selectivo: incubar en estufa con 5-10% de CO₂ y 35°C durante 24-48 h. (otra alternativa puede ser la incubación en anaerobiosis durante 48 horas a 35°C).
- Thayer-Martin, Martin-Lewis, GC. Incubar en estufa con 5% de CO₂ a 35° C durante 48 h.

7.3. LECTURA

Examinar la placa o placas a las 18-24 h. de incubación, si no existe crecimiento bacteriano prolongar la incubación 24 h. más y realizar una nueva lectura.

8. OBTENCION Y EXPRESION DE RESULTADOS

8.1. TINCIÓN DE GRAM:

- Informar si hay microorganismos que sugieren la Angina de Vincent.

8.2. CULTIVO:

- Informar la presencia de *Streptococcus pyogenes* y de los aislamientos de estreptococos beta-hemolíticos de los grupos C y G que sean de colonias grandes.
- Informar la presencia de *Arcanobacterium* spp. en los cultivos faríngeos si los organismos se presentan en un gran número (de moderado a abundante).
- Debe informarse la presencia de cualquier número de colonias de *N. gonorrhoeae* en un frotis faríngeo.

9. RESPONSABILIDADES

El proceso de recogida de muestra es responsabilidad del servicio solicitante o del personal del laboratorio de microbiología si se realiza en este laboratorio 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

Es responsabilidad del personal del área de recogida y procesamiento de muestras del laboratorio de microbiología la recepción, identificación y procesamiento de las muestras, el rechazo de las muestras remitidas en condiciones defectuosas y la adopción de medidas correctoras.

Es responsabilidad del personal técnico la realización de las técnicas microbiológicas de Gram, identificación y determinación de la sensibilidad a antibióticos en su caso, así como el registro de resultados y el archivo de las hojas de trabajo.

Es responsabilidad del facultativo especialista responsable del/las áreas la valoración de la tinción de Gram, la lectura y valoración de los cultivos, la supervisión del trabajo del personal técnico, la adopción de medidas correctoras de errores

cometidos, la validación y firma del informe de resultados, y la realización de interconsultas con los clínicos.

10. ANOTACIONES AL PROCEDIMIENTO

La presencia de *N. meningitidis* en cultivos faríngeos sólo debe ser informada si se aísla en abundancia o si el clínico ha especificado su investigación con fines epidemiológicos.

El Comité de Enfermedades Infecciosas de la Sociedad Americana de Pediatría establece la necesidad de realizar el cultivo faríngeo en niños con resultados negativos de técnicas de diagnóstico rápido y sospecha de faringitis estreptocócica. La Sociedad Americana de Enfermedades Infecciosas hace la misma recomendación en esta circunstancia. En el caso de pacientes adultos no parece necesaria la confirmación mediante cultivo de resultados negativos con estas técnicas.

11. LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

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

Se pueden producir falsos negativos en los cultivos faríngeos por sobrecrecimiento de la microbiota normal o por incubar en ambiente de aerobiosis sin enriquecimiento en CO₂ y no producirse la beta-hemólisis.

12. BIBLIOGRAFIA

1. Committee on Infectious Diseases. 2003. Group A streptococcal infection, p. 573-584. In LK Pickering (ed.), 2003 red book American Academy of Pediatrics, Elk Grove Village, IU.1. P.R. Murray, E.J. Baron, M.A. Pfaller, R.H. Tenover, R.M. Tenover. 2003. Manual of Clinical Microbiology, 8th ed. ASM Press, Washington, D.C.
2. Gerber MA., Shulman ST. 2004. Rapid diagnosis of pharyngitis caused by group A streptococci. Clin Microbiol Rev 17: 571-580.
3. Isenberg HD. 2003. Respiratory Tract Cultures, 3.11.1.1 in Clinical Microbiology Procedures Handbook, 2nd ed. Vol.1 ASM Press, Washington, D.C.
4. Isenberg HD. 2003. Group A Streptococcus Cultures, 3.11.8.1 in Clinical Microbiology Procedures Handbook, 2nd ed. Vol.1 ASM Press, Washington, D.C.
5. Waites KB, Saubolle MA, Talkington DF, et al. Cumitech 10A: laboratory diagnosis of upper respiratory tract infections. Sharp SE, coordinating ed. Washington, DC: ASM Press, 2006.

Servicio de Microbiología Hospital.....	Diagnóstico microbiológico de infecciones oticas	PNT-ITRS-02	
		Edición Nº 01	Página 2 de 4

1. PROPOSITO Y ALCANCE

Descripción de la sistemática de procesamiento, lectura e interpretación de cultivos de muestras del oído para el diagnóstico microbiológico de otitis infecciosas.

2. FUNDAMENTO

La infección del conducto auditivo externo generalmente está causada por humedad excesiva que permite a las bacterias multiplicarse en el canal auditivo, dando lugar a maceración e inflamación. La otitis media se debe a la colonización del oído medio por bacterias procedentes de la nasofaringe, que causa una reacción aguda inflamatoria con producción de pus. El principal objetivo del cultivo de las muestras del oído es identificar los microorganismos que causan estas infecciones del mismo.

3. DOCUMENTOS DE CONSULTA

- Procedimiento nº 10 de la SEIMC (Seguridad en el laboratorio de microbiología).
- Procedimiento nº 1a de la SEIMC (Recogida, transporte y procesamiento general de las muestras en el laboratorio de microbiología).
- Manual de instrucciones de las técnicas aplicadas (en su caso).

4. TOMA DE MUESTRAS

4.1. VOLANTE DE PETICIÓN

El volante de petición que acompaña a cada muestra debe ser estrictamente cumplimentado y en él deberá constar la filiación, edad, número de historia, servicio de procedencia, tipo de muestra, tratamiento previo, diagnóstico del enfermo y sistema de identificación del clínico peticionario.

4.2. RECOGIDA DE LA MUESTRA

4.2.1. Otitis externa

- Introducir una torunda estéril en el canal auditivo.
- Rotar la torunda para coleccionar la secreción.
- En caso de forúnculo la muestra debería tomarse por aspiración o desbridamiento quirúrgico.
- Para estudio de otitis fúngica se prefieren las muestras obtenidas por raspado del canal ótico.

4.2.2. Otitis media

- Tomar muestras mediante torunda del canal externo del oído cuando haya pus o exudado.
- Si se lleva a cabo una timpanocentesis, el fluido se debe extraer por aspiración, evitando la contaminación con la microbiota habitual del canal del oído.

4.3. TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN DE LA MUESTRA

La muestra se debe transportar al laboratorio y procesarse lo antes posible. Si la muestra se recoge mediante torunda y no se va a procesar en las dos horas siguientes, se debe utilizar un medio de transporte (tipo Amies-Stuart). Se pueden mantener

a temperatura ambiente durante 48 h como máximo antes de su procesamiento.

Los raspados para cultivo fúngico se transportarán en un recipiente estéril; se pueden mantener a temperatura ambiente hasta 2 h; en caso de prolongación del tiempo antes de su procesamiento, se deben mantener a 4°C.

Las muestras líquidas (obtenidas por timpanocentesis) o de tejido deben refrigerarse a 4°C si no se procesan antes de dos horas.

Si se solicita cultivo de bacterias anaerobias la muestra debe transportarse mediante algún sistema (tubo, frasco) que garantice la anaerobiosis, y mantenerse a temperatura ambiente.

Para una información más detallada de este proceso puede consultarse el Procedimiento 1a de la SEIMC (Recogida, transporte y procesamiento general de las muestras en el laboratorio de microbiología).

4.4. CRITERIOS DE ACEPTACIÓN Y RECHAZO

Se procederá al rechazo de la muestra si se observan las siguientes incidencias relacionadas con la misma:

- Defectos encontrados en la identificación y cumplimentación del volante.
- Mala conservación.
- Torundas sin medio de transporte
- Medios de transporte para anaerobios en los que el indicador esté azul.

5. MEDIOS DE CULTIVO, REACTIVOS Y PRODUCTOS

5.1. MEDIOS DE CULTIVO:

Muestras procedentes de otitis externa:

- agar sangre
- agar McConkey

Muestras procedentes de otitis media:

- agar sangre,
- agar McConkey
- agar chocolate suplementado
- Si hay sospecha de otitis fúngica, añadir agar Sabouraud. Consultar Procedimiento 21 (Diagnóstico microbiológico de las micosis y estudios de sensibilidad a los antifúngicos) de la SEIMC.
- Si hay sospecha microorganismos anaerobios, emplear además agar selectivo y no selectivo para anaerobios (tipo Schaedler y Schaedler con neomicina+vancomicina). Consultar Procedimiento 16 (bacterias anaerobias) de la SEIMC.

Líquido de timpanocentesis:

- agar sangre
- agar chocolate suplementado
- tioglicolato u otro medio líquido de enriquecimiento

5.2. REACTIVOS Y PRODUCTOS:

- Colorantes para tinción de gram.
- Colorantes para tinción hongos.

Servicio de Microbiología Hospital.....	Diagnóstico microbiológico de infecciones oticas	PNT-ITRS-02	
		Edición Nº 01	Página 3 de 4

- Pruebas bioquímicas convencionales.
- Paneles de identificación manuales o comerciales.
- Sistemas comerciales generadores de atmósfera (5 % CO₂ y de anaerobiosis)

6. APARATOS Y MATERIAL

- Microscopio óptico
- Estufa de cultivo con control diario de temperatura
- Jarras de incubación
- Asas de siembra estériles

7. PROCESAMIENTO DE LA MUESTRA

7.1. TINCIÓN DE GRAM

Se realizará según el procedimiento habitual.

7.2. TÉCNICAS DE OBSERVACIÓN MICROSCÓPICA PARA HONGOS.

Consultar el Procedimiento 21 (Diagnóstico microbiológico y de la micosis y estudios de sensibilidad a los antifúngicos) de la SEIMC

7.3. SIEMBRA.

- Rotar toda la superficie de la torunda sobre el primer cuadrante de la placa donde se inocula. A continuación extender la muestra con un asa estéril por los tres cuadrantes restantes de la placa, con el fin de obtener colonias bien aisladas.
- Depositar tres o cuatro gotas del líquido de timpanocentesis, y extender la muestra con asa estéril por la superficie del medio de cultivo.

7.4. CONDICIONES DE INCUBACIÓN.

- Agar McConkey, agar Sabouraud, medio de tioglicolato: incubar en estufa en atmósfera aerobia a 35° C, durante 48 h.
- Agar sangre y el agar chocolate: incubar en atmósfera con 5% de CO₂ a 35°C, durante 48h (ver apartado 7.5.2).
- Agar para anaerobios: incubar a 35°C, durante 48h en atmósfera anaerobia. Para mayor información consultar el Procedimiento 16 de la SEIMC (Bacterias anaerobias).

7.5. LECTURA

7.5.1. Otitis externa

- Examinar los diferentes medios de cultivo a las 18-24 h. de incubación, si no existe crecimiento bacteriano prolongar la incubación 24 h. más y realizar una nueva lectura.

7.5.2. Otitis media

- Se realizará una lectura a las 18-24 h. de incubación. Si no existe crecimiento bacteriano se prolongará la incubación 24 h. más y se realizará una nueva lectura. Si los resultados siguen siendo negativos se prolongará el tiempo de incubación del medio de agar sangre (5 días) si se desea descartar presencia de *Alloiococcus otitidis*. También se incubará durante 5 días el

medio de agar Sabouraud, realizándose una lectura al final de este periodo.

8. OBTENCION Y EXPRESION DE RESULTADOS

8.1. TINCIÓN DE GRAM:

- Informar la presencia y el tipo de bacterias y el tipo de células inflamatorias.

8.2 CULTIVO

8.2.1. Otitis externa:

- Hay que tener en cuenta que generalmente sólo un patógeno es el responsable del cuadro.
- Identificar todas las bacterias que se aislen, a excepción de las que formen parte de la microbiota habitual. Se deben identificar hasta el nivel de especie en la medida de lo posible e informar al clínico.

8.2.1. Otitis media

- Informar siempre que se aisle *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis*, *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Alloiococcus otitidis*, *Corynebacterium auri* o *Turicella otitidis*.
- Se debe informar de cualquier aislamiento a partir de muestras obtenidas por timpanocentesis, así como de la presencia de células inflamatorias y microorganismos observados en la tinción de Gram.

9. RESPONSABILIDADES

El proceso de recogida de muestra es responsabilidad del servicio solicitante o del personal del laboratorio de Microbiología si se realiza en este laboratorio 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 personal del laboratorio de microbiología

Es responsabilidad del personal del área de recogida y procesamiento de muestras del laboratorio de microbiología la recepción, identificación y procesamiento de las muestras, el rechazo de las muestras remitidas en condiciones defectuosas y la adopción de medidas correctoras.

Es responsabilidad del personal técnico la realización de las técnicas microbiológicas de Gram, identificación y determinación de la sensibilidad a antibióticos en su caso, así como el registro de resultados y el archivo de las hojas de trabajo.

Es responsabilidad del facultativo especialista responsable del/las áreas la valoración de la tinción de Gram, la lectura y valoración de los cultivos, la supervisión del trabajo del personal técnico, la adopción de medidas correctoras de errores cometidos, la validación y firma del informe de resultados, y la realización de interconsultas con los clínicos.

Servicio de Microbiología Hospital.....	Diagnóstico microbiológico de infecciones oticas	PNT-ITRS-02	
		Edición N° 01	Página 4 de 4

10. ANOTACIONES AL PROCEDIMIENTO

En ocasiones se han de realizar informes urgentes o preliminares, a requerimiento médico o si se trata de un cuadro clínico potencialmente grave, como es el caso de la otitis externa invasiva.

Las técnicas de PCR, de tipo múltiple para las tres especies *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* y *Moraxella catarrhalis*, permiten obtener resultados en el mismo día. Además, estas técnicas han permitido estudiar la presencia de bacterias con requerimientos especiales de cultivo, como *A. otitidis*, en muestras de timpanocentesis practicadas en pacientes con otitis media serosa.

11. LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

No deben procesarse para cultivo las muestras de exudado nasofaríngeo si con ello se pretende el diagnóstico de una otitis.

12. BIBLIOGRAFIA

1. Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC. Manual of Clinical Microbiology, Eighth Edition. American Society for Microbiology, Washington, D.C.; 2003.
2. Isenberg HD. 2003, in Clinical Microbiology Procedures Handbook, 2nd ed. Vol.1 ASM Press, Washington, D.C.
3. Seguridad en el laboratorio de microbiología clínica (Procedimiento 10). Procedimientos en microbiología clínica. SEIMC, 2000. En: <http://www.seimc.org/>.
4. Recogida, transporte y procesamiento general de las muestras en el laboratorio de Microbiología (PNT-RTP-01). SEIMC, 2003. En: <http://www.seimc.org/>.
5. Waites KB, Saubolle MA, Talkington DF, et al. Cumitech 10A: laboratory diagnosis of upper respiratory tract infections. Sharp SE, coordinating ed. Washington, DC: ASM Press, 2006.

DOCUMENTO TÉCNICO

PNT-ITRS-03
DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO DE SINUSITIS

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

EDICIÓN	FECHA	ALCANCE MODIFICACIONES
01		Edición inicial

COPIA REGISTRADA N°..... 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.....	Diagnóstico microbiológico de sinusitis	PNT-ITRS-03	
		Edición Nº 01	Página 2 de 3

1. PROPOSITO Y ALCANCE

Descripción de la sistemática de procesamiento, lectura e interpretación de cultivos de muestras obtenidas de los senos paranasales para el diagnóstico microbiológico de sinusitis bacteriana.

2. FUNDAMENTO

La punción aspirativa sinusal y el cultivo sinusal son el patrón de referencia en el diagnóstico de la sinusitis bacteriana. Sin embargo, es un procedimiento invasor, doloroso y que puede llevar a complicaciones y sobreinfecciones; por ello, no se realiza de manera rutinaria y se reserva este procedimiento a circunstancias que requieren un diagnóstico microbiológico preciso como sinusitis grave, sinusitis nosocomial, pacientes inmunodeprimidos, complicación local-regional, o mala respuesta al tratamiento antibiótico. Actualmente la técnica de elección es la aspiración bajo visión endoscópica del meato medio.

3. DOCUMENTOS DE CONSULTA

- Procedimiento nº 10 de la SEIMC (Seguridad en el laboratorio de microbiología).
- Procedimiento nº 1a de la SEIMC (Recogida, transporte y procesamiento general de las muestras en el laboratorio de microbiología).
- Manual de instrucciones de las técnicas aplicadas (en su caso).

4. TOMA DE MUESTRAS

4.1. VOLANTE DE PETICIÓN

El volante de petición que acompaña a cada muestra debe ser estrictamente cumplimentado y en él deberá constar la filiación, edad, número de historia, servicio de procedencia, tipo de muestra, tratamiento previo, diagnóstico del enfermo y sistema de identificación del clínico peticionario.

4.2. RECOGIDA DE LA MUESTRA

4.2.1. Tipo de muestra:

- Aspiración de secreciones nasales: únicamente para estudio fúngico
- Aspiración bajo visión endoscópica del meato medio: debe ser realizada por un especialista, actualmente es la muestra de elección.
- Punción aspirativa sinusal: sólo en casos graves.

4.3. TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN DE LA MUESTRA

En el caso de los aspirados, se debe inocular una parte de la muestra en un medio de transporte para anaerobios y el resto se introducirá en un contenedor estéril o en la propia jeringa para su envío al laboratorio. Las biopsias se deben transportar en un envase estéril con solución salina. Lo ideal es que todas las muestras clínicas se procesen lo antes posible una vez recibidas en el laboratorio. De no ser posible, deben conservarse a 4°C por un periodo no superior a 24-48 horas antes de su procesamiento. Se puede consultar una información más detallada

de este proceso en el Procedimiento 1a de la SEIMC (Recogida, transporte y procesamiento general de las muestras en el laboratorio de microbiología).

4.4. CRITERIOS DE ACEPTACIÓN Y RECHAZO

Se procederá al rechazo de la muestra si se observan las siguientes incidencias relacionadas con la misma:

- Defectos encontrados en la identificación y cumplimentación del volante.
- Mala conservación.
- Torundas sin medio de transporte
- Medios de transporte para anaerobios en los que el indicador esté azul.

5. MEDIOS DE CULTIVO, REACTIVOS Y PRODUCTOS

Medios de cultivo:

- Agar con sangre al 5%
- Agar chocolate
- Agar McConkey (si hay sospecha de *sinusitis nosocomial*)
- Medios selectivos y no selectivos para anaerobios
- Medios con y sin antibióticos, selectivos para hongos (en sinusitis crónica)

Reactivos y productos:

- Colorantes para tinción de Gram.
- Colorantes para tinción de hongos.
- Pruebas bioquímicas convencionales.
- Paneles de identificación caseros o comerciales
- Sistemas comerciales generadores de atmósfera con 5 % de CO₂ y de anaerobiosis.

6. APARATOS Y MATERIAL

- Microscopio óptico
- Estufa de cultivo con control diario de temperatura
- Jarras de incubación
- Asas de siembra estériles

7. PROCESAMIENTO DE LA MUESTRA

7.1. TINCIÓN DE GRAM

Se realizará según el procedimiento habitual.

7.2. TÉCNICAS PARA OBSERVACIÓN MICROSCÓPICA DE HONGOS

Consultar el Procedimiento 21 (Diagnóstico microbiológico de las micosis y estudios de sensibilidad a los antifúngicos) de la SEIMC

7.3. SIEMBRA

El material se depositará sobre el primer cuadrante del medio de cultivo donde se inoculará. A continuación se extenderá la muestra con asa estéril por los tres cuadrantes restantes de la placa, con el fin de obtener colonias bien aisladas.

7.4. CONDICIONES DE INCUBACIÓN

- Agar-sangre: incubar en estufa con 5-10% de CO₂ a 35°C, durante 48 h.

Servicio de Microbiología Hospital.....	Diagnóstico microbiológico de sinusitis	PNT-ITRS-03	
		Edición N° 01	Página 3 de 3

- Agar chocolate: incubar en estufa con 5-10% de CO₂ a 35°C, durante 48 h.
- Agar McConkey: incubar en estufa con atmósfera normal a 35°C, durante 48 h.
- Medios para anaerobios: incubar en estufa en anaerobiosis a 35°C, durante 48 h.
- Medios para hongos: incubar en atmósfera normal a 35°C, durante 4 semanas.

7.5. LECTURA

Examinar los diferentes medios de cultivo a las 18-24 h. de incubación, si no existe crecimiento bacteriano prolongar la incubación 24 h. más y realizar una nueva lectura. En caso de sinusitis crónica incubar durante 4 días. Los medios de cultivo de hongos se incubarán durante 4 semanas, realizando lecturas semanales.

8. OBTENCION Y EXPRESION DE RESULTADOS

8.1 TINCIÓN DE GRAM

- Informar la presencia y tipo de bacterias y el tipo de células inflamatorias.

8.2 CULTIVO

- El aislamiento en cultivo de *S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *M. catarrhalis*, y *S. pyogenes* generalmente indica infección, y se deben realizar las pruebas adecuadas para su identificación.
- La identificación de *S. aureus* o bacilos gramnegativos se realizará solo en el caso de un aislamiento masivo de dichos microorganismos.
- Los hongos no deben ser identificados a nivel de especie en el caso de sinusitis aguda.
- Para la identificación de bacterias anaerobias debe consultarse el Procedimiento 16 de la SEIMC (Bacterias Anaerobias).
- Se informará la presencia de los diferentes microorganismos aislados.

9. RESPONSABILIDADES

El proceso de recogida de muestra es responsabilidad del servicio solicitante o del personal del laboratorio de Microbiología si se realiza en este laboratorio 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 personal del laboratorio de microbiología

Es responsabilidad del personal del área de recogida y procesamiento de muestras del laboratorio de microbiología la recepción, identificación y procesamiento de las muestras, el rechazo de las muestras remitidas en condiciones defectuosas y la adopción de medidas correctoras.

Es responsabilidad del personal técnico la realización de las técnicas microbiológicas de Gram, identificación y determinación de la sensibilidad a antibióticos en su caso, así como el registro de resultados y el archivo de las hojas de trabajo.

Es responsabilidad del facultativo especialista responsable del/las áreas la valoración de la tinción de Gram, la lectura y valoración de los cultivos, la supervisión del trabajo del personal técnico, la adopción de medidas correctoras de errores cometidos, la validación y firma del informe de resultados, y la realización de interconsultas con los clínicos.

10. ANOTACIONES AL PROCEDIMIENTO

La muestra obtenida por aspiración bajo visión endoscópica del meato medio puede contaminarse por la microbiota habitual de las vías respiratorias superiores.

11. LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

En el diagnóstico de la sinusitis, no son aceptables para el cultivo las muestras nasofaríngeas u orofaríngeas, y tampoco las muestras de esputo y de saliva.

12. BIBLIOGRAFIA

1. Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC. Manual of Clinical Microbiology, Eighth Edition. American Society for Microbiology, Washington, D.C.; 2003.
2. Isenberg HD. 2003, in Clinical Microbiology Procedures Handbook, 2nd ed. Vol.1 ASM Press, Washington, D.C.
3. Seguridad en el laboratorio de microbiología clínica (Procedimiento 10). Procedimientos en microbiología clínica. SEIMC, 2000. En: <http://www.seimc.org/>.
4. Recogida, transporte y procesamiento general de las muestras en el laboratorio de Microbiología (PNT-RTP-01). SEIMC, 2003. En: <http://www.seimc.org/>.
5. Waites KB, Saubolle MA, Talkington DF, et al. Cumitech 10A: laboratory diagnosis of upper respiratory tract infections. Sharp SE, coordinating ed. Washington, DC: ASM Press, 2006.

DOCUMENTO TÉCNICO

PNT-ITRS-04
DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO DE INFECCIONES POR *Corynebacterium diphtheriae*

ELABORADO		REVISADO Y APROBADO	
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.....	Diagnóstico microbiológico de Infecciones por <i>Corynebacterium diphtheriae</i>	PNT-ITRS-04	
		Edición Nº 01	Página 2 de 3

1. PROPOSITO Y ALCANCE

Descripción de la sistemática de recogida, transporte y procesamiento de muestras para la detección e identificación de *Corynebacterium diphtheriae*.

2. FUNDAMENTO

La difteria es una enfermedad transmisible de declaración obligatoria, caracterizada por manifestaciones locales en las vías respiratorias y efectos sistémicos producidos por la toxina diftérica. Aunque la prevención mediante vacunas ha reducido su incidencia mundial, se han producido brotes epidémicos recientes en países con cambios políticos y socioeconómicos que han provocado una pérdida del control de la infección y un incremento de la población vulnerable. Por esta razón es importante el aislamiento e identificación de este microorganismo en los laboratorios de microbiología.

3. DOCUMENTOS DE CONSULTA

- Procedimiento 10 de la SEIMC (Seguridad en el laboratorio de microbiología).
- Procedimiento 1a de la SEIMC (Recogida, transporte y procesamiento general de las muestras en el laboratorio de microbiología).
- Manual de instrucciones de las técnicas aplicadas (en su caso).

4. TOMA DE 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, tratamiento previo, diagnóstico del enfermo y sistema de identificación del clínico peticionario.

4.2. RECOGIDA DE LA MUESTRA

4.2.1. Difteria faríngea

- Utilizar un depresor.
- La muestra se obtendrá con uno o dos hisopos de Dacron o alginate cálcico.
- Realizar la toma del área amigdalar y de la faringe posterior, así como de cualquier área inflamada o ulcerada.
- Obtener pseudomembranas si es posible.
- En caso de sospecha de portadores obtener cultivos nasofaríngeos.

4.2.2. Difteria cutánea

- Obtener muestras cutáneas, faríngeas y nasofaríngeas.

4.3. TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN DE LA MUESTRA

Utilizar medios de transporte habituales (Amies) y no mantener sin refrigerar más de dos horas. Si la muestra se va a enviar a un centro de referencia utilizar material de transporte homologado.

Para una información más detallada de este proceso puede consultarse el Procedimiento 1a de la

SEIMC (Recogida, transporte y procesamiento general de las muestras en el laboratorio de microbiología).

4.4 CRITERIOS DE ACEPTACIÓN Y RECHAZO

Se procederá al rechazo de la muestra si se observan las siguientes incidencias relacionadas con la misma:

- Defectos encontrados en la identificación y cumplimentación del volante.
- Mala conservación.
- Torundas sin medio de transporte

5. MEDIOS DE CULTIVO, REACTIVOS Y PRODUCTOS

5.1. MEDIOS DE CULTIVO

- Agar con sangre de carnero al 5%.
- Agar sangre con cisteína y telurito (ASCT). Medio selectivo.
- Opcional: medio de Loeffler. Medio enriquecido no selectivo.

5.2. REACTIVOS Y PRODUCTOS

- Peróxido de hidrogeno al 3% (para realizar la prueba de catalasa)
- Productos para realización de procedimientos bioquímicos convencionales como:
 - Fermentación de azúcares.
 - Reducción de nitratos.
 - Medio de movilidad.
 - Hidrólisis de la urea.
 - Hidrólisis de la esculina.
- Paneles de identificación caseros o comerciales.
- Colorantes para tinción de Gram

6. APARATOS Y MATERIAL

- Cabinas de bioseguridad.
- Microscopio óptico.
- Estufa de cultivo con control diario de temperatura.
- Asas de siembra estériles.

7. PROCESAMIENTO DE LA MUESTRA

Utilizar obligatoriamente cabinas de bioseguridad

7.1. SIEMBRA

- Si la muestra se tomó hace varios días se debe incubar previamente a 35°C durante 24h. en un medio enriquecido (medio Loeffler).
- Realizar subcultivos en agar sangre y en medios selectivos (ASCT).

7.2. CONDICIONES DE INCUBACIÓN

- Agar-sangre: incubar en estufa con 5-10% de CO₂ a 35°C, durante 24-48 h.

7.3. LECTURA

Examinar los diferentes medios de cultivo tras 18-24 h. de incubación. Si no existe crecimiento bacteriano prolongar la incubación 24 h. más y realizar una nueva lectura.

Las colonias sospechosas se caracterizan en los diferentes medios por presentarse como:

Servicio de Microbiología Hospital.....	Diagnóstico microbiológico de Infecciones por <i>Corynebacterium diphtheriae</i>	PNT-ITRS-04	
		Edición Nº 01	Página 3 de 3

- Medio ASCT: colonias oscuras.
- Medio agar sangre: colonias beta-hemolíticas.

7.4. TINCIÓN DE GRAM

Se realizará una tinción de Gram de las colonias sospechosas buscando microorganismos con la morfología típica de bacilos grampositivos pleomórficos (letras chinas). Estas colonias son catalasa positiva. Existen varios microorganismos que pueden crecer también en el medio ASCT como colonias oscuras, pero son distintas de *Corynebacterium diphtheriae*.

7.5. SUBCULTIVAR

Se realizará un subcultivo en medio de agar sangre

7.6. IDENTIFICAR

Se procederá a la identificación de las colonias mediante pruebas bioquímicas convencionales o utilizando sistemas comerciales

7.7. PRUEBA TOXIGÉNICA

En general no se dispone de estas pruebas en los laboratorios y se debe enviar el microorganismo aislado a un laboratorio de referencia para la realización de esta prueba.

8. OBTENCION Y EXPRESION DE RESULTADOS

El diagnóstico de confirmación se efectúa en los laboratorios de referencia determinando la capacidad toxigénica de la cepa mediante el test de Elek e inoculación animal en caso que el primero sea negativo. Hasta que se confirme el resultado se debe informar como: " Se aísla *Corynebacterium diphtheriae*. Informe preliminar positivo en espera de confirmación".

Existe una técnica de PCR mediante la cual se detecta el gen *tox* directamente de la muestra.

9. RESPONSABILIDADES

El proceso de recogida de muestra es responsabilidad del servicio solicitante o del personal del laboratorio de Microbiología si se realiza en este laboratorio 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 personal del laboratorio de microbiología

Es responsabilidad del personal del área de recogida y procesamiento de muestras del laboratorio de microbiología la recepción, identificación y procesamiento de las muestras, el rechazo de las muestras remitidas en condiciones defectuosas y la adopción de medidas correctoras.

Es responsabilidad del personal técnico la realización de las técnicas microbiológicas de Gram, identificación y determinación de la sensibilidad a antibióticos en su caso, así como el registro de resultados y el archivo de las hojas de trabajo.

Es responsabilidad del facultativo especialista responsable del/las áreas la valoración de la tinción de Gram, la lectura y valoración de los cultivos, la supervisión del trabajo del personal técnico, la adopción de medidas correctoras de errores cometidos, la validación y firma del informe de resultados, y la realización de interconsultas con los clínicos. También debe informar al laboratorio de referencia así como declarar el aislamiento de este microorganismo a las autoridades sanitarias.

10. ANOTACIONES AL PROCEDIMIENTO

La técnica de PCR cuantitativa en tiempo real posee una sensibilidad diez veces superior a la técnica de PCR convencional para la detección del gen de la toxina de *C. diphtheriae*, elimina la manipulación posterior a la amplificación, obtiene un rendimiento elevado y cuantifica de una manera sencilla los productos amplificados, siendo la técnica que se va a convertir en un futuro próximo en el método estándar.

11. LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

El diagnóstico de la difteria requiere no solamente del aislamiento de *Corynebacterium diphtheriae* sino también de que esta cepa sea productora de toxina.

Las pruebas toxigénicas requieren gran experiencia en la preparación e interpretación de resultados, lo que unido a la baja incidencia de la enfermedad deben ser pruebas de exclusiva realización en un laboratorio de referencia.

12. BIBLIOGRAFÍA

1. Isenberg HD. 2003, in Clinical Microbiology Procedures Handbook, 2nd ed. Vol.1 ASM Press, Washington, D.C.
2. Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC. Manual of Clinical Microbiology, Eighth Edition. American Society for Microbiology, Washington, D.C.; 2003.
3. Seguridad en el laboratorio de microbiología clínica (Procedimiento 10). Procedimientos en microbiología clínica. SEIMC, 2000. En: <http://www.seimc.org/>.
4. Recogida, transporte y procesamiento general de las muestras en el laboratorio de Microbiología (PNT-RTP-01). SEIMC, 2003. En: <http://www.seimc.org/>.
5. Waites KB, Saubolle MA, Talkington DF, et al. Cumitech 10A: laboratory diagnosis of upper respiratory tract infections. Sharp SE, coordinating ed. Washington, DC: ASM Press, 2006.