

**RECOMENDACIONES
PARA EL DIAGNÓSTICO
EN MICROBIOLOGÍA CLÍNICA**

**RECOMENDACIONES PARA
EL DIAGNOSTICO EN
MICROBIOLOGÍA CLÍNICA**

JUNTA DE ANDALUCÍA

*Consejería de Salud
Servicio Andaluz de Salud*

**S. A. M. P. A. C.
SOCIEDAD ANDALUZA DE
MICROBIOLOGÍA CLÍNICA**

EDITA: © 2001 Servicio Andaluz de Salud. Consejería de Salud. Junta de Andalucía
Avda. de la Constitución, 18 41071 Sevilla
Tlfno.: 955 018 000 Fax: 955 018 025
Web : www.sas.junta-andalucia.es

Impresión: Gráficas Hermanos López, S.L.

ISBN: 84-8486-018-3

DEPOSITO LEGAL: SE-2771-2001

AUTORES

Dr. Aznar Martín, J. (H. U. Virgen del Rocío. SEVILLA)
Dr. Calbo Torrecilla, L. (H. U. Jerez. CÁDIZ)
Dr. Casal Román, M. (H.U. Reina Sofía. CÓRDOBA)
Dr. de la Rosa Fraile, M. (H. U. Virgen de las Nieves. GRANADA)
Dra. Palop Borrás, B. (H Sta. Ana de Motril. GRANADA)
Dr. Pérez Ramos, S. (H. U. de Puerto Real. CÁDIZ)
Dr. Pinedo Sánchez, A. (H. U Virgen de la Victoria. MALAGA)
Dr. Plata Rosales, C. (H. Infanta Margarita de Cabra. CÓRDOBA)

COORDINACIÓN TÉCNICA

SERVICIO DE PROTOCOLOS ASISTENCIALES
SUBDIRECCIÓN DE PROGRAMAS Y DESARROLLO
DIRECCIÓN GENERAL DE ASISTENCIA SANITARIA

Mercedes Farnés Plasencia
Javier García Rotllán
María Aránzazu Irastorza Aldasoro
M^a Paz Valpuesta Bermúdez

SECRETARIA:

M^a Angeles Rasero Díaz

INTRODUCCIÓN

El Servicio Andaluz de Salud con la colaboración de la Sociedad Andaluza de Microbiología y Parasitología Clínica ha elaborado estos Protocolos cuyo objetivo fundamental es establecer unas recomendaciones tendentes a la homogeneización de las Técnicas que se realizan en los laboratorios de Microbiología de sus centros asistenciales.

La Comisión ha creído conveniente recalcar dos cuestiones que afectan a todos los procedimientos de esta especialidad:

Es importante seguir las recomendaciones del protocolo que tiene elaborado la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica sobre "Recogida, transporte y conservación de las muestras"

Por otra parte la Comisión considera conveniente insistir en la necesidad de que se cumplimenten los datos, según ya establece la Resolución 7/2000 de 21 de marzo, que crea y regula el Registro de actividad de las Unidades de apoyo al diagnóstico.

INDICE

Introducción	Pág 5
Hemocultivo.	Pág 9
Muestras de Líquido Cefalorraquídeo.	Pág 18
Urocultivo.	Pág 25
Coprocultivo.	Pág 31
Muestras del tracto genital femenino:	
- Exudados vaginales.	Pág 39
- Exudados vagino- rectales para despistaje de portadoras de <i>Streptococcus agalactiae</i> .	Pág 46
Muestras cutáneas y de partes blandas:	
- Catéteres.	Pág 49
- Líquidos estériles.	Pág 51
- Piel/ partes blandas y abscesos.	Pág 56
Muestras del tracto respiratorio superior:	
- Muestras faríngeas y amigdalares.	Pág 62
- Muestras óticas.	Pág 64
- Muestras de aspirados sinusales.	Pág 65
- Muestras nasales.	Pág 66
- Muestras de la cavidad oral.	Pág 66
- Muestras nasofaríngeas.	Pág 67
Muestras del tracto respiratorio inferior:	
- Muestras obtenidas por métodos no invasivos.	Pág. 69
- Muestras obtenidas por métodos invasivos.	Pág 75
Bibliografía.	Pág 84

HEMOCULTIVO

I. INTRODUCCIÓN.

La sangre de los individuos sanos es estéril. Una afluencia repentina de bacterias es habitualmente eliminada del torrente circulatorio en un periodo de tiempo corto, de minutos a horas, excepto cuando existe una infección masiva o está presente un foco intravascular infectado. Básicamente cuando las bacterias se multiplican a tasas que exceden la capacidad del sistema reticuloendotelial para eliminarlas se habla de BACTERIEMIA. El término FUNGEMIA se utiliza para designar la presencia de hongos en sangre.

La invasión del torrente sanguíneo se produce desde:

- Un foco primario, vía sistema linfático al sistema vascular.
- Entrada directa: por infecciones intravasculares (por ejemplo endocarditis), o a través de dispositivos médicos contaminados como catéteres o agujas.

Siempre que exista una razón para sospechar una bacteriemia se debe practicar el cultivo de la sangre, ya que en muchas ocasiones solo se puede establecer el diagnóstico por este procedimiento. El aislamiento de un microorganismo en los hemocultivos es trascendente porque establece el diagnóstico etiológico de la bacteriemia y permite elegir el tratamiento más eficaz.

Diagnóstico.

Es el aislamiento del microorganismo en la sangre mediante el cultivo de ésta y aporta una valiosa información a la hora de elegir el tratamiento antimicrobiano adecuado.

Entre el 14 al 25 % de los enfermos hospitalizados tienen sospecha de bacteriemia y en un 14% de los casos el hemocultivo establece el diagnóstico lo que repercute en la curación de los pacientes considerablemente.

Indicaciones.

- Fiebre alta, aunque en neonatos y ancianos la bacteriemia puede cursar con hipotermia y deterioro general.
- Shock no explicado.
- Infecciones localizadas.
- Leucopenia, leucocitosis o trombopenias no relacionadas con procesos hematológicos.

Métodos.

- Cuantitativos, nos daría el número de bacterias por mililitro de sangre.
- Semicuantitativos o de lisis centrifugación.
- Cualitativos, indica simplemente la presencia de bacterias en sangre, es el que se realiza de forma rutinaria.

II.- MUESTRAS.

Cuando realizar las extracciones:

- Como norma los hemocultivos se obtendrán antes de iniciar la terapia antibiótica, el incumplimiento de este punto puede dar lugar a resultados falsamente negativos pudiendo comprometer la vida del paciente.
- Sepsis agudas, osteomielitis, meningitis, neumonía, pielonefritis: el hemocultivo en estos casos debe considerarse un procedimiento de urgencia.
- Bacteriemias continuas de origen intravascular como endocarditis, infecciones asociadas a catéteres, de origen desconocido, con sospecha de fungemia e inmunodeprimidos: se puede tomar en cualquier momento.
- Bacteriemias intermitentes: lo ideal es realizarla cuando el paciente tiene escalofríos, poco después o durante el pico febril.
- Pacientes con tratamiento antimicrobiano: la extracción se hará justo antes de la administración de una dosis, a veces es conveniente retirar el tratamiento.
- Pacientes en situación crítica: en cualquier momento.

Método de recogida.

Los microorganismos de la piel pueden contaminar la sangre durante la extracción dificultando la interpretación de los resultados. Además algunos contaminantes actúan como patógenos oportunistas, por lo que debemos ser muy cuidadosos durante la extracción.

La toma debe realizarse por venopunción y para ello, debe hacerse:

- Lavado de manos y utilización de guantes estériles.
- Limpiar con jabón líquido o alcohol el lugar de punción.
- Aplicar durante 1 minuto povidona yodada, dejar secar.
- Desinfectar los tapones de los frascos.
- Efectuar la extracción.
- No airear los frascos.
- Nunca debe hacerse la extracción a través de catéteres, salvo en aquellas circunstancias en que se indica específicamente.
- Cuando la extracción se haga con adaptador, este debe esterilizarse o ser de un solo uso.

Volumen de la muestra (Indicativo).

- Neonatos a 1 año, 0,5 a 1 ml .
- Entre 1 y 6 años, 1 ml/ año divididos en 2 frascos.
- Jóvenes, 10 ml. divididos en 2 frascos.
- Adultos, 20-30 ml. divididos en 2 ó 3 frascos.

Medios de cultivo empleados.

Se utilizarán los frascos adecuados para el crecimiento de los microorganismos sospechosos, aerobios, anaerobios etc...

Número de hemocultivos.

Siempre se deben realizar un mínimo de 2 extracciones, preferentemente 3, con un intervalo de 15 a 30 minutos entre ellas. Los hemocultivos con solo una extracción tienen una rentabilidad diagnóstica pequeña y son imposibles de interpretar si se aísla un microorganismo que puede ser contaminante:

- Prematuros, neonatos y niños muy pequeños:

1ª toma.....1 frasco pediátrico.

2ª toma.....1 frasco pediátrico.

- Pacientes con sospecha de Bacteriemia:

1ª toma.....Detección de aerobio + Detección de anaerobio.

2ª toma.....Detección de aerobio + Detección de anaerobio.

3ª toma.....Detección de aerobio + Detección de anaerobio.

Las extracciones se separarán de 15 a 30 minutos.

- Pacientes con sospecha de Fungemia:

Frecuentemente, pacientes de oncohematología y trasplantados:

1ª toma Detección aerobio + Detección de hongos.

2ª toma Detección aerobio + Detección de hongos.

3ª toma Detección aerobio + Detección de hongos.

Las extracciones se separarán de 15 a 30 minutos.

**- Pacientes con sospecha de endocarditis
o con fiebre de origen desconocido:**

1ª toma Detección aerobio + Detección anaerobio.

2ª toma Detección aerobio + Detección anaerobio.

3ª toma Detección aerobio + Detección anaerobio.

En estas situaciones las extracciones estarán separadas un mínimo de una hora.

- Pacientes con Sida:

1ª toma Detección aerobio + Detección anaerobio.

2ª toma Detección aerobio + Detección anaerobio.

3ª toma Detección aerobio + Detección anaerobio.

Además en cualquiera de las tomas puede hacerse detección de hongos y/o detección de micobacterias dependiendo de la sospecha clínica.

- Pacientes con terapia antimicrobiana y hemocultivos negativos:

Es aconsejable suspender el tratamiento, si se puede, durante 24 – 48 horas o en su defecto realizar tres extracciones en 2 o 3 días con máximo volumen de sangre.

Transporte de las muestras

El transporte ha de ser inmediato o en el menor tiempo posible.

Se deberá incluir en la petición la máxima información clínica, dado que algunos microorganismos como *Brucella*, hongos y algunos agentes implicados en endocarditis son de crecimiento lento y el laboratorio debe saberlo para prolongar su incubación.

NUNCA DEBE REFRIGERARSE ANTES DE SU ENVÍO, PODRÁ CONSERVARSE EN ESTUFA DEPENDIENDO DEL SISTEMA DE HEMOCULTIVOS QUE SE DISPONGA .

III.- PROCEDIMIENTOS.

Tiempo de incubación.

Los hemocultivos normales tienen un periodo de incubación mínimo de 5 - 7 días, se podrá prolongar entre 15 y 30 días en función de la sospecha.

Examen de los cultivos

- Tinción de Gram y/o Naranja de Acridina de los frascos que el sistema detecta como POSITIVOS:

Se informará al clínico si es significativa.

- Subcultivos:

En medios adecuados de acuerdo con la sospecha clínica y la tinción.

No se recomienda el subcultivo ciego individualizado, salvo en especiales circunstancias.

Información preliminar al clínico, si es significativa.

- Identificación de los microorganismos.
- Estudio de sensibilidad

IV.- RESULTADOS.

- Cualquier microorganismo patógeno aislado, se informará con su antibiograma correspondiente.
- Microorganismos habituales como flora de la piel, tales como: estafilococos coagulasa negativo, corynebacterias, estreptococos α -hemolíticos, etc. aislados en un solo frasco de un seriado, se informarán como probable contaminación.

- Estos mismos microorganismos en pacientes inmunodeprimidos, portadores de catéteres, etc., y aislados en más de un frasco de un seriado, deben valorarse o no dependiendo del informe del clínico y si ello no fuera posible, informar como posible contaminación.
- En caso de información epidemiológicamente relevante se comunicará al Servicio de Medicina Preventiva.

MUESTRAS DE LÍQUIDO CEFALORRAQUÍDEO

I.- INTRODUCCIÓN.

La meningitis es un proceso inflamatorio del Sistema Nervioso Central que afecta a las leptomeninges y al líquido cefalorraquídeo (L.C.R.). Se trata de una urgencia médica y requiere un diagnóstico y tratamiento precoz. Su morbimortalidad, en meningitis agudas bacterianas, se relaciona directamente con el retraso en el inicio de la terapéutica.

Los casos esporádicos de meningitis agudas bacterianas aparecen en edades extremas de la vida, aún cuando globalmente el 75% de los casos ocurren en menores de 15 años.

Todos los hospitales tendrán que tener previsto el procesamiento microbiológico inmediato del L.C.R. por personal cualificado.

Etiología.

- **NEONATOS Y MENORES DE 2 MESES:** *Escherichia coli*, *Streptococcus agalactiae* (Grupo B), *Listeria monocytogenes*, Herpes simple tipo 2.
- **MENORES DE 10 AÑOS:** *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis*, Virus.
- **ADULTOS:** *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Bacilos Gram (-)*, *Listeria monocytogenes*, Virus.
- **PACIENTES VIH:** *Cryptococcus neoformans*.

II.- MUESTRAS.

Se obtendrá antes de instaurar cualquier terapia antimicrobiana siempre que las condiciones lo permitan.

La cantidad de L.C.R. obtenido previa punción lumbar será generalmente de dos tubos, el primero se enviará para el estudio bioquímico, el segundo para el estudio microbiológico con el mayor volumen posible. El tubo más turbio se enviará a Microbiología.

Observaciones.

Se debe solicitar simultáneamente hemocultivos, porque las meningitis suelen ir acompañadas de un proceso bacteriémico.

Es necesario que el facultativo especifique claramente las investigaciones solicitadas (Microorganismos habituales, micobacterias, anaerobios, hongos o virus).

Para el estudio bacteriológico rutinario es suficiente disponer de al menos 1 ml., aunque es preferible volúmenes superiores.

Transporte.

La muestra debe enviarse inmediatamente al laboratorio, pues algunos agentes etiológicos, como *S. pneumoniae* pueden lisarse rápidamente a partir de la primera hora de su recogida.

Si no fuera posible se mantendrá en estufa a 35 - 37°C y una parte se incubará en frasco de hemocultivo, que se mantendrá en idénticas condiciones.

Si no se dispone de estufa se mantendrá a temperatura ambiente. Nunca se refrigerará pues se afectará la viabilidad de *N. Meningitidis* y *H. influenzae*.

III.- PROCEDIMIENTOS.

- Se procederá al recuento de células por el facultativo especialista.
- Centrifugar a 1.500- 3.000 g. durante 15- 20 minutos.
- En caso de líquidos muy purulentos no será necesario centrifugar.
- Recoger el sobrenadante con pipeta de Pasteur estéril y conservarlo a 4°C en frigorífico.
- Sembrar el sedimento con pipeta de Pasteur en:
 - Agar sangre: (35-37°C) en atmósfera de CO₂ .
 - Agar chocolate (35-37°C) en atmósfera de CO₂
 - Agar Saboureaud (35-37° C) si se solicitan hongos.
 - Tioglicolato o B.H.I. (35-37°C) (72 horas).

Tinción del L.C.R.: Se harán tres extensiones para tinción:

- Tinción de Gram.
- Tinción diferencial.
- Porta sin teñir (por si hubiera que repetir).

(Para realizar las extensiones es recomendable utilizar Citocentrífuga).

Actualmente no se recomienda de forma rutinaria, las técnicas de detección de antígenos bacterianos en L.C.R. como procedimiento diagnóstico.

Estudios especiales.

- Para hongos y micobacterias se necesitan al menos 2 ml. adicionales por cada uno de los estudios, siendo deseable más de 5 ml.
- Para el estudio de virus se necesitan al menos 1-2 ml.
- En L.C.R. no se estudiará rutinariamente anaerobios. Si se solicita, se utilizará un medio de transporte para estudio de anaerobios, medio líquido o frasco de hemocultivo de anaerobios.
- Si se solicita estudio de virus, la muestra se conservará en frigorífico; si el procesamiento se va a retrasar se conservará a (-70°C).

- Si se solicita cultivo convencional más micobacterias y el volumen de la muestra es menor a 1 ml. se tendrá en cuenta la citología, para priorizar el tipo de cultivo y se consultará con el facultativo responsable de la petición.
- Si el volumen es mayor de 2 ml. se repartirá una alícuota para cultivo de micobacterias y otra para cultivo convencional.
- Si se solicitan pruebas serológicas se pasará el sobrenadante a serología.
- Toda información relevante se informará al servicio de medicina preventiva.

IV.- RESULTADOS.

Toda información de relevancia clínica obtenida tanto en tinción como cultivo, se comunicará al clínico de la forma más rápida posible, dejando constancia escrita.

Examen microscópico.

Se informará: recuento celular, recuento diferencial y microorganismo observado.

Cultivo.

Se informará microorganismo observado, su sensibilidad y serotipado si procede.

Se efectuará inexcusablemente estudio de C.M.I. a β -lactámicos en meningococos y neumococos y producción de β -lactamasas en *Hemophilus*.

Observaciones.

- Si el cultivo es positivo para meningococos se hará estudio de serotipo.
- Si el cultivo es positivo para *Hemophilus* se hará serotipo.
- Informar al Servicio de Medicina Preventiva de los cultivos positivos y especificar el microorganismo aislado y si fuera posible serotipo.

UROCULTIVO**I.- INTRODUCCIÓN.**

El urocultivo es el cultivo de orina para diagnosticar infección sintomática del tracto urinario o infección asintomática (bacteriuria asintomática) en pacientes con riesgo de infección.

Está basada en la presencia de un número significativo de bacterias (generalmente ≥ 100.000 bacterias ml.).

La piuria, junto con la bacteriuria, es un dato muy importante para el diagnóstico de infección del tracto urinario, ya que prácticamente está presente en todas las infecciones urinarias. Una excepción es la bacteriuria asintomática en la que la piuria puede estar ausente.

Agentes etiológicos a investigar rutinariamente:

- *Escherichia coli*.
- *Klebsiella spp.*
- *Enterobacter spp.*
- *Serratia spp.*
- *Enterococcus spp.*
- *Proteus spp.*
- *Pseudomonas spp.*
- *Acinetobacter spp.*
- *Cándida spp.*
- *Staphylococcus spp.*
- *Streptococcus grupo B* (imprescindible en embarazadas).

II.- MUESTRAS.

La correcta recogida y conservación de la orina para urocultivos es fundamental para que puedan obtenerse resultados fiables.

- Mujeres: Obtención de la orina después de separar los labios vaginales de manera que la orina no toque los genitales externos.
- Hombres: Retracción del prepucio de manera que la orina salga directamente.

En caso de que no exista posibilidad de recibir las muestras de orina en el laboratorio con menos de dos horas desde el momento de la recogida y que no se puedan refrigerar las muestras, se podrá optar entre uno de los siguientes procedimientos:

- a) Enviar la muestra con un conservante.
- b) Enviar la muestra ya sembrada por el sistema de laminocultivo o similar.

En este último caso sería recomendable que el personal del centro de salud en el momento de la siembra introdujese una tira para detección de leucocitos/nitritos en la orina y anotase los datos correspondientes a los leucocitos en el vale de solicitud del cultivo.

NO SE CULTIVARAN NUNCA por no ser muestras adecuadas:

- Catéteres de Foley.
- Orina de micción o de catéter para anaerobios.
- Orinas de más de 2 horas de su recogida sin conservación adecuada.

III.- PROCEDIMIENTOS.

Examen microscópico [recomendado].

El procedimiento elegido debe permitir:

- Recuento de leucocitos al menos semicuantitativo
- Detección de células epiteliales (CE): su presencia indica muy probablemente contaminación de la muestra por contacto con genitales externos. Ante un resultado (urocultivo) positivo si se observa presencia de células epiteliales debe pedirse nueva muestra para confirmar.

Método de despistaje automatizado.

Los métodos automatizados de despistaje de infecciones urinarias tiene un excelente valor predictivo negativo por lo que si el número de muestras es elevado podrá ser un método alternativo a los métodos convencionales.

Cultivo.

Debe permitir el aislamiento y el recuento cuantitativo desde 1.000 ó 10.000 unidades formadoras de colonias (ufc)/ml.) de los uropatógenos más comunes:

Se sembrará cuantitativamente, generalmente con asa calibrada de 1 ó 10 µl. en uno de los siguientes medios en placa:

- Cled.
- Agar cromogénico de orina.
- Agar sangre + agar MacConkey (Levine).

Incubar a 35-37° C en aerobiosis durante 24-48 horas.

Estudios Especiales.

1. En embarazadas adicionar (sembrando con escobillón) medio de Granada o Agar sangre nalidixico. El primero se incubará en anaerobiosis (o bajo un cubre) y el segundo en 5-7% CO₂. La presencia de estreptococo grupo B se informará en cualquier cantidad.

2. Orinas obtenidas por técnica invasiva (punción suprapúbica o por citoscopia): Sembrar siempre con asa calibrada o con pipeta estéril al menos 10 µl. Incluyendo una placa de agar sangre. Reincubar hasta 48 horas y tomar como significativo cualquier crecimiento a partir de 100 ufc/ml. La orina de punción suprapúbica es la muestra adecuada para investigación de Anaerobios o de *mycoplasmas* genitales. Si se considera procedente o se solicita por el clínico en una

muestra adecuada estas muestras se trabajarán para detección de estos microorganismos y se informará el resultado.

3. En orinas obtenidas y conservadas con garantía de que se ha evitado la contaminación y en enfermos sintomáticos en los que los urocultivos previos no hayan ofrecido un número significativo de colonias se podrían estudiar microorganismos más exigentes y recuentos más bajos. Por ejemplo sembrando más cantidad de muestras (0,1 ml.) en agar sangre e incubando las placas 48 ó 72 horas.

4. Solicitud por el clínico de investigación de otros microorganismos. Si la muestra es correcta y la petición está motivada se debe efectuar el procedimiento de trabajo adecuado a la solicitud.

5. Solicitud de cultivo de Micobacterias (por las características de las técnicas no se recogen en este protocolo).

IV.- RESULTADOS.

- **Menos de 1.000 ó 10.000 ufcs., se informará:** “menos de 1.000 ó 10.000 ufcs.”.
- **De 10.000 a 100.000 ufcs.:**
 - Un microorganismo patógeno sin células epiteliales: Informar microorganismo aislado, número de colonias, antibiograma y valorar clínicamente.

- Dos microorganismos patógenos: Informar microorganismos aislados, número de colonias y solicitar nueva muestra.
 - Más de dos microorganismos patógenos: Informar "cultivo mixto, probable contaminación".
-
- **100.000 ó más ufcs.:**
 - Uno o dos microorganismos patógenos: Informar identificación más antibiograma.
 - Más de dos especies: Informar "cultivo mixto, probable contaminación".

COPROCULTIVO

I.- INTRODUCCIÓN.

La diarrea puede definirse como el proceso que va acompañado de eliminación frecuente de heces, disminución de su consistencia o ambas cosas. Ante la sospecha de un cuadro de infección gastrointestinal debe hacerse una detallada historia clínica y un correcto estudio microbiológico.

II.- MUESTRAS.

La muestra de elección para cultivo de agentes bacterianos productores de gastroenteritis es una porción de heces diarreicas, nunca heces firmes. A partir del cuarto día de hospitalización no debe realizarse coprocultivo para determinación de gérmenes enteropatógenos habituales salvo en situaciones especiales. Las muestras de heces se procesarán para cultivo dentro de las 4-6 horas siguientes a su emisión. Si esto no es posible, es conveniente su conservación en un medio de transporte adecuado manteniéndose en refrigerador hasta su siembra.

Si se remite muestra para estudio de toxina *Clostridium difficile* es mejor congelarla a (-20° C) hasta que se realice la prueba.

Los escobillones rectales son aceptables sólo para cultivos de muestras de niño con diarrea aguda. Los escobillones deben mostrar heces.

No se recomienda el cultivo sistemático de meconio o heces de recién nacido para diagnóstico de infección neonatal.

Son muestras inaceptables:

- Los escobillones anales.
- Muestras no conservadas de más de 4-6 horas.
- Muestras preservadas cuyo indicador está virado indicando fallo del sistema buffer.
- Muestras múltiples en el mismo día.

III.- PROCEDIMIENTOS.

1. Examen directo.

El examen microscópico directo de las heces persigue la observación de polimorfonucleares, que sugiere infección por un patógeno invasivo.

1.1. Examen en fresco y/o tinción con Azul de metileno de Loeffler.

1.2. Tinción de Gram: permite observar polimorfonucleares y flora predominante.

2. Inoculación.

2.1. Examen rutinario.

El coprocultivo se realiza mediante la preparación de una emulsión de 1-2 g. de heces en solución salina fisiológica, a partir de la cual se inoculan los medios de cultivo.

2.1.1. Placa de agar sangre, en caso de disbacteriosis se informará el tipo de microorganismo. No es recomendable la realización del antibiograma.

2.1.2. Medios entéricos:

2.1.2.1. Diferenciales:

Usar uno de estos medios para diferenciar los bacilos entéricos fermentadores de la lactosa (L+) de los no fermentadores (L-), al tiempo que se inhibe el crecimiento de flora Gram positiva aerobia.

- a) MacConkey.
- b) Eosina Azul de Metileno, Levine.
- c) Endo.

2.1.2.2. Moderadamente selectivos:

Usar al menos uno de estos medios para inhibir el crecimiento de la mayoría de las Enterobacteriaceae mientras se permite el crecimiento de *Salmonella spp.* y *Sbigella spp.*

- a) Hektoen.
- b) XLD (Xilosa-Lisina-Desoxicolato).
- c) SS.
- d) Medios cromogénicos.

2.1.2.3 Medio líquido:

Utilizar el medio Selenito F para inhibir el crecimiento de la flora normal durante las horas iniciales de incubación. Se resiembran en medio sólido a partir de las 6 horas.

Este medio líquido es fundamental para el estudio de portadores asintomáticos.

2.1.3 Medios para *Campylobacter*.

Seleccionar uno de los siguientes medios selectivos e incubarlo 48-72 h. a 42°C en ambiente microaerófilo. No se recomienda enriquecimiento.

- a) Medio de Skirrow.
- b) Campy-BAP (Medio de Blaser).
- c) Medio de Butzler.
- d) Medio de Preston.

2.1.4. *Yersinia spp.*

- a) MacConkey.
- b) Placa de CIN (Cefsulodina-Irgasan-Novobiocina).

2.1.5. Detección de *adenovirus* y *rotavirus*.

En menores de dos años con heces líquidas se procederá a la detección de *rotavirus* y *adenovirus* entéricos con métodos adecuados, especialmente recomendable en los meses invernales.

2.2. Cultivos especiales.

2.2.1 *Vibrio spp.*

- a) Medio de enriquecimiento: Agua de Peptona alcalina a partir de 6 horas, subcultivar en TCBS.
- b) Medio selectivo: TCBS.

2.2.2. *Salmonella L+*.

- a) Verde brillante.
- b) Sulfito de Bismuto.

2.2.3 *Clostridium difficile.*

Considerar siempre en enfermos con diarrea y más de cuatro días de hospitalización sobre todo si han sido sometidos a tratamiento antibiótico.

Medio selectivo: CCFA (Cicloserina- Cefoxitina- Fructosa- Yema de huevo). Incubar 48-72 h en anaerobiosis.

Detección de las toxinas por un método adecuado.

2.2.4 *Bacillus cereus, Clostridium perfringens* y *Staphylococcus aureus.*

Se investigarán sólo en laboratorios que realicen análisis de alimentos y/o estudios de manipuladores de alimentos.

2.2.5 *Escherichia coli*.

Los procedimientos de aislamiento en heces de *E.coli*, habitualmente quedan fuera de la práctica rutinaria de la mayoría de los laboratorios.

Constituye un excepción la *Escherichia coli* **0157H7** por las posibles complicaciones (Síndrome hemolítico urémico), por lo que para esta cepa, por su gravedad, podría estar indicada la utilización de medios especiales para su detección o la investigación de toxinas fundamentalmente en heces hemorrágicas.

2.2.6 *Aeromonas mesófilas*.

Entre los medios utilizados para su detección: ASA (Ampicilina 10 µg/ml) y el medio CIN parecen haber demostrado un mayor rendimiento. En el caso del medio CIN es preferible el CIN-II (con sólo 4 µg/ml de cefsulodina). La temperatura de incubación debe ser de 25-30°C.

- a) ASA.
- b) CIN.
- c) CIN-II.

IV.- RESULTADOS.

A. Cultivos negativos de enteropatógenos.

Se informará: "Ausencia de crecimiento de *Salmonella*, *Shigella...*" mencionando todos los microorganismos incluidos en el estudio realizado.

B. Resultados positivos.

1. Cultivos positivos:

Se informará del aislamiento del agente patógeno y de su sensibilidad si procede.

2. Disbacteriosis:

Se informará tipo de microorganismo predominante.

C. Detección de antígenos y toxinas:

Se informará del resultado.

MUESTRAS DEL TRACTO GENITAL FEMENINO

1.- EXUDADOS VAGINALES (EXOCERVICALES).

I.- INTRODUCCIÓN.

La mucosa vaginal tiene una flora microbiana normal, cuyo conocimiento y consideración debe tenerse en cuenta a la hora del estudio microbiológico de infecciones vaginales. Se pueden considerar tres situaciones:

- Saber cuando se altera el equilibrio de esta flora colonizante.
- Búsqueda de agentes exógenos, transmitidos normalmente por vía sexual.
- Detección de portadoras de determinados microorganismos.

La mayoría de las situaciones clínicas que pueden ser objeto de estudios microbiológicos para el aislamiento ó visualización del agente etiológico son:

1. **Vulvovaginitis:** cuyos agentes etiológicos más frecuentes son *Candida spp* (principalmente *C. albicans*), *Trichomonas vaginalis* y Virus herpes simple. En niñas pequeñas y en algunos casos de mujeres adultas también pueden ser causantes de vaginitis patógenos respiratorios como *Haemophilus sp*, *Streptococcus pneumoniae* o *Streptococcus pyogenes*. Asimismo la presencia de un cultivo puro de otros microorganismos observados en una tinción de Gram con leucocitos puede tener significación.

2. **Vaginosis:** estado caracterizado, desde el punto de vista microbiológico, por la ausencia o franca disminución de *Lactobacillus spp* y abundante flora mixta compuesta por *Gardnerella vaginalis*, anaerobios (*Mobiluncus*, *Bacteroides*, Cocos anaerobios...) y *Mycoplasma hominis*.

Detección de portadoras de *Streptococcus agalactiae* (SGB).

4. **Infección gonocócica:** La endocervicitis gonocócica aunque cursa con leucorrea, el exudado vaginal no es la muestra adecuada para su diagnóstico siendo recomendable la obtención de un exudado endocervical.

Los tipos de estudios microbiológicos que se realizarán:

- Cultivo bacteriano.
- Cultivo de levaduras.
- Cultivo de tricomonas.
- Despistaje de *Streptococcus agalactiae*.
- Cultivo de virus Herpes simple (puesto que requiere toma de muestra y medio de transporte y cultivos especiales solo se hará por petición expresa del clínico y su protocolo de cultivo e identificación se recogerá en otro capítulo).

II.- MUESTRAS.

No debe usarse antiséptico previo a la toma de la muestra. Si se utiliza espéculo, lubricar con agua caliente. Es recomendable tomar dos escobillones. Se introduce un escobillón estéril en la vagina y se recoge la muestra de la zona de mayor exudado, y en su defecto, del fondo del saco vaginal posterior. Se introduce el escobillón en medio de transporte.

El envío de la muestra al laboratorio debe ser inmediato siempre que sea posible. Cuando no pueda procesarse en el momento se mantendrá en frigorífico o a temperatura ambiente. **Nunca refrigerar si existe sospecha de infección gonocócica.** Tiempo máximo de procesamiento con medio de transporte: 24 horas.

Se rechazarán aquellas muestras recibidas a partir del día siguiente de su toma, los escobillones secos sin medio de transporte y las muestras sin orientación diagnóstica.

III.- PROCEDIMIENTOS.

Uno de los escobillones se empleará para el examen microscópico y el otro para el cultivo.

- **Examen microscópico:** es el único método aceptado para el diagnóstico microbiológico de la vaginosis bacteriana. Se hará una extensión del escobillón en portaobjetos y tinción de Gram.
- **Cultivo:** Pueden establecerse distintas combinaciones de medios en función de la orientación diagnóstica:
 - Agar sangre en atmósfera de CO₂
 - Agar Chocolate en atmósfera de CO₂
 - MacConkey.
 - Agar Granada (1/4 de placa) en anaerobiosis ó con cubreobjetos sobre la siembra en aerobiosis ó Agar sangre nalidixico en atmósfera de CO₂.

- Thayer Martin ó New York City en atmósfera de CO₂
- Medio para Gardnerella en atmósfera de CO₂
- Sabouraud con antibiótico u otro medio para Candida.
- Caldo para cultivo de *Trichomonas vaginalis*.

- **Examen de la muestra:**

Examen microscópico: En el exudado vaginal normal se observará flora regional con predominio de morfotipo *Lactobacillus sp.* y células epiteliales.

Evaluar:

- La presencia de leucocitos.
- La presencia de levaduras o pseudohifas.
- La presencia única o abundante de cualquier otro microorganismo.
- El exudado característico de la **VAGINOSIS BACTERIANA:**
 - a) **Presencia de Células “clue”** (células epiteliales recubiertas de bacilos o cocobacilos Gram variables).
 - b) **Ausencia o escasos Leucocitos.**
 - c) **Flora mixta alterada** (Ver Criterios de Nugent en tabla 1).

Tabla 1: Interpretación de VAGINOSIS BACTERIANA mediante tinción de Gram
CRITERIOS DE NUGENT

Lactobacillus	Puntuación	CBGV ⁽¹⁾	Puntuación	BGNC ⁽²⁾	Puntuación	Interpretación
4 (+)	0	4 (+)	4	3-4 (+)	2	Cuantificación: 4 (+) =>30org/campo ⁽³⁾ 3 (+) = 6-30 org/campo 2 (+) = 1-5 org/campo 1 (+) = < 1 org/campo 0 = ningún org/campo
3 (+)	1	3 (+)	3	1-2 (+)	1	
2 (+)	2	2 (+)	2	0	0	Interpretación Puntuación De 0 a 3: No vaginosis bacteriana De 4 a 6 flora vaginal alterada De 7 a 10 VAGINOSIS BACTERIANA
1 (+)	3	1 (+)	1			
0	4	0	0			

(1). Cocobacilos Gram-variables (morfotipo garderella/Bacteroides).

(2). Bacilos Gram negativos curvados (morfotipo Mobiluncus)

(3): Campo de máximo aumento (inmersión).

1. Examen en medios de cultivo: Examinar todos los medios a las 18-24 horas. Si no crecimiento de patógenos, incubar hasta las 48 horas, a excepción del MacConkey que se descarta a las 18 h. El Thayer Martin ó New York City y el caldo de Tricomonas se incubarán, si son negativos, hasta 72 horas.

1. Agar sangre: Presencia de cualquier microorganismo en gran cantidad, con especial atención a ***Streptococcus pyogenes*** o ***S.pneumoniae***.
2. Agar Chocolate: Presencia de cualquier microorganismo en gran cantidad, con especial atención a ***Haemophilus sp.***
3. MacConkey: Presencia de enterobacterias en gran cantidad.
4. Graniada: Presencia colonias con pigmentación naranja correspondientes a ***Streptococcus. agalactiae*** (SGB) y Agar Sangre Nalidixico: con especial interés en colonias β -hemolíticas de ***Streptococcus. agalactiae***.
5. Thayer Martin ó New York City: Presencia de colonias grises brillantes de distinto tamaño, oxidasa positiva, compatibles con gonococo.
6. Medio Gardnerella: Presencia de colonias β hemolíticas puntiformes en gran cantidad: posiblemente ***Gardnerella vaginalis***.
7. Sabouraud: Presencia de levaduras.
8. Caldo para ***Trichomonas vaginalis***: Una gota del caldo de cultivo se monta entre porta y cubreobjetos y se observa al microscopio para detectar tricomonas (con objetivos de 10X y 40X).

IV.- RESULTADOS

Si la tinción de Gram es indicativa de Vaginosis bacteriana se reflejará en el informe: **“Tinción de Gram compatible con vaginosis bacteriana”**.

- Si la tinción de Gram es indicativa de “flora alterada” (sin llegar a vaginosis) se informará : **“Flora vaginal alterada. Repetir”**.
- Si solo hay crecimiento de flora típica vaginal (morfortipo Lactobacillus), se informará como: **“Flora habitual”**.
- Si hay crecimiento de algún o algunos de los gérmenes considerados patógenos: **“Crecimiento escaso, moderado o abundante de ...”**.
- En los casos necesarios, se indicará: **“valorar clínicamente”**.
- No se recomienda realizar de manera rutinaria estudios de sensibilidad a la mayoría de los microorganismos aislados en muestras vaginales.

2.- EXUDADOS VAGINO-RECTALES PARA DESPISTAJE DE PORTADORAS DE *STREPTOCOCCUS AGALACTIAE*

I.- INTRODUCCIÓN

El objetivo es detectar embarazadas portadoras recto-vaginales de *Streptococcus agalactiae* (SGB) para profilaxis de infección neonatal.

II.- MUESTRAS.

Muestras vagino-rectales: Se toman en gestantes entre las 35 y 37 semanas de gestación. Primero se introduce el escobillón en la vagina, se rota por la pared vaginal unos segundos y a continuación, ese mismo escobillón se introduce en el recto, procediendo de igual forma que en la vagina.

El envío de la muestra al laboratorio debe hacerse lo más rápidamente posible.

III.- PROCEDIMIENTOS.

Hay tres métodos:

Método A: Introducir directamente el escobillón en tubo de medio de Granada e incubar a 37°C.

Método B: Sembrar directamente el escobillón en placa de medio de Granada e incubar en anaerobiosis a 37°C ó poner sobre la siembra un cubre e incubar en aerobiosis a 37°C.

Método C: Introducir el escobillón para enriquecimiento en BHI caldo selectivo con antibióticos y subcultivar a las 18-24 horas de incubación a Agar sangre nalidixico que será incubado en atmósfera de CO₂ a 37°C ó a placa de Granada con las mismas condiciones de incubación que las contempladas en el método B.

Examen de la muestra:

Método A y B: Se examinan los tubos ó las placas a las 18 h. y se observa la formación de pigmento naranja en el medio de cultivo indicativo de presencia de SGB. Los tubos o placas negativos se reincuban hasta las 48 horas.

Método C: Se examinan las placas de Granada para presencia de colonias naranjas ó las de agar sangre nalidixico para presencia de colonias β-hemolíticas catalasa negativa y se procede a identificación de **SGB** por métodos establecidos.

IV RESULTADOS.

Se informará como:

“No se aísla *Streptococcus agalactiae*” o “Se aísla *Streptococcus agalactiae*”.

MUESTRAS CUTÁNEAS Y DE PARTES BLANDAS

1.- CATÉTERES

I. INTRODUCCIÓN.

El estudio bacteriológico de los catéteres, nos va a permitir en ocasiones conocer el agente causal de una bacteriemia relacionada con el catéter y por otra parte, prevenir que aparezca dicha bacteriemia. Para valorar su importancia, podemos decir que de una u otra forma el 82% de las bacteriemias nosocomiales se relacionan con la presencia de catéteres.

- Vías de infección:

a) Piel y catéter. En los catéteres periféricos y de corta duración.

b) Endoluminal. En las vías centrales tunelizadas.

Etiología.

Los microorganismos más frecuentes causantes de la colonización e infección del catéter son: *S. epidermidis*, *S. aureus*, *Candida spp*, Enterobacterias y *Acinetobacter spp*.

II. MUESTRAS.

a) Catéter: Una vez extraído el catéter, cortar 3 o 4 cm de la porción distal en condiciones asépticas. Depositar en recipiente estéril sin conservante y transportar de inmediato. Si ello no fuera posible conservar a 4°C.

b) Método conservador: Se obtendrán las muestras mediante escobillón en la puerta de entrada o inserción del catéter e interior de las conexiones.

III. PROCEDIMIENTOS.

a) Catéter:

1. Semicuantitativo. (Técnica de Maki). Se realiza mediante rodamiento en placa de Agar sangre. Punto de corte en 15 ufc. Sus principales limitaciones son que no detecta contaminación intraluminal, riesgos de contaminación y dificultad de realización en catéteres curvos.

2. Cuantitativos. (Técnicas de Cleri, Brun-Buisson, Liñares). Detecta contaminación extra e intraluminal. Punto de corte 10^3 ufc. Su principal limitación su laboriosidad.

b) Método conservador.

Permite el diagnóstico de las bacteriemias asociadas a catéter y su etiología sin necesidad de retirar el mismo.

1. Puerta de entrada o inserción del catéter:

- Tinción de Gram
- Cultivo cualitativo en Agar sangre.

2. Interior de las conexiones:

- Cultivo cualitativo en Agar sangre.

El conjunto de ambos estudios posee un elevado valor predictivo negativo.

IV.- RESULTADOS.

Se informarán los resultados cualitativos y las ufcs. si procede, así como la identificación y el antibiograma correspondiente.

2.- LIQUIDOS ESTÉRILES.

I. INTRODUCCIÓN.

El fundamento de esta sección es la búsqueda de los microorganismos patógenos u oportunistas que pueden estar presentes en los líquidos o fluidos orgánicos. En este grupo incluimos líquidos producidos, ya sea de forma espontánea o bien provocada a nivel de serosas, en las que habitualmente no existen microorganismos y son presumiblemente estériles. Su buen manejo presenta un triple interés por:

1. La trascendencia de esta patología por su elevada morbilidad y mortalidad.
2. Dificultad en diferenciar patógenos y oportunistas como consecuencia de cuidados terapéuticos instaurados o prótesis aplicadas previamente.

3. Posibilidad de contaminación exógena, sea en la obtención o en su manipulación, siendo por ello muy importante extremar las medidas de asepsia de recogida y procesamiento.

Etiología.

Líquido peritoneal:

A. Peritonitis primaria. En cirróticos y ascitis de otra naturaleza.

E. coli, *Klebsiella pneumoniae*, *S. pneumoniae*, *Enterococcus spp* y *S. aureus*. Escasa participación de anaerobios (*Bacteroides spp.* 6%).

B. Peritonitis secundaria. Pérdida de integridad de la barrera (perforación, cirugía etc.). Los agentes aislados, dependen del nivel en que se produce la lesión. Suelen ser polimicrobianas.

Aerobios: *E. coli* y *Enterococcus spp.* como más frecuentes.

Anaerobios: *Bacteroides spp*, *Prevotella spp*, *Clostridium spp* y *Peptostreptococcus spp*.

C. Diálisis peritoneal continua ambulatoria (DPCA). A diferencia de las anteriores son casi siempre de origen exógeno, aunque en ocasiones las soluciones de intercambio pueden provocar aumento de permeabilidad de asa.

Gram positivos: *S. epidermidis*, *S. aureus*, *Streptococcus spp* suponen un 60-70%.

Gram negativos: *E. coli*, *Klebsiella spp*, *Proteus spp* y *Pseudomonas spp* son responsables en el 15%.

Hongos (*Candida spp*, *Fusarium spp*) y Micobacterias excepcionales.

Líquido articular o sinovial:

-Artritis primaria: *S. aureus*, *N. gonorrhoeae* y *Haemophilus influenzae*.

- Post-quirúrgica: *S. epidermidis*.

Líquido pericárdico:

Staphylococcus spp, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus spp* y virus.

Líquido pleural:

Se buscarán patógenos respiratorios.

II. MUESTRAS.

Tipo de muestras:

- Líquido ascítico o peritoneal. DPCA.
- Líquido articular o sinovial.
- Líquido pericárdico.
- Líquido pleural.

Recogida de muestras:

Tras la obtención en condiciones asépticas por personal especializado y en cantidad suficiente, se depositará el líquido obtenido en frasco estéril, a ser posible con tapón de rosca, fondo cónico y se remitirá de forma inmediata al laboratorio.

Una alternativa es la inoculación directa del líquido biológico en frasco aerobio y anaerobio de hemocultivos.

III. PROCEDIMIENTOS.

Centrifugación durante 20 minutos a 3.000-3.500 r.p.m. siempre que sea posible.

1. Líquido ascítico/peritoneal.

- a. Tinción de Gram.
- b. Siembra en agar sangre, MacConkey y placa de anaerobios.
- c. Frasco de hemocultivo aerobio y anaerobio, (si el volumen lo permite).

Nota: Usar sedimento para tinción de Gram y placas.

2. Líquido articular y pericárdico:

- a. Tinción de Gram.
- b. Siembra en agar sangre y MacConkey.
- c. Frascos de hemocultivo aerobio y anaerobio.
- d. En caso de sospecha de infección gonocócica o brucelar sembrar en medios de incubación adecuados.

3. Líquido pleural:

- a. Tinción de Gram.
- b. Siembra en agar sangre, MacConkey y agar chocolate en CO₂.
- c. Frascos de hemocultivo aerobio y anaerobio.
- d. Tinciones y cultivos especiales en función de la sospecha diagnóstica.

Valoración de los cultivos:

Placas: Examinar a las 24, 48 y 72 horas de incubación.

Caldos: Examinar diariamente hasta completar una semana de incubación.

IV. RESULTADOS.

- a. Presencia de uno o dos microorganismos: Informar identificación y sensibilidades de cada uno.
- b. Presencia de tres o más microorganismos: Informar microorganismos aislados.

3.- PIEL/PARTES BLANDAS Y ABSCESOS.

I. INTRODUCCIÓN.

El fundamento de esta sección es la búsqueda de los microorganismos patógenos u oportunistas causantes de infecciones de piel, partes blandas y abscesos.

La pérdida de continuidad de la piel, por cirugía o heridas de índole diversa, determina que la flora de la piel y mucosas pueda infectar tejidos normalmente estériles. La correcta valoración e interpretación de los resultados obtenidos en estos cultivos se hará teniendo en cuenta los datos aportados por la tinción de Gram, así como la información clínica disponible.

Etiología.

- A. Abscesos: Varían en función de la localización de los mismos. Así en colecciones de origen abdominal (hepático, pancreático, esplénico, biliar), suelen ser polimicrobianos con presencia de flora aerobia y/o anaerobia.

En abscesos cerebrales, se puede encontrar flora del tracto orofaríngeo, polimicrobiana y con participación anaerobia. En caso de empiema subdural, *Streptococcus spp.*, *Staphylococcus spp.* y tras cirugía *Propionibacterium spp.* Procesar según protocolo de anaerobios.

- B. Heridas: Los microorganismos más frecuentes son *Staphylococcus spp.*, Enterobacterias y microorganismos nosocomiales.

- C. Mediastinitis: Las secundarias a cirugía cardiovascular, suelen tener como agentes causales a cocos Gram positivos, bacilos Gram negativos o levaduras. Las secundarias a cirugía de cabeza-cuello, suelen ser polimicrobianas aerobias y/o anaerobias.
- D. Piel- tejidos blandos: Los microorganismos más frecuentes son:

Streptococcus grupos A, C, G en celulitis, impétigo y miositis.

Staphylococcus spp. en impétigo, celulitis y gangrena sinérgica.

Muestras óseas: Habitualmente tras cirugía ortopédica *Staphylococcus spp.* y Enterobacterias

II. MUESTRAS.

1. Material obtenido en el acto quirúrgico: Las muestras tisulares, pus y exudado así obtenidos son las muestras idóneas ya que evitan la contaminación de la flora habitual y permiten aislar exclusivamente agentes causales. Se debe recoger suficiente volumen mediante aspiración con aguja y jeringa y procesar según protocolo de anaerobios.
2. Aspiración con aguja y jeringa, previa desinfección con alcohol y povidona yodada y procesar según protocolo de anaerobios.
3. Escobillón: Método poco deseable al recoger menor volumen de muestra, ser poco representativo y tener mayor riesgo de contaminación. Si se utiliza este método, enviar dos escobillones. Requiere como en la aspiración una cuidadosa limpieza y desinfección de la zona antes de la toma de la muestra.

Transporte.

- A. Biopsias. Transportar inmediatamente al laboratorio en recipiente estéril. Con ello evitaremos desecación del tejido y mantendremos viabilidad especialmente de anaerobios.
- B. Material de aspiración. Utilizar vial de transporte anaerobio expulsando previamente el aire de la jeringa. Es admisible el envío de la jeringa respetando las normas de seguridad. Transporte al laboratorio antes de 2 horas.
- C. Escobillones. En medio de Stuart o Amies y remitir al laboratorio antes de 2 horas.

La valoración de estas muestras estaría directamente relacionada con la tinción de Gram.

III. PROCEDIMIENTOS.

A. TEJIDOS

1. Cultivo cualitativo.

- a) Realizar impronta directa con una pequeña porción del tejido para tinción de Gram.
- b) Homogeneizar en thioglicolato u otro caldo nutritivo y a partir del homogeneizado, inocular los medios sólidos y líquidos y realizar tinción de Gram.
- c) Conservar tejido u homogeneizado refrigerado o congelado para otras posibles o futuras determinaciones.

2. Cultivo cuantitativo. (Recomendable)

- a) Pesar una porción de la muestra o la muestra entera si fuese pequeña, anotando en el reverso del volante el valor de la pesada.
- b) Depositar la muestra en un homogeneizador de vidrio con 1 ml. de agua estéril o suero salino.
- c) Tras homogeneizar, realizar las diluciones adecuadas y sembrar cada una de ellas con asa calibrada en agar sangre.

B. MATERIAL DE ASPIRACIÓN:

Tras agitar enérgicamente, inocular directamente medios sólidos y líquidos, así como realizar extensión para tinción de Gram.

Si hubiere volumen suficiente, puede centrifugarse, realizando todos los procedimientos a partir del sedimento.

C. ESCOBILLONES.

Sembrar y/o introducir en 0.5-1 ml de thioglicolato u otro caldo nutritivo y agitar.

Presionar contra la pared del tubo, escurrir y eliminar.

A partir de la suspensión inocular medios y realizar tinción de Gram.

El tubo con thioglicolato o caldo nutritivo se dejará a temperatura ambiente, como muestra residual.

Medios de cultivo.

- a) Agar Sangre.
- b) Agar MacConkey.
- c) Placa para anaerobios.
- d) Caldo Thioglicolato (en tejidos y material por aspiración).
- e) Medios especiales para bacterias exigentes si fueran necesario.

IV.- RESULTADOS.

1. Tinción de Gram:

Valorar presencia de leucocitos, células epiteliales, bacterias y hongos. Un exceso de células epiteliales, indica alta probabilidad de contaminación de superficie, restando importancia a los aislamientos obtenidos. En caso de visualización de *Clostridium spp.*, cocos Gram positivos en líquido articular, flora mixta o imágenes sugestivas de anaerobios en un absceso, se emitirá un informe preliminar.

2. Cultivos:

Placas: Examinar a las 24, 48 y 72 horas de incubación.

Caldos: Examinar diariamente hasta completar una semana de incubación.

En función de la muestra se podrán mantener las placas y caldos durante una semana o el tiempo de incubación necesario.

En el caso de biopsias de escaras en quemados la valoración es cuantitativa, considerando como positivos cultivos con recuentos iguales o superiores a 10^5 ufc. (punto de corte). En el resto de las muestras la valoración es cualitativa, presentando dificultades especialmente en zonas colonizadas con una flora saprofita sobre las que se realiza toma de muestra con escobillón. En éstos casos, una adecuada información clínica (cuerpo extraño, etc.) y carácter del cultivo (aislamiento único) pueden resultar decisivas en la interpretación del cultivo.

Se emitirán informes preliminares pertinentes siempre que se consideren oportuno para el manejo clínico del paciente.

Informe definitivo: Se indicará la purulencia de la muestra, microorganismos aislados y prueba de sensibilidad, si procede.

MUESTRAS DEL TRACTO RESPIRATORIO SUPERIOR

Las infecciones del Tracto Respiratorio Superior, son las más frecuentes en la especie humana.

El Tracto Respiratorio Superior, está constituido por varios espacios anatómicos que se comunican entre sí. Están recubiertos por el mismo tipo de tejido epitelial y comparten unos mecanismos de defensa similares, por ello, sus infecciones están producidas, prácticamente por los mismos tipos de microorganismos.

1. MUESTRAS FARÍNGEAS Y AMIGDALARES:

I.- INTRODUCCIÓN.

Más del 70% de procesos están ocasionados por virus: Rinovirus, Coronavirus, Adenovirus (3, 4, 7, 14, 21), virus Parainfluenza, virus de la Gripe, Virus Coxsackie A y otros Enterovirus, virus Epstein-Barr y virus Herpes Simple tipo I.

Entre el 10-20% de las faringitis agudas en niños de 5-10 años, están ocasionadas por *Streptococcus pyogenes*. Otras bacterias patógenas son: estreptococos grupos C o G, *Corynebacterium diphtheriae*, *A. haemolyticum*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Hemophilus influenzae* (epiglotitis) y *Borrelia vincentii*.

II.- MUESTRAS.

Las muestras de exudado faringo-amigdalár se obtienen con la ayuda de un depresor lingual, tocando con la torunda todas las partes con exudados, membranas o inflamación. Se deben frotar las criptas tonsilares y la faringe posterior. No se requieren medidas especiales para su transporte y conservación.

En la toma de muestras de la epiglotitis, debido al riesgo de complicaciones, se hace por un especialista en las condiciones adecuadas. Es recomendable realizar hemocultivo.

III. PROCEDIMIENTOS.

- A) Cultivo: Normalmente se limita el aislamiento de estreptococos β -hemolíticos, por tanto, la muestra de exudado faríngeo se sembrará en una placa de Columbia agar sangre incubada en anaerobiosis a 37°C o en una placa de agar selectivo para *S. pyogenes* que se incubará durante 48 horas a 37°C en atmósfera de CO₂.
- B) En caso de diagnóstico de epiglotitis (sospecha de infección por *H.influenzae*) se incluirá una placa de agar chocolate y cuando exista sospecha de infección por *N. gonorrhoeae* una placa selectiva (agar Martin-Lewis o similar). Las condiciones de incubación son las descritas anteriormente.

- C) Detección de antígeno directo de *S. pyogenes* extraído por métodos enzimáticos o químicos y seguido de coaglutinación, EIA o aglutinación con partículas de látex.

IV.- RESULTADOS.

Se informará como: “**se aísla**” nombre del microorganismo aislado. “**no se aíslan**” estreptococos β -hemolíticos o flora habitual.

2.- MUESTRAS ÓTICAS.

I.- INTRODUCCIÓN.

Los microorganismos patógenos más frecuentes en las Otitis externas son: *Pseudomonas aeruginosa* y otros bacilos Gram negativos oportunistas especialmente *Proteus spp.* y menos frecuentemente: *Staphylococcus aureus*, *Aspergillus spp* y *Candida spp.*

Los microorganismos que pueden ocasionar inflamación del oído medio son: *S. pneumoniae*, *H. influenzae* y *Moraxella catarrhalis* y menos frecuentes: *S. pyogenes*, *S. aureus* y enterobacterias.

II.- MUESTRAS.

En las otitis externas se tomará la muestra mediante frotis con torunda, raspado o aspiración del fluido en caso de abscesos. Se obtendrá la muestra del borde activo y el exudado o las secreciones de las zonas profundas. Se tomará una muestra por cada oído.

En las otitis medias debe obtener la muestra un especialista en O.R.L. Se limpiará el canal auditivo externo con una torunda impregnada en povidona yodada. Se puncionará el tímpano a través de un otoscopio estéril. La muestra se enviará en un contenedor estéril. Cuando no sea suficiente se tomará con una torunda para cultivo.

III.- PROCEDIMIENTOS.

Las muestras se sembrarán en una placa de Columbia agar sangre que se incubará durante 48 horas a 37°C y en atmósfera de CO₂ y una de MacConkey (u otro medio para gramnegativos), que se incubará a 37°C en aerobiosis. Se podrá incluir una placa para el cultivo de hongos. Además, se incluirá una placa de agar chocolate durante 48 horas a 37°C y en atmósfera de CO₂ en caso de otitis media o sinusitis.

IV.- RESULTADOS.

El resultado se informará como: **“se aísla”** nombre del microorganismo aislado y estudio de sensibilidad. **“Flora habitual”** si se cultiva uno o más de los microorganismos considerados comensales o **“cultivo negativo”**.

3. MUESTRAS DE ASPIRADOS SINUSALES.

La etiología es similar a la de la otitis media, además de anaerobios estrictos. Para su diagnóstico es necesario el cultivo del aspirado purulento tras la punción del seno. Es conveniente utilizar un medio de transporte para anaerobios.

4. MUESTRAS NASALES.

La muestra se obtiene introduciendo una torunda para cultivo, previamente humedecida, unos 2 cm. en la nariz, y girando suavemente contra la mucosa de la superficie nasal.

El exudado nasal se sembrará en una placa de Columbia agar sangre que se incubará a 37°C en CO₂ y/o en una placa de agar manitol-salino que se incubará a 37°C en aerobiosis, durante 48 horas.

Se informará únicamente el crecimiento de *S. aureus* y se estudiará su resistencia a metilicina.

5. MUESTRAS DE LA CAVIDAD ORAL.

Esta muestra se emplea casi exclusivamente para el diagnóstico de candidiasis. Para lo cual tras enjuagar la boca, se frota las lesiones con una torunda para cultivo. No requiere condiciones especiales para su transporte y conservación.

Las muestras tomadas de la cavidad oral se realizará tinción o examen en fresco y se sembrarán en una placa de agar sangre que se incubará a 37°C en CO₂ y/o en una placa de medio para *Candida* que se incubará a 37°C en aerobiosis, tiempo de incubación 48 horas.

Se informará como: **“se aísla”** *Candida spp.* o **“no se aísla”** *Candida spp.*

6. MUESTRAS NASOFARÍNGEAS.

Las muestras, tales como aspirado, lavado o torunda son útiles para diagnóstico de infecciones por virus respiratorios, especialmente por Virus Respiratorio Sincitial.

Las muestras de nasofaringe se obtienen utilizando torundas flexibles de alginato cálcico y pasándolas a través de la nariz suavemente, hasta llegar a la nasofaringe. Hay que mantener la torunda cerca del septum y suelo de la fosa. Rotar la torunda y extraerla.

Los aspirados se obtienen aspirando el moco, pasando el tubo de teflón o un catéter conectado a una jeringa por vía pernasal, de igual forma que la torunda.

SITUACIONES ESPECIALES

- INVESTIGACION DE *C.diphtheriae*: Para su aislamiento utilizar una placa de agar sangre y otra de un medio con telurito. Además, se recomienda medio de Loeffler, sobretodo, si no se utiliza medio liquido de enriquecimiento para su transporte. No es recomendable emitir juicios diagnósticos basados en la morfología tintorial.

Se recomienda, ante cualquier sospecha de aislamiento de *C. difteria* contactar con el Servicio de Medicina Preventiva.

- INVESTIGACION DE *B.pertussis*: Utilizar para su aislamiento medios específicos tales como Bordet-Genjou, Jones-Kendrick, Regan-Lowe, etc., temperatura de 35°C e incubación en aerobiosis.
- Portadores de *N.meningitidis* y *N.gonorrhoeae*: Utilizar medios selectivos (Martin-Lewis, VCAT, etc.)
- Angina de Vincent: Utilizar tinción de carbolfucsina diluida.

MUESTRAS DE TRACTO RESPIRATORIO INFERIOR

Las infecciones del tracto respiratorio inferior son una causa importante de morbilidad y mortalidad. Se puede obtener una gran diversidad de muestras, cada una de las cuales, estará indicada en procesos infecciosos y circunstancias determinadas. Por otra parte, el diagnóstico microbiológico se complica por la dificultad de obtener una muestra no contaminada con la flora del tracto respiratorio superior. Es por tanto de la máxima importancia que el laboratorio se asegure de que la muestra que se está procesando sea adecuada tanto para el proceso que se quiere diagnosticar como por su calidad (no contaminada con flora del tracto superior).

1.- MUESTRAS OBTENIDAS POR MÉTODOS NO INVASIVOS:

Espustos, aspirados traqueales y aspirados bronquiales

I.- INTRODUCCIÓN.

Se investigarán rutinariamente, las bacterias productoras habituales de neumonías: *S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *B. catarrhalis*. Enterobacterias, Bacilos Gram negativos no fermentadores, *S. aureus*, se valorará la presencia en cultivo puro o predominante.

Asimismo, se valorará la presencia de hongos filamentosos.

Se estudiará especialmente, cuando se solicite o cuando se sospeche:

- Micobacterias (por sus técnicas diferentes no se recogen en este protocolo).
- *Nocardias ssp.*
- *Legionella pneumophila.*

II.- MUESTRAS:

a. Esputos.

La toma correcta del esputo es fundamental. Es aconsejable que el paciente se enjuague la boca previamente con solución salina o agua. El esputo procederá de una expectoración profunda preferentemente matinal por lo cual hay que instruir al paciente para que no expectore saliva o descarga postnasal dentro del contenedor. Si no se produce expectoración espontánea puede inducirse el esputo con nebulizaciones de suero salino fisiológico estéril.

Se aconseja que las muestras de esputo sean siempre examinadas por personal capacitado antes de enviar al laboratorio, para comprobar que no es sólo saliva.

b. Aspirado traqueal.

Se realiza a través del tubo endotraqueal o traqueotomía.

Es una muestra, en general de poca utilidad diagnóstica.

c. Aspirado bronquial.

Se recogen secreciones bronquiales, pudiendo introducirse de 3 a 5 ml. de solución salina estéril.

Recoger la muestra en contenedores estériles con cierre de rosca hermético, de boca ancha.

Si el envío se demora más de una hora conservar en frigorífico (2-8°C)

Se rechazarán:

- Las muestras constituidas exclusivamente por saliva.
- Identificación incorrecta de la muestra.
- Conservación inadecuada de la muestra.
- Contenedores mal cerrados o rotos con muestras derramadas.

III.- PROCEDIMIENTOS.

Todas las muestras del tracto respiratorio deberán procesarse en cabinas de seguridad biológica.

Se anotará si el esputo es purulento, hemoptoico, mucoide o contiene saliva.

Se debe procesar la parte más purulenta o hemoptoica, o bien homogeneizar la muestra.

Examen microscópico y evaluación de la calidad de la muestra:

- **Tinción de Gram:**

- a) Para evaluar la calidad de las secreciones respiratorias indicada por la presencia de leucocitos polimorfonucleares (PMNs) y la presencia de contaminación orofaríngea indicada

por las células epiteliales (CEs). Se observan de 10 a 20 campos con el objetivo 10x y se promedia el número de células epiteliales y PMNs por campo.

Son muestras aceptables para estudio microbiológico:

1. Muestras con menos de 10 células epiteliales y más de 25 PMNs por campo de 10x .

2. Muestras con una relación de PMNs y CEs $\geq 2:1$.

3. En pacientes leucopénicos, muestras sin leucocitos y sin CEs pero con células ciliadas respiratorias derivadas de tracto respiratorio inferior.

b) Si la muestra es aceptable según los criterios anteriores, examinar con aceite de inmersión (objetivo de 100x) para identificar el microorganismo patógeno más probable indicado por el microorganismo predominante. Asimismo, se anotará la presencia de otros morfotipos bacterianos de interés. (Concentrar el examen en las zonas con leucocitos, evitando las zonas con contaminación orofaríngea).

Si la muestra no es de calidad aceptable según los criterios anteriores (abundantes células epiteliales y ningún microorganismo predominante), el laboratorio debe adoptar, en general, el criterio de no cultivar e informar de la siguiente manera: "Muestra con abundantes células epiteliales indicativas de contaminación con flora orofaríngea. Enviar nueva muestra."

Auramina: es recomendable realizar auramina rutinariamente a todos los esputos.

- **Cultivo:**

Puede realizarse cualitativo (observar organismo predominante) o cuantitativo, sembrando con asa calibrada el esputo homogeneizado (1 ó 10 µl.) (significativo igual o mayor de 10⁶ ufc/ml).

Agar Sangre CO₂

Agar chocolate CO₂

MacConkey.

Las placas se examinarán a las 24 y 48 horas, excepto el MacConkey, que se descartará si es negativo a las 24 horas.

Si en agar sangre y agar chocolate sólo se observa flora orofaríngea descartar los cultivos.

- Agar Sangre: Valorar microorganismo predominante o con recuento significativo, con especial interés en *S.pneumoniae* y en su caso el *S. aureus*.

- Agar Chocolate: Valorar microorganismo predominante o con recuento significativo con especial interés en *H.influenzae* y *Branbammella catbarralis*.

- Agar MacConkey: Valorar bacilos Gram negativo abundantes y predominantes como enterobacterias o bacilos Gram negativo no fermentadores.

ESTUDIOS ESPECIALES

Legionella pneumophila:

En caso de sospecha, recomendamos la detección de antígenos en orina.

Otras técnicas a realizar:

- Inmunofluorescencia directa.
- El cultivo en medios enriquecidos y selectivos de *Legionella*. Incubar las placas en CO₂ una semana.

Nocardia sp:

Tinción de Gram: bacilos Gram positivos ramificados y filamentosos.

Tinción de Ziehl ó Kynoun: bacilos débilmente ácido- alcohol resistentes.

Sembrar en agar sangre y BHI agar. Incubar las placas una semana en atmósfera de CO₂.

En incubaciones prolongadas se recomienda el sellado de las placas.

Fibrosis Quística:

Para el estudio de las secreciones respiratorias de la Fibrosis quística se recomienda contactar con el Servicio de Microbiología o que se indique claramente en el volante de petición.

IV.- RESULTADOS.

Si se aísla algún patógeno en cultivo predominante o recuento significativo: "Crecimiento predominante de" o "Número de ufc/ml. de....."

Si no se aísla ningún patógeno en cultivo predominante y sí flora orofaríngea: "Desarrollo de flora habitual"

Si el cultivo es negativo después de 48 horas: "Cultivo negativo"

2.- MUESTRAS OBTENIDAS POR MÉTODOS INVASIVOS:

a. LAVADOS BRONCOALVEOLARES.

I.- INTRODUCCIÓN.-

- Cultivo cuantitativo en aerobiosis para aislamiento de bacterias productoras de neumonía. Se consideran recuentos significativos los recuentos iguales o superiores a 10^4 ufc/ml.

- Cultivo no cuantitativo para investigación de *Legionella spp* y hongos:

En pacientes con factores de riesgo, se realizarán tinciones para investigación de *M. tuberculosis*

- Cultivo de Micobacterias y virus (Por las características de las técnicas no se recogen en este protocolo).

II.- MUESTRAS.

Se realiza mediante fibrobroncoscopio.

Se transportarán en contenedores estériles y se enviará de inmediato al laboratorio, los anestésicos locales tienen acción antimicrobiana y antimicobacteriana. Cuando no sea posible el envío inmediato, conservar entre 2-8°C.

Se rechazarán:

- Las muestras mal identificadas (contactar con el clínico peticionario).

- Muestras derramadas por remitirse en contenedores mal cerrados o rotos.

III. PROCEDIMIENTOS.

Se debe homogeneizar la muestra en agitador y si fuera necesario con perlas de vidrio estériles.

Examen directo:

Según la sospecha diagnóstica, se realizarán extensiones del sedimento obtenido tras centrifugar para las siguientes determinaciones:

- **Tinción de Gram:** Valoración de la muestra.
- **Tinción de Giemsa:** *P. carinii*, hongos, otros...
- **Tinción para hongos (blanco de calcoflúor, potasa u otras)**
- **Para Inmunofluorescencia de *P. carinii*.**
- **Para Inmunofluorescencia de *Legionella pneumophila*.**

Cultivo:

Sembrar cuantitativamente para que permita el recuento de como mínimo 10^4 ufc/ml en:

- Agar sangre CO₂
- Agar chocolate CO₂
- MacConkey.

Si existe sospecha de hongos o Legionela: Centrifugar la muestra 15 minutos a 3.000 r.p.m. y sembrar el sedimento en los medios adecuados.

Se examinarán las placas incubadas en aerobiosis y CO₂ a las 18-24 horas. Si son negativas reincubar hasta 72 horas, excepto el MacConkey que se descartará si resulta negativo a las 18 horas. Las placas de hongos se reincuban hasta 21 días y si hay sospecha de algún patógeno exigente incubar el tiempo necesario.

IV.- RESULTADOS.

- Informar siempre del examen microscópico directo de la muestra.
- Si se aísla algún patógeno en recuento significativo: "Número ufc/ml de....".
- Si se aísla algún patógeno en recuento inferior al significativo: "< de número de ufc/ml de.....".
- Si no se aísla ningún patógeno y sí, flora orofaríngea: "Crecimiento de flora orofaríngea".
- Si el cultivo es negativo: "Cultivo negativo endías".
- Se informará siempre la presencia de hongos, Nocardia, Legionella en cualquier cantidad.

b. CEPILLADO BRONQUIAL POR CATETER TELESCOPADO.

I.- INTRODUCCIÓN.

Cultivo cuantitativo de bacterias aerobias y anaerobias productoras de infecciones de tracto respiratorio inferior. Recuentos significativos igual o mayor de 10³ ufc/ml.

II.- MUESTRAS.

Cepillar la mucosa bronquial del lóbulo afectado a través de un fibrobroncoscopio, mediante un cepillo telescopado protegido por un doble catéter ocluido distalmente para evitar la contaminación por flora de las vías altas.

Depositar el cepillo sin vaina en 1 ml. de solución salina estéril o de lactato de Ringer. Enviar rápidamente al laboratorio. Si se retrasa el envío conservar a temperatura ambiente.

III.- PROCEDIMIENTOS.

Homogeneizar la muestra en un agitador:

- **Examen directo:** con tinción de Gram para evaluar leucocitos, células epiteliales y morfotipos bacterianos.

- **Cultivo:**

Sembrar cuantitativamente para permitir como mínimo un recuento de 10^3 ufc/ml

- Agar sangre CO₂

- Agar chocolate CO₂

- Agar MacConkey.

- Agar sangre en anaerobiosis.

- Otro medio selectivo para Anaerobios.

Si sospecha de hongos o Legionela: Centrifugar la muestra 15 minutos a 3000 r.p.m. y del sedimento sembrar en medios adecuados.

Examinar las placas incubadas de aerobiosis y CO₂ a las 18-24 horas. Examinar las placas de anaerobiosis a las 48 horas. Si son negativas reincubar hasta 72 horas, excepto el MacConkey que se descartará si resulta negativo a las 18 horas. Las placas de hongos se reincuban hasta 21 días y si hay sospecha de algún patógeno exigente incubar el tiempo necesario.

IV.- RESULTADOS

- Informar siempre del examen microscópico directo.
- Si se aísla algún patógeno en recuento significativo: "Número de ufcs/ml de....."
- Si se aísla algún patógeno en recuento inferior al significativo: "< de Número de ufcs/ml de...".
- Si no se aísla ningún patógeno y sí flora orofaríngea: "Crecimiento de flora orofaríngea".
- Si el cultivo es negativo: "Cultivo negativo en días".
- Se informará siempre la presencia de hongos, nocardia, legionella en cualquier cantidad.

c. PUNCIÓN TRANSTRAQUEAL, PUNCIÓN TRANSTORÁCICA Y BIOPSIAS RESPIRATORIAS:

I.- INTRODUCCIÓN.

- Cultivo de bacterias aerobias y anaerobias causantes de infección de tracto respiratorio inferior.
- Cultivo de levaduras y hongos filamentosos. Tinciones para *Pneumocystis* (por petición o sospecha en pacientes inmunodeprimidos).
- Cultivo de Micobacterias (por las características de las técnicas no se recogen en este protocolo).
- Cultivo de Virus (por las características de las técnicas no se recogen en este protocolo).

II.- MUESTRAS.

Son muestras tomadas con técnicas muy invasivas por lo cual han de ser enviadas en contenedores estériles rápidamente al laboratorio. Las biopsias deben enviarse en 1 ml. de solución salina estéril para evitar su desecación. La política del laboratorio puede ser que el clínico contacte con el laboratorio de microbiología antes de enviar este tipo de muestra para que el laboratorio esté alerta.

III.- PROCEDIMIENTO.

Las biopsias serán homogeneizadas, por machacado en mortero estéril o con bisturí estéril (técnica más apropiada para cultivo de hongos)

Examen directo:

- Tinción de Gram: para evaluar leucocitos, células epiteliales y morfotipos bacterianos.
- Tinción de ácido- alcohol resistente.
- Tinción de hongos: (Blanco de calcoflúor, KOH, u otras).
- Inmunofluorescencia directa Pneumocistis.
- Inmunoflorescencia directa Legionela.

Cultivo: Sembrar:

- Agar Sangre CO₂
- Agar Chocolate CO₂
- Agar MacConkey.
- Agar Sangre Anaerobiosis.
- Otro medio selectivo anaerobios.
- Thioglicolato u otro caldo similar.
- Medios para hongos.
- Medio selectivo Legionella CO₂

Examinar las placas incubadas de aerobiosis y CO₂ a las 18-24 horas. Examinar las placas de anaerobiosis a las 48 horas. Si son negativas reincubar hasta 72 horas, excepto el MacConkey que se descartará si resulta negativo a las 18 horas. Las placas de hongos se reincuban hasta 21 días y si hay sospecha de algún patógeno exigente incubar el tiempo necesario.

IV.- RESULTADOS.

Cualquier hallazgo significativo, se informará telefónicamente y por escrito tanto de los exámenes directos como de los cultivos.

Si hay crecimiento de microorganismos: informar con su identificación y antibiograma.

Si no hay crecimiento de microorganismos: "Cultivo negativo en días".

BIBLIOGRAFÍA

Barenfanger J. 2000. Quality In, Quality Out: Rejection Criteria and Guidelines for Commonly (Mis) Used Tests. Clin Microbiol Newsletter 22:65-72.

Forbes BA, DF Sahm, and AS Weisfeld. 1998. Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology. 10th ed. Mosby-Year Book, Inc. St Louis. MO.

Isemberg H. 1992. Clinical Microbiology Procedures Handbook. American Society for Microbiology. Washington DC.

Miller JM. 1996. A Guide to Specimen Management in Clinical Microbiology. American Society for Microbiology. Washington DC.

Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH (eds). 1999. Manual of Clinical Microbiology (7^a ed). American Society for Microbiology. Washington DC.

Procedimientos en Microbiología Clínica. Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica.

Sharp SE. 1999. Algorithms for wound specimens. Clin Microbiol Newsletter 21:118-120.



Servicio Andaluz de Salud

S.A.M.P.A.C.
Sociedad Andaluza de
Microbiología y Parasitología
Clinica