

## CULTIVOS DE HERIDAS, ABSCESOS Y TEJIDOS BLANDOS

**Propósito del examen.** El cultivo de muestras de heridas, abscesos y tejidos blandos se realiza para detectar bacterias que sean agentes causales de infección.

**Principio y método del procedimiento utilizado para el examen.** Aislar los organismos asociados con infección de heridas, abscesos y tejidos blandos para que se puedan realizar las intervenciones necesarias. Estos agentes causales de infección se pueden cultivar en medios semisólidos. Este cultivo permite confirmar el diagnóstico de infección y la realización de pruebas de susceptibilidad.

**Características de desempeño.** A definir por cada laboratorio

**Tipo de muestra.** Muestras de heridas, abscesos, o tejidos

Los laboratorios deben diferenciar las muestras superficiales (heridas, abscesos, o tejidos) de las muestras profundas (heridas profundas o abscesos o fluidos obtenidos por procedimientos invasivos).

En muestras superficiales (heridas, abscesos o tejidos) usualmente crecen patógenos primarios que causan infección en piel y tejidos blandos. Los agentes causales primarios de piel y tejidos blandos son *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, miembros de la familia *Enterobacteriaceae*, estreptococos beta-hemolíticos y anaerobios.

Una diversidad mucho mayor se puede encontrar en heridas profundas o abscesos, fluidos o tejidos colectados de manera invasiva.

### Tipos comunes de muestras de abscesos y heridas superficiales y profundas

Tipo de muestra	Sitio o fuente	Comentarios
<b>Absceso</b>		
<i>Superficial</i>	Furúnculos, quistes infectados, abscesos de piel, heridas quirúrgicas superficiales	Definida como infectada si hay drenado a través de la piel, pero no se extiende más profundo que la dermis. Solo se requiere cultivo aerobio
<i>Profundo</i>	Cualquier sitio, incluyendo tejidos profundos	Espacio cerrado en tejidos que se extiende más profundo que la dermis (se requieren cultivos aerobios y anaerobios)
<b>Herida</b>		
<i>Superficial</i>	Abrasiones, cortadas, laceraciones, o úlceras de cualquier sitio, impétigo, foliculitis, celulitis o quemaduras	Herida de la piel que no se extiende más profundo que la dermis. Solo se requiere cultivo aerobio
<i>Profunda</i>	Heridas quirúrgicas profundas que van a través de superficies mucosas (abdominal, pélvica, o pecho) Heridas por mordedura Heridas profundas traumáticas, (ejemplo heridas de bala, punciones, cuchilladas, quemaduras de tercer grado por electrocución)	Heridas que penetran más profundo que la dermis de la piel o están localizadas en tejidos profundos. Se requieren cultivos anaerobios.

## **Preparación del paciente, toma de la muestra, evaluación de la calidad y conservación de la muestra**

### **Consideraciones generales.**

- Preferentemente colectar la muestra antes del inicio de la terapia.
- Tomar muestra preferentemente de tejido infectado, más de que detritos superficiales.
- Evitar la toma de muestra con hisopos si se pueden tomar aspirados o biopsias.

### **Hisopados de heridas superficiales**

- Las heridas superficiales son frecuentemente hisopadas para colectar la muestra porque no hay suficiente fluido o aspirado
- Solo tomar muestra de heridas infectadas, crónicas o que no estén curando.
- Las heridas superficiales o profundas, incluyendo las mordeduras, deben ser cultivadas solo si están clínicamente infectadas, en deterioro o que no estén curando.
- Toma de muestra:
  - Para heridas abiertas, debridar, si es apropiado y enjuagar abundantemente con solución salina estéril antes de tomar la muestra.
  - Rotar la superficie del hisopo aproximadamente 5 veces enfocándose a las áreas con inflamación o pus.
  - Colocar el hisopo en medio de transporte como el de Stuart o el Amies.

### **Abscesos cerrados.**

- Toma de muestra:
  - Para abscesos cerrados, desinfectar con clorhexidina al 2% (de manera análoga a la toma de un hemocultivo).
  - Aspirar el material con jeringa y aguja y colocar en un contenedor estéril (puede ser un tubo para sangre sin anticoagulante).
  - Si se falla para obtener suficiente material, se puede inyectar salina estéril y volver a succionar.
  - Colocar en un tubo estéril o colocar en medio de transporte de anaerobios si se requieren cultivos anaerobios.
  - No se deben aceptar jeringas con aguja por los riesgos con punzocortantes.

### **Abscesos con drenaje.**

- No deben ser enviados para cultivo los dispositivos de drenado o material de la bolsa de colección
- Toma de muestra:
  - Desinfectar el tubo de colección y asépticamente aspirar fluido fresco del tubo.
  - Colocar el drenado en un frasco estéril y enviar al laboratorio.

### **Biopsias y tejido.**

- Las biopsias de tejido se colectan de áreas de la lesión o adyacentes a la lesión.
- Tomar suficiente muestra para proceso de estudios (por ejemplo, una biopsia de 3-4 mm)
  - Toma de la muestra **(de acuerdo con el hospital)**

### **Etiquetado de las muestras**

- Es importante que además de los requisitos normales del laboratorio se incluya el detalle del tipo de muestra (tejido profundo, tejido superficial, sitio de catéter, decúbito, absceso, celulitis, aspirado de pus, drenado, incisión quirúrgica, etc.) y el sitio de colección.

### **Envío de las muestras**

- Los aspirados tejidos deben ser enviados al laboratorio dentro de los 30 min siguientes a la recolección.
- No refrigerar o incubar las muestras.
- Si hay un retraso en el envío al laboratorio, mantener a temperatura ambiente (a bajas temperaturas, se disuelve más oxígeno en la muestra y lo cual puede dañar los anaerobios).

### **Criterios de rechazo**

- No se aceptan muestras con formol
- Si se observan abundantes células escamosas en la tinción de Gram, especialmente de hisopados, solicite una nueva muestra si hay evidencia de infección.
- Fomente que no se hagan cultivos para saber si una herida está infectada, ya que el cultivo se toma solo si hay evidencia clínica de infección

### **Equipo y reactivos requeridos**

- EMB o agar MacConkey
- Agar chocolate para abscesos cerrados, tejidos quirúrgicos, biopsias, aspirados
- Agar sangre
- Agar alcohol fenil etílico, columbia colistina -ácido nalidíxico, agar sangre con azida de sodio
- Caldo para tejidos o aspirados. Puede usarse BHI anaeróbico, caldo soya tripticasa con 0.1% de agar. Aunque el tiogicolato es un excelente medio para la recuperación de anaerobios, es poco adecuado para recuperar especies aerobias incluyendo levaduras.
- Medios adicionales para patógenos especiales o inusuales
- Reactivos para identificación de acuerdo con el laboratorio
- Material para pruebas de sensibilidad a los antibióticos de acuerdo con el laboratorio
- Incubadora de 35-37 °C, aerobiosis
- Incubadora de 35-37 °C, 5% de CO<sub>2</sub>

**Controles ambientales y de seguridad.** A definir por cada laboratorio

**Procedimientos de calibración (trazabilidad metrológica).** A definir por cada laboratorio

### **Pasos del procedimiento**

- Para cualquiera de las muestras, sacar las placas para siembra del refrigerador y permitir que se atemperen.

### **Biopsias.**

Se puede usar una placa Petri con un bisturí, un equipo *Stomacher* o un mortero (a definir protocolo por cada laboratorio de acuerdo con disponibilidad). Llevar a cabo el proceso de dentro de una campana de seguridad biológica.

#### Homogenización de biopsias

- Si el tejido se puede romper o disgregar fácilmente, (ejemplo pulmón, cerebro o riñón), cortar una porción del tejido en varias piezas usando un bisturí o tijeras. Sembrar un pedazo de tejido en cada placa.
- Si el tejido es duro (por ejemplo, hueso o piel), se puede usar un bisturí para cortar pedazos pequeños del pedazo grande de muestra. Este procedimiento se debe realizar con cuidado, ya que tiene riesgos por el manejo de punzocortantes y la manipulación de la muestra puede ser causa de contaminación. Sembrar un pedazo de tejido en cada placa. (Existen equipos comerciales para la preparación de muestras duras. Si se cuenta con uno se puede usar dependiendo del laboratorio).

### **Aspirados y pus.**

- Mezcle vigorosamente la muestra.
- Siembre una gota de la muestra en cada placa.
- Si hay volumen suficiente, inocule muestra en caldo para que quede a dilución 1:10 (ejemplo, colocar 1 ml de muestra en un tubo con 9 ml de medio).
- Coloque una gota de muestra en un portaobjetos y extienda para hacer una preparación delgada. Si el fluido es claro, centrifugue para concentrar la muestra.

### **Hisopados.**

- Coloque el hisopo en 1-2 ml de caldo y mezcle en vortex.
- Usando el mismo hisopo o uno nuevo, inocule las placas y haga una preparación para tinción de Gram como se describió para aspirados y pus.

### **Incubación de las placas de todas las muestras**

- El agar EMB o MacConkey, se incuban a 35-37°C en atmósfera aeróbica por hasta 72 h.
- El agar sangre, agar chocolate y el CNA se incuban a 35-37°C con CO<sub>2</sub> al 5% por hasta 2 días para heridas abiertas y por 4 días para muestras colectadas por procedimientos invasivos. La incubación se puede extender hasta 7-14 días en muestras invasivas que permanecen negativas a los 3 o 4 días (dependiendo de microorganismo de interés).
- Los caldos se incuban a 35-37°C en atmósfera aeróbica por hasta 4 días.

**Examen microscópico.** Llevar a cabo la tinción de Gram y reportar (de acuerdo con protocolo de laboratorio).

## Interpretación.

Interprete de acuerdo con las siguientes tablas

### Asilamientos aerobios y anaerobios de infecciones de piel y tejidos blandos agudas y crónicas.

Microrganismo aerobio y facultativo	Bacterias anaerobias	Organismos aerobios de infecciones inusuales, especializadas, y zoonosis	Levaduras
Estafilococos coagulasa negativos	<i>Fingoldia magna</i>	<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	<i>Candida albicans</i>
<i>S. aureus</i>	<i>Peptostreptococcus</i> spp.	<i>Aeromonas</i> spp.	<i>Candida krusei</i>
Estreptococos beta hemolíticos	<i>Peptoniphilus</i> spp.	<i>Bacillus anthracis</i>	<i>Candida parapsilosis</i>
<i>Enterococcus</i> spp.	<i>Actinomyces</i> spp.	<i>Bergeyella zoohelcum</i>	
<i>Streptococcus</i> spp. (viridans)	<i>Clostridium</i> spp.	<i>Capnocytophaga</i> spp.	
<i>Streptococcus anginosus</i>	<i>Eggerthella</i> spp.	<i>Neisseria animalis</i>	
<i>Arcanobacterium haemolyticum</i>	<i>Eubacterium limosum</i>	<i>Neisseria zoodegmatidis</i>	
<i>Corynebacterium</i> spp. (descartar <i>Corynebacterium diphtheriae</i> )	<i>Propionibacterium acnes</i>	<i>Chromobacterium violaceum</i>	
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Bacteroides fragilis</i>	<i>Eikenella corrodens</i>	
<i>Escherichia coli</i>	<i>Prevotella</i> spp.	<i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i>	
<i>Serratia</i> spp.	<i>Porphyromonas asaccharolytica</i>	<i>Francisella tularensis</i>	
<i>Klebsiella</i> spp.	<i>Fusobacterium nucleatum</i>	<i>Haemophilus</i> spp.	
<i>Enterobacter</i> spp.	<i>Veillonella</i> spp.	<i>Kingella kingae</i>	
<i>Citrobacter</i> spp.		<i>Nocardia</i> spp.	
<i>Morganella morganii</i>		CDC grupo NO 1	
<i>Providencia stuartii</i>		<i>Pasteurella multocida</i>	
<i>Proteus</i> spp.		<i>Streptobacillus moniliformis</i>	
<i>Acinetobacter baumannii</i>		<i>Vibrio vulnificus</i>	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>			
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>			
<i>Sphingobacterium multivorum</i>			

## Infecciones comúnmente encontradas en abscesos o heridas superficiales o profundas, drenados y tejido

	Localización de la infección	Patógenos primarios	Comentarios
<b>Infecciones superficiales</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>o Carbunco</li> <li>o Celulitis</li> <li>o Quistes</li> <li>o Foliculitis</li> <li>o Daños en piel (Abrasiones, quemaduras de primer grado, cortaduras)</li> <li>o Abscesos subcutáneos</li> <li>o Úlceras</li> </ul>	Piel y tejidos superficiales arriba de la fascia y músculo	<i>S. aureus</i> Estreptococo beta hemolítico de los grupos A, B, C y G	<i>B anthracis</i> puede causar escaras en piel. <i>C. diphtheriae</i> puede causar úlceras superficiales.
<b>Infección de heridas profundas</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>o Mordedura humana</li> <li>o Mordedura por animal</li> <li>o Quemaduras de segundo o tercer grado</li> <li>o Heridas quirúrgicas</li> <li>o Úlcera (decúbito, pie diabético, etc.)</li> </ul>	Piel y tejidos por debajo de la dermis fascia y músculo	Mordedura de animal: <i>Pasteurella multocida</i> , <i>Capnocytophaga</i> , spp, <i>Eikenella corrodens</i> , Anaerobios  Mordeduras humanas y otras heridas profundas: Mezcla de aerobios, anaerobios y facultativos	<i>Aeromonas</i> spp. <i>Vibrio</i> spp. y <i>Chromobacterium violaceum</i> pueden estar en heridas expuestas a agua.
<b>Abscesos/fluidos</b>	Aspirado de espacios corporales profundos o tejidos	Mezcla de aerobios, anaerobios y facultativos	El cultivo anaerobio se realiza bajo solicitud o si la tinción de gran sugiere la presencia de anaerobios
<b>Drenados</b>	Fluido aspirado de drenado	Mezcla de aerobios, anaerobios y facultativos	El cultivo anaerobio se realiza bajo solicitud o si la tinción de gran sugiere la presencia de anaerobios
<b>Tejidos</b>	Colectados invasivamente de órganos o tejidos	Mezcla de aerobios anaerobios y facultativos	El cultivo anaerobio se realiza bajo solicitud o si la tinción de gran sugiere la presencia de anaerobios

## Criterios generales

- Las siguientes especies se reportan siempre independientemente de la cantidad en que se encuentren o si están en cultivos mixtos.  
*Aeromonas* spp., *Actinomyces* spp., *Arcanobacterium haemolyticum*, *Bacillus cereus*, *Bacillus anthracis*, *Bergeyella zoohelcum*, *Brucella* spp., *Campylobacter*, *Capnocytophaga* spp., *Chromobacterium violaceum*, *Corynebacterium ulcerans*, *Eikenella corrodens*, *Erysipelothrix rhusiopathiae*, *Francisella tularensis*, *Haemophilus influenzae*, *Kingella kingae*, *Listeria*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis*, *Nocardia* spp., *Pasteurella multocida*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Sphingobacterium multivorum*, *Staphylococcus aureus*, *Streptobacillus moniliformis*, *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Stenotrophomonas maltophilia*, *Vibrio* spp., *Yersinia* spp.

Identifique máximo 3 microorganismos de las tablas anteriores (excepto del párrafo anterior) si se cumple con lo siguiente:

- Hay LPMN en la tinción de Gram
  - La muestra se colectó de un sitio estéril
  - La morfología del organismo detectado se observó en la tinción de Gram
  - La muestra fue de buena calidad (ausencia de o muy pocas células epiteliales)
- Solamente identifique a nivel de género si hay:
    - Células epiteliales moderadas en el Gram
    - Ausencia de LPMN en el Gram
    - Más de 3 organismos en el cultivo

## Criterios especiales

### ***S. pyogenes***

- Informe inmediatamente el hallazgo de *S. pyogenes* ya que puede ser agente causal de fascitis necrotizante, la cual compromete la vida del paciente.

### **Estafilococos coagulasa negativos**

- Haga pruebas de sensibilidad solo si el organismo se aísla de una muestra obtenida por procedimientos invasivos, si se asocian a la presencia de LPMN en el Gram o se aíslan de múltiples cultivos.
- Reporte como microbiota normal si se recupera de cultivos mixtos en cualquier cantidad en heridas superficiales o si se encuentra una gran cantidad de células epiteliales en el Gram.

### **Estreptococos y enterococos**

- Identifique al menos a nivel de género si se obtiene de muestras quirúrgicas, colectadas por procedimientos invasivos, o si el organismo es la única especie detectada o es la predominante y la tinción de Gram indica infección.

### **Bacilos Gram positivos**

- Si la muestra es de un sitio normalmente estéril o biopsia, asegúrese de que no se trata de *Listeria*, *Erysipelothrix*, *Bacillus cereus*, *Bacillus anthracis*, *Arcanobacterium*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Corynebacterium ulcerans*, *Nocardia*, y *Actinomyces*
- Identifique otras especies si están asociadas a LPMN, son predominantes o se recuperan en varios cultivos.

#### **Bacilos Gram negativos entéricos moderados o predominantes.**

- Solo si hay una o dos especies con indicativo de infección en el Gram
- En muestras de cavidad abdominal, si hay mezcla de especies si son pocos o no son predominantes reporte como flora intestinal. Asegúrese de que no se trata de patógenos intestinales (*Salmonella*, *Shigella*, *Campylobacter* o *Yersinia*)

#### **Bacilos Gram negativos que no son de la Familia *Enterobacteriaceae***

- Asegúrese de que no se trata de organismos que siempre son considerados patógenos, *Brucella*, *Haemophilus*, *Pasteurella* y *Francisella* (se reconocen porque no crecen en MacConkey o EMB).
- Muestras de nódulos linfáticos: trabajar en campana de seguridad biológica (potencial crecimiento de *Brucella*, o *Francisella*)
- Identifique cualquier número de organismos que solo crezcan en agar chocolate.

#### **Levaduras**

- Reporte las levaduras como parte del microbiota a menos que se encuentren en grandes cantidades. Excepto para muestras normalmente estériles donde deben reportarse siempre.

#### **Reporte de resultados**

Reporte la tinción de Gram lo más pronto posible

#### Cultivos negativos:

reportar: No hubo desarrollo en \_\_\_ días.

#### Cultivos positivos

- Reporte individualmente los organismos considerados patógenos
- Si se observó microbiota normal sin predominancia de alguna especie, reporte de acuerdo con el sitio (gastrointestinal, cutánea, abdominal etc.)

#### **Procedimientos de control de la calidad. A definir por cada laboratorio**

**Interferencias y reacciones cruzadas.** Los resultados de estos cultivos se ven afectados por el consumo de al menos una dosis de antibiótico

**Principio del procedimiento para el cálculo de resultados incluyendo, cuando sea relevante, la medición de la incertidumbre de los valores de la magnitud medida.**  
NA.

**Valores de alerta o críticos, cuando sea apropiado.** A definir por cada laboratorio.

**Interpretación clínica del Laboratorio.** Definir en cada laboratorio

**Fuentes potenciales de variación.** La presencia y cantidad de bacterias se puede ver afectada por múltiples factores, tales como la falta de homogenización de la muestra, el consumo de al menos una dosis de antibiótico.

#### **Referencias**

- Amy L Leber. Clinical Microbiology Procedures Handbook, 4<sup>th</sup> Edition. ASM Press. 2016. Chapter 3.13.1
- Forbes A. Betty et al. Bailey & Scott Diagnóstico Microbiológico, 13<sup>a</sup> Edition. Editorial Elsevier. 2014. Chapter 69.