

Procedimientos en Microbiología Clínica

Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades
Infecciosas y Microbiología Clínica

Editores: Emilia Cercenado y Rafael Cantón

41.

Diagnóstico microbiológico de las infecciones intraabdominales

2 0 1 1

Coordinador: José Elías García Sánchez

Autores: Inmaculada García García
Fernando García Garrote
José Elías García Sánchez
Isabel Sánchez Romero



ISBN- 978-84-615-9699-7

ÍNDICE DEL DOCUMENTO CIENTÍFICO

1. Introducción

2. Microbiota habitual del tracto digestivo

3. Proceso microbiológico general de las infecciones intraabdominales

3.1 Obtención de las muestras

3.1.1 Líquido peritoneal

3.1.2 Bilis

3.1.3 Líquido efluente

3.1.4 Exudados purulentos y abscesos

3.1.5 Biopsias y tejidos

3.1.6 Prótesis biliares

3.1.7 Hemocultivos

3.1.8 Otras muestras con valor diagnóstico

3.2 Transporte y conservación

3.3 Recepción de la muestra

3.4 Procesamiento de la muestra

3.4.1 Examen macroscópico de la muestra

3.4.2 Pretratamiento de las muestras

3.4.3 Extensiones para la tinción de Gram

3.4.4 Inoculación

3.5 Medios de cultivo e incubación

3.6 Conservación de las muestras

3.7 Interpretación de los resultados

3.7.1 Tinción de Gram

3.7.2 Cultivos

3.7.2.1 Medios incubados en aerobiosis y atmósfera de CO₂

3.7.2.2 Medios incubados en anaerobiosis

3.7.2.3 Medios líquidos

3.8 Información de resultados

3.8.1 Tinción de Gram

3.8.2 Cultivos

4. Peritonitis y abscesos intraperitoneales

4.1 Introducción y clasificación

4.2 Peritonitis primarias

4.2.1 Peritonitis bacteriana espontánea

4.2.1.1 Introducción

4.2.1.2 Etiopatogenia

4.2.1.3 Cuadro clínico

4.2.1.4 Diagnóstico microbiológico

4.2.2 Peritonitis tuberculosa

4.2.2.1 Introducción

4.2.2.2 Etiopatogenia

4.2.2.3 Cuadro clínico

4.2.2.4 Diagnóstico microbiológico

4.3. Peritonitis secundaria

4.3.1 Introducción

4.3.2 Etiopatogenia

4.3.3 Cuadro clínico

4.3.4 Diagnóstico microbiológico

4.4. Peritonitis terciaria

4.4.1 Introducción

4.4.2 Etiopatogenia

4.4.3 Cuadro clínico

4.4.4 Diagnóstico microbiológico

4.5 Abscesos intraperitoneales

4.5.1 Introducción

4.5.2 Etiopatogenia

4.5.3 Cuadro clínico

4.5.4 Diagnóstico microbiológico

5. Infecciones relacionadas con la diálisis peritoneal

- 5.1 Introducción y clasificación
- 5.2 Etiopatogenia
 - 5.2.1 Infecciones relacionadas con el catéter
 - 5.2.2 Peritonitis
- 5.3 Cuadro clínico
 - 5.3.1 Infecciones relacionadas con el catéter
 - 5.3.2 Peritonitis
- 5.4 Diagnóstico microbiológico
 - 5.4.1 Recogida de la muestra
 - 5.4.1.1 Infecciones relacionadas con el catéter
 - 5.4.1.2 Peritonitis
 - 5.4.2 Transporte y conservación de la muestra.
 - 5.4.3 Procesamiento de la muestra
 - 5.4.4 Lectura e identificación
 - 5.4.4.1 Tinción de Gram
 - 5.4.4.2 Cultivos
 - 5.4.5 Interpretación de resultados
 - 5.4.5.1 Infecciones relacionadas con el catéter
 - 5.4.5.2 Peritonitis
 - 5.4.6 Otros procedimientos
 - 5.4.7 Información de resultados

6. Abscesos de vísceras intraabdominales

- 6.1 Introducción y tipos
- 6.2 Absceso hepático
 - 6.2.1 Introducción
 - 6.2.2 Etiopatogenia
 - 6.2.3 Cuadro clínico
 - 6.2.4 Diagnóstico microbiológico
- 6.3 Absceso pancreático y necrosis pancreática infectada
 - 6.3.1 Introducción
 - 6.3.2 Etiopatogenia
 - 6.3.3 Cuadro clínico
 - 6.3.4 Diagnóstico microbiológico
- 6.4 Absceso esplénico
 - 6.4.1 Introducción
 - 6.4.2 Etiopatogenia
 - 6.4.3 Cuadro clínico
 - 6.4.4 Diagnóstico microbiológico
- 6.5 Abscesos suprarrenales
 - 6.5.1 Introducción
 - 6.5.2 Etiopatogenia
 - 6.5.3 Cuadro clínico
 - 6.5.4 Diagnóstico microbiológico

7. Infección de las vías biliares

- 7.1 Introducción y clasificación
- 7.2 Etiopatogenia
- 7.3 Cuadro clínico
- 7.4 Diagnóstico microbiológico

8. Apendicitis y diverticulitis

- 8.1 Introducción y tipos
- 8.2 Etiopatogenia
- 8.3 Cuadro clínico
- 8.4 Diagnóstico microbiológico

9. Infecciones retroperitoneales

9.1 Introducción y tipos

9.2 Abscesos del espacio retroperitoneal

9.2.1 Introducción

9.2.2 Etiopatogenia

9.2.3 Cuadro clínico

9.2.4 Diagnóstico microbiológico

9.3 Abscesos del psoas

9.3.1 Introducción

9.3.2 Etiopatogenia

9.3.3 Cuadro clínico

9.3.4 Diagnóstico microbiológico

10. Bibliografía

DOCUMENTOS TÉCNICOS

1. **PNT-IIA-01.** Procesamiento microbiológico del líquido peritoneal
2. **PNT-IIA-02.** Procesamiento microbiológico de las muestras obtenidas de pacientes con infecciones asociadas a diálisis peritoneal
3. **PNT-IIA-03.** Procesamiento microbiológico de los abscesos intraabdominales
4. **PNT-IIA-04.** Procesamiento microbiológico de las muestras de origen biliar: líquido biliar, biopsias y materiales protésicos

Procedimientos en Microbiología Clínica

Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades
Infecciosas y Microbiología Clínica

Editores: Emilia Cercenado y Rafael Cantón

41. DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO DE LAS INFECCIONES INTRAABDOMINALES. 2011

Coordinador: José Elías García Sánchez

**Autores: Inmaculada García García
Fernando García Garrote
José Elías García Sánchez
Isabel Sánchez Romero**

1. INTRODUCCIÓN

El abdomen es una cavidad corporal limitada superiormente por la cara inferior del diafragma, inferiormente por la pelvis, por detrás por la columna vertebral y por delante y los lados por la pared abdominal. Contiene gran parte del tubo digestivo, desde la parte terminal del esófago hasta el recto, vísceras como el hígado, el páncreas, el bazo, las glándulas suprarrenales, los riñones y uréteres y la vejiga y en la mujer, además, gran parte de su aparato reproductor. Muchos de estos órganos están revestidos por el peritoneo, son intraperitoneales y otros están fuera de él, son extraperitoneales o retroperitoneales. Tanto el peritoneo como el retroperitoneo forman dos espacios que en circunstancias normales son virtuales.

Las vías urinarias y el aparato genital femenino, aun siendo abdominales, se estudian aparte pues constituyen entidades funcionalmente muy diferenciadas. Las infecciones que las producen tienen además una etiopatogenia diferente, igual que ocurre con las que afectan al tubo digestivo. De todas estas infecciones no se ocupa el actual procedimiento y no se consideran abdominales a efectos teóricos.

Las infecciones intraabdominales (IIA) son muy frecuentes, se producen casi siempre por perforación o inflamación de la pared intestinal y especialmente a partir de la microbiota gastrointestinal. A veces se originan por vía hematógena, inoculación o extensión de procesos de la proximidad. Desde un punto de vista clínico, se distinguen las IIA no complicadas, en las que el proceso infeccioso se limita al órgano o tejido de origen y las complicadas cuando la infección se extiende y afecta al peritoneo produciendo peritonitis difusas o procesos localizados (abscesos).

En el presente documento se abordará el diagnóstico de las peritonitis difusas, los abscesos intraperitoneales, las infecciones relacionadas con la diálisis peritoneal (DP), los abscesos viscerales, las infecciones de las vías biliares, las apendicitis y diverticulitis y las infecciones del espacio retroperitoneal.

2. MICROBIOTA HABITUAL DEL TRACTO DIGESTIVO

Nada más nacer el tubo digestivo del neonato se coloniza por microorganismos de la microbiota de la madre, de las personas de su entorno y del ambiente. Muchas de las especies se establecerán de forma permanente y constituirán la microbiota digestiva residente normal. El proceso de colonización es muy complejo. La microbiota digestiva juega un importante papel en el bienestar del individuo, interviene en la nutrición, metabolismo, resistencia a la colonización por patógenos verdaderos y es esencial para el desarrollo del sistema inmune intestinal.

La microbiota digestiva es cambiante y diversa en relación con factores extrínsecos, como la edad, dieta, ambiente, ingesta de antimicrobianos, cirugía,

etc., e intrínsecos tales como la fisiología digestiva y las características genéticas, entre otros. Existen unos patrones que se repiten en condiciones habituales en relación principalmente con la edad: así en los lactantes, hay un predominio de microorganismos aerobios y facultativos que incluyen *Escherichia coli* y *Streptococcus* spp.. En los adultos estas especies disminuyen rápidamente y las especies anaerobias como *Bacteroides* spp. y *Clostridium* spp. son las más abundantes. Aproximadamente el 99% de la microbiota intestinal de un adulto lo forman bacterias anaerobias (*Bacteroides* spp., *Fusobacterium* spp., *Clostridium* spp. y otras) y bacterias lácticas (*Streptococcus* spp., *Lactobacillus* spp.); las bacterias facultativas (enterobacterias) sólo representan el 1% (*E. coli*, *Proteus* spp., *Klebsiella* spp.). En los ancianos algunas bacterias disminuyen, sobre todo las bifidobacterias, aumentan otras, como los *Bacteroides* spp. y otras, como *Clostridium* spp., se mantienen.

Aunque el estómago y el esófago se contaminan con bacterias cada vez que se ingiere alimento o se deglute saliva, el pH del estómago es extremadamente ácido y elimina la mayoría de ellas, lo mismo hace el peristaltismo. De igual manera, el intestino delgado (excepto el íleon distal), el hígado y la vesícula están libres de bacterias o sólo las albergan transitoriamente. Lo mismo ocurre con el peritoneo. La presencia de microorganismos en estas localizaciones se debe a enfermedades subyacentes, como neoplasias o bien los microorganismos alcanzan estos espacios después de una ruptura del intestino grueso.

La primera parte del intestino delgado, duodeno y yeyuno, es muy ácida y se parece al estómago en su microbiota normal compuesta fundamentalmente por lactobacilos, estreptococos, enterobacterias y *Candida* spp.. En el íleon distal incrementan el número y aparece *Bacteroides* spp.. El intestino grueso es un ambiente muy favorable para el desarrollo de altas poblaciones microbianas, por encima de 10^9 bacterias por gramo probablemente debido a la disminución del peristaltismo, el aumento del pH cercano al fisiológico y la disminución del contenido de agua. Pasando la válvula ileocecal, los microorganismos de la microbiota alcanzan concentraciones de 10^7 a 10^9 bacterias por mL, llegando al máximo en el recto con 10^{11} bacterias por mL. Es, sin duda, el mayor y más complejo ecosistema microbiano del organismo con un predominio notorio de microorganismos anaerobios. Estos corresponden en su mayoría a los géneros *Bacteroides*, *Fusobacterium*, *Prevotella* y *Porphyromonas* entre los bacilos gramnegativos, y entre los cocos, diferentes especies grampositivas, *Sarcina* y *Veillonella*. Los bacilos grampositivos están representados por especies de *Bifidobacterium*, *Actinomyces*, *Bacillus*, *Lactobacillus* y *Clostridium*.

Entre los facultativos predominan las enterobacterias, siendo *E. coli* la más numerosa, seguida de especies de *Klebsiella*, *Proteus*,

Enterobacter y *Citrobacter*. De los cocos grampositivos pueden hallarse especies de *Enterococcus*, *Streptococcus* y *Staphylococcus*. La relación entre las distintas especies de bacterias aerobias y anaerobias está a favor de las anaerobias y en la Tabla 1 se muestra la densidad de la población bacteriana en las distintas localizaciones anatómicas.

La microbiota puede verse afectada negativamente por diversos factores, tratamientos antibióticos, estrés, cirugía y quimioterapia entre otros. En pacientes hospitalizados tratados con antibióticos, éstos causan una reducción drástica de la microbiota normal y aparece la denominada microbiota nosocomial, con un descenso importante de los microorganismos "protectores". Como consecuencia de estos cambios el huésped puede ser infectado por nuevos patógenos o facilitar un crecimiento excesivo de microorganismos presentes normalmente en número pequeño.

La microbiota del tubo digestivo interviene en infecciones oportunistas o endógenas en circunstancias tales como obstrucciones mecánicas, o perforación del tubo digestivo. En este caso, los microorganismos presentes pasan a la cavidad peritoneal, siendo los agentes etiológicos habituales de las infecciones intraabdominales.

3. PROCESO MICROBIOLÓGICO GENERAL DE LAS INFECCIONES INTRAABDOMINALES

El diagnóstico microbiológico de la mayoría de las infecciones intraabdominales es directo, se fundamenta en el análisis microscópico y en el cultivo de muestras representativas de los diversos procesos siguiendo un esquema común. Varía ligeramente en las infecciones relacionadas con la

DP y en las peritonitis bacterianas espontáneas y es específico cuando se investigan bacterias de crecimiento lento, difícil o que requieren condiciones especiales, así como determinados hongos o parásitos. En el diagnóstico de algunas de estas infecciones se aplican procedimientos de amplificación genómica.

3.1 OBTENCIÓN DE LAS MUESTRAS

La calidad de las muestras clínicas recibidas en el laboratorio depende del cumplimiento de una serie de normas, referidas sobre todo a la recogida y transporte de las mismas. Estas recomendaciones, así como las pautas de identificación de las muestras, cumplimentación del volante de petición y los criterios de aceptación o rechazo deben estar reflejadas en un manual elaborado en el laboratorio y estar disponible para su consulta.

En relación con este punto deben seguirse las recomendaciones generales detalladas en el Procedimiento en Microbiología Clínica de la SEIMC nº 1a (2ª edición): "Recogida, transporte y procesamiento general de las muestras en el laboratorio de microbiología". Debido a la importancia de las bacterias anaerobias en estas infecciones es conveniente seguir también las recomendaciones específicas detalladas en el Procedimiento en Microbiología Clínica de la SEIMC nº 16 (2ª edición): "Bacterias anaerobias".

Se tendrán en cuenta las siguientes consideraciones generales:

- La recogida de las muestras debe realizarse con las máximas condiciones de asepsia evitando la contaminación con la microbiota comensal y ambiental.

Tabla 1. Microbiota del tracto gastrointestinal

Lugar	Inóculo (ufc/mL ó g)	Microorganismo
Estómago	0 - escaso	<i>Lactobacillus</i> spp.
Duodeno, yeyuno	0 - $\geq 10^6$	<i>Streptococcus</i> spp., <i>Lactobacillus</i> spp., <i>Enterobacteriaceae</i>
Íleon terminal	10^6 - 10^7	<i>Streptococcus</i> spp., <i>Lactobacillus</i> spp., <i>Enterobacteriaceae</i> , <i>Bacteroides</i> spp.
Colon	Microbiota dominante 10^9 - 10^{11}	<i>Bacteroides</i> spp., <i>Prevotella</i> spp., <i>Eubacterium</i> spp., <i>Bifidobacterium</i> spp., <i>Clostridium</i> spp., <i>Streptococcus</i> spp., <i>Porphyromonas</i> spp.
	Microbiota subdominante 10^6 - 10^8	<i>Enterobacteriaceae</i> (principalmente <i>E. coli</i>), <i>Streptococcus</i> spp., <i>Enterococcus</i> spp., <i>Lactobacillus</i> spp.
	Microbiota escasa	<i>Enterobacteriaceae</i> (no <i>E. coli</i>), <i>Klebsiella</i> spp., <i>Citrobacter</i> spp., <i>Proteus</i> spp., <i>Enterobacter</i> spp.
	Microbiota transitoria < 10^6	<i>Pseudomonas</i> spp., <i>Candida</i> spp.

ufc = unidades formadoras de colonias.

Tomado de Chow AW, et al. Can J Infect Dis Med Microbiol. 2010; 21:11-37.

- Las muestras se recogerán antes de iniciar el tratamiento antimicrobiano siempre que las condiciones clínicas del paciente lo permitan.

- Las muestras se introducirán en contenedores estériles con cierre hermético adecuados a su tamaño que permitan mantenerlas en condiciones idóneas de humedad sin añadir formol o conservantes similares.

- Para el transporte de anaerobios se deberán utilizar tubos o viales con atmósfera anaerobia, base de agar e indicador de la presencia de oxígeno como Port-A-Cul®, o Portagerm®.

- Las jeringas con agujas utilizadas en la aspiración de material purulento no deben utilizarse como transporte debido al riesgo de pinchazos accidentales. Como opción se pueden enviar sin aguja, eliminando previamente el aire en una gasa impregnada con alcohol y con un capuchón estéril.

- En caso de no disponer de envases de transporte para anaerobios o ser muestras de material protésico, biopsias o tejidos de mayor volumen, se recogerán en recipientes estériles y se introducirán en bolsas de plástico de anaerobiosis.

- De manera general se desaconseja la toma de muestras con torunda; si fuese el único método válido o posible, se introducirá en un medio de transporte para anaerobios.

- En el caso de sospecha de infección por micobacterias no se deben introducir las muestras en medios de transporte para anaerobios.

- No se debe utilizar la aguja y jeringa empleada en la aplicación de anestésicos locales para la obtención de la muestra ya que pueden inhibir el crecimiento bacteriano.

Las muestras que se pueden utilizar en el diagnóstico microbiológico de las infecciones intraabdominales son:

3.1.1 Líquido peritoneal. Se obtiene por aspiración percutánea (paracentesis) o mediante procedimientos quirúrgicos, bien por cirugía abierta o vía laparoscópica.

En las peritonitis primarias se recomienda recoger un volumen mínimo de 25 mL e inocular directamente 10 mL en un frasco aerobio de hemocultivo, 10 mL en un frasco anaerobio y depositar al menos 0,5-1 mL en un tubo estéril sin aditivos para la tinción de Gram. Como alternativa se puede realizar en el propio laboratorio. Se debe inocular el volumen recomendado por los fabricantes ya que el polianetol sulfonato sódico (SPS) puede inhibir el crecimiento bacteriano.

En las peritonitis secundarias y terciarias se debe aspirar con jeringa y aguja la mayor cantidad posible de muestra e inocularla directamente en un vial de transporte para anaerobios. La muestra se inyecta a través del tapón de goma previamente desinfectado con povidona yodada. No se debe abrir el vial. Si la cantidad es pequeña o no se puede aspirar, se realizará un lavado de la cavidad con solución Ringer lactato.

En las peritonitis tuberculosas el volumen de muestra recomendado es de 10-50 mL depositado en un frasco estéril sin conservantes.

3.1.2 Bilis. Las muestras se obtienen por aspiración percutánea con aguja y jeringa o mediante procedimientos quirúrgicos o endoscópicos.

Se recomienda, si es posible, obtener un volumen de muestra de entre 1 y 5 mL e inocularla directamente en un vial de transporte para anaerobios. También se puede transferir a un tubo o frasco estéril sin aditivos. El volumen mínimo requerido es de 1 mL.

Como alternativa el líquido biliar se puede inocular en botellas de hemocultivo aerobio y anaerobio. La inoculación puede realizarse en el momento de la toma de la muestra o a su llegada al laboratorio, introduciendo el mayor volumen de muestra posible, hasta un máximo de 10 mL por botella. En caso de remitir las muestras inoculadas hay que enviar un tubo estéril con al menos 0.5-1mL para la tinción de Gram.

3.1.3 Líquido efluente. Se obtiene por punción con aguja y jeringa de la zona diseñada para la administración de fármacos de la bolsa de diálisis más turbia.

Se recomienda recoger como mínimo 50 mL en un frasco estéril y/o inocular en botellas de hemocultivo aerobio y anaerobio, introduciendo la mayor cantidad de líquido, hasta un máximo de 10 mL por botella. En caso de enviar solo los frascos de hemocultivo hay que remitir además un tubo estéril con 10 mL (opinión de los autores) para realizar la tinción de Gram.

De manera opcional se puede enviar toda la bolsa de diálisis al laboratorio donde se procederá según lo expuesto anteriormente.

3.1.4 Exudados purulentos y abscesos. Se recogen por aspiración con aguja y jeringa mediante procedimientos quirúrgicos (laparotomía o laparoscopia) o por vía percutánea guiada por imagen. Si no se puede utilizar la aguja, se recoge directamente con jeringa o con catéter.

El material obtenido se trasfiere directamente a un vial de transporte de anaerobios evitando la entrada de aire. La muestra se inoculará a través del tapón de goma previamente desinfectado. No se debe abrir el vial. Si la muestra es escasa o se va a procesar dentro de los 30 minutos siguientes se puede mantener en la misma jeringa con la que se ha extraído el material del absceso eliminado el aire y tapando con un capuchón.

Se desaconseja realizar la toma con torunda, este procedimiento sólo se empleara sino hay otra forma viable de obtener la muestra. Una vez efectuada la toma, la torunda se introduce en un medio de transporte para anaerobios. Se recomienda enviar dos hisopos, uno para cultivo y otro para la tinción de Gram.

Los tubos de drenaje no son válidos para el cultivo, tampoco las muestras recogidas de las bolsas de drenaje por estar contaminadas. El material drenado

se recoge por aspiración durante el drenaje o directamente del tubo de drenaje previa desinfección de la zona de punción. Si el paciente tiene más de uno colocado es preciso indicar, en el volante de petición y en el envase, la localización del tubo del que procede la muestra.

En las infecciones del sitio de salida y del catéter en la DP la recogida de muestra se realiza mediante torunda.

3.1.5 Biopsias y tejidos. Se recogen mediante procedimientos quirúrgicos, percutáneos o endoscópicos. Las muestras de tamaño pequeño se pueden depositar en un tubo de transporte de anaerobios. Las de mayor tamaño se introducen en envases estériles sobre una gasa estéril humedecida en solución salina para evitar la desecación y después se depositan en una bolsa de transporte de anaerobios.

Si se solicita estudio de micobacterias la biopsia debe depositarse en un envase estéril sin medio de transporte de anaerobios.

3.1.6 Prótesis biliares. Se extraen mediante procedimientos quirúrgicos, percutáneos o por vía endoscópica. Se depositan en un frasco estéril sin aditivos. Si hay alta sospecha de anaerobios se puede depositar en una bolsa de transporte de anaerobios.

3.1.7 Hemocultivos.

La recogida de muestras se expone en el punto 4 del Procedimiento en Microbiología Clínica de la SEIMC nº 3a (2ª edición): "Hemocultivos". Es importante resaltar la importancia de la asepsia tanto en la extracción como en la inoculación de la muestra así como el volumen inoculado.

3.1.8 Otras muestras con valor diagnóstico

Heces. Para el diagnóstico en las helmintiasis que pueden afectar a vías biliares: trematodiasis hepáticas (*Fasciola hepatica*, *Fasciola gigantica*, *Clonorchis sinensis*, *Opistorchis viverrini*, *Dicrocoelium dendriticum*) diseminación de larvas de *Strongyloides stercoralis* y migraciones ectópicas de algunos nematodos. Para más información se aconseja consultar el Procedimiento en Microbiología Clínica de la SEIMC nº 35 "El laboratorio de microbiología ante las enfermedades parasitarias importadas".

Catéter. En las infecciones del catéter en la DP. Mediante procedimiento quirúrgico con anestesia local, se recoge la parte intraabdominal del catéter, a partir del manguito externo, y se deposita en un frasco estéril.

Orina. Útil en los abscesos perirrenales consecutivos a infecciones del tracto urinario (ITU).

3.2 TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN

El transporte adecuado de las muestras es determinante en la fiabilidad del resultado final. Se realizará de forma inmediata tras la obtención de la muestra y a temperatura ambiente, ya que el frío favorece la difusión del oxígeno. No se debe congelar, excepto si se solicita estudio de PCR. La viabilidad de los microorganismos varía según el tipo

de muestra, volumen y medio de transporte elegido. En general, la recuperación de los microorganismos anaerobios disminuye si el tiempo de transporte es superior a las tres horas. Las muestras purulentas de gran volumen mantienen la viabilidad durante más tiempo. El tiempo máximo admitido para el transporte es:

Material aspirado:

-Inoculado en un contenedor sin medio de transporte de anaerobios:

- muestras de menos de 1 mL: ≤10 minutos.
- muestras de aproximadamente 1 mL: ≤ 30 minutos.
- muestras de más de 2 mL: ≤ de 3 horas.

-Inoculado en medio de transporte de anaerobios: ≤ de 3 horas.

Tejidos:

-En contenedor estéril sin medio de transporte de anaerobios: ≤30 minutos.

-En medio de transporte de anaerobios o envase en bolsa de transporte para anaerobios: ≤ de 3 horas.

Las muestras deben procesarse con rapidez a su llegada al laboratorio, y en caso de que esto no sea posible, se deberán conservar a temperatura ambiente hasta su procesamiento. Si se solicita estudio de micobacterias es preferible refrigerar la muestra o si es posible, enviar dos alícuotas de la muestra en envases distintos, uno para el cultivo bacteriano y otro para micobacterias.

3.3 RECEPCIÓN DE LA MUESTRA

Una vez que se recepciona en el laboratorio hay que verificar que cumple los requisitos de calidad necesarios para su procesamiento. Se comprobará que el envase esté correctamente identificado con los datos del paciente y acompañado de un volante de petición, en papel o electrónico, en el que constarán al menos, los datos demográficos del paciente, el facultativo y el servicio peticionario, el tipo de muestra, su localización anatómica, el método de obtención, la fecha y hora de recogida, el cuadro clínico motivo de la petición, la antibioterapia concomitante, la existencia de alergia a algún antibiótico y las determinaciones microbiológicas solicitadas. En el momento de la llegada al laboratorio se estimará si la cantidad es suficiente para los estudios solicitados y si se han cumplido las condiciones de transporte exigidas.

Dado que estas muestras suelen ser de extrema importancia, difícil obtención, con riesgos y molestias para el paciente, y en muchas ocasiones son insustituibles, es recomendable que antes de iniciar el procedimiento se establezca contacto con el laboratorio de Microbiología, para evitar posibles errores y orientar las investigaciones posteriores en relación con las distintas sospechas clínicas. No deben aceptarse las muestras sin identificar o en las que los datos no coincidan con los de la petición. No obstante antes de rechazar la muestra se debe consultar con el clínico responsable de la solicitud.

Tampoco se aceptarán las muestras derramadas, las recogidas en recipientes no estériles ni las conservadas en formol u otros aditivos. En caso de rechazo de la muestra se debe informar por escrito al clínico solicitante el motivo del mismo y debe registrarse en la hoja de incidencias según especifique el manual de calidad del laboratorio.

3.4 PROCESAMIENTO DE LA MUESTRA

El procesamiento se realiza según los protocolos establecidos en el laboratorio y en relación a la muestra recibida y estudios solicitados. En general, es obligado el examen microscópico directo (tinción de Gram y otras tinciones) de la muestra, el cultivo, e identificación de bacterias aerobias, facultativas, anaerobias (la identificación de éstas últimas sólo en determinadas situaciones clínicas) y hongos. Así mismo se debe realizar estudio de sensibilidad de los aerobios y facultativos clínicamente significativos aislados y excepcionalmente de los anaerobios y levaduras.

De manera opcional y previa petición por sospecha clínica, se realiza estudio de micobacterias y parásitos.

En el procesamiento de las muestras se deben seguir las normas de seguridad biológica indicadas en el manual del propio laboratorio. El personal debe conocer e identificar los riesgos, los procedimientos para evitarlos y las actuaciones pertinentes. El procesamiento puede efectuarse de manera segura en un nivel de contención 2 (3 si hay sospecha de micobacterias). Para más detalle ver Procedimiento en Microbiología Clínica de la SEIMC nº 10: "Seguridad en el laboratorio de microbiología clínica". Así mismo se recomienda verificar previamente la caducidad y calidad de los medios de cultivo, reactivos, equipo, pruebas de sensibilidad y demás normas establecidas en el manual de control de calidad interno del propio laboratorio.

3.4.1 Examen macroscópico de las muestras. Puede suministrar información útil de las características de la muestra y servir de orientación para la realización de estudios complementarios. Se debe valorar el aspecto de la muestra (líquido claro, turbio, purulento, hemático) y/o el mal olor característico de algunas infecciones por bacterias anaerobias.

3.4.2 Pretratamiento de las muestras. Debe realizarse según recoge el punto 7 del Procedimiento en Microbiología Clínica de la SEIMC nº1a (2ª edición): "Recogida, transporte y procesamiento general de las muestras". Las muestras de biopsias si son suficientemente grandes se pueden fraccionar con bisturí en una placa de Petri estéril o se pueden homogenizar en un mortero estéril con una pequeña cantidad (0,5-1mL) de caldo tioglicolato, solución salina o caldo BHI antes de su siembra en los medios de cultivo. Las muestras líquidas (>1mL) incluido el efuente de la diálisis peritoneal pueden concentrarse mediante centrifugación a 2.500 rpm durante 15 minutos. Las muestras muy purulentas

recibidas en viales de anaerobiosis deben ser homogeneizadas mediante agitación en vórtex.

3.4.3 Extensiones para la tinción de Gram. Se realizan directamente de la muestra, del sedimento o del material homogeneizado mediante pipeta, jeringa o asa de siembra. Si la muestra es muy purulenta se aconseja colocarla entre dos portaobjetos, presionar y desplazar el superior o realizar una segunda extensión diluyendo la muestra puesta en el portaobjetos con agua destilada. Éstas extensiones son válidas para otras tinciones, blanco de calcoflúor en infecciones con sospecha fúngica o naranja de acridina en muestras líquidas con poca carga bacteriana.

3.4.4 Inoculación

Líquidos y abscesos. La siembra de las muestras de líquidos y abscesos que se reciban en el laboratorio en un recipiente estéril, sin medio de transporte de anaerobios, se realizará inoculando con una pipeta estéril (0,05 mL) directamente los medios de cultivo. En caso de un absceso que sea demasiado denso para recogerse con pipeta, la inoculación se hará con asa de siembra. Si se recibe la muestra en envase de transporte para anaerobios se extraerá con jeringa previa desinfección del tapón con povidona yodada evitando introducir aire en el recipiente. En este caso la muestra se puede sembrar con la propia jeringa depositando una o dos gotas en cada uno de los medios de cultivo. Si la muestra se ha recogido en una torunda se exprime en un volumen pequeño (0,5 mL) de caldo tioglicolato y este caldo se procesa como una muestra líquida. El efuente de la DP una vez centrifugado se resuspende y se siembra directamente.

Biopsias y tejidos. La siembra se realizará a partir del homogeneizado con un asa ó pipeta estéril inoculando 0,05 mL a cada placa de cultivo. Las muestras muy pequeñas que no puedan cortarse se pueden inocular directamente en el caldo de enriquecimiento (tioglicolato, BHI).

Prótesis. Las muestras de prótesis se inocularán directamente en un caldo de enriquecimiento (tioglicolato, BHI).

Catéteres. Los catéteres de DP una vez retirados se inoculan en un caldo de enriquecimiento (tioglicolato, BHI).

Hemocultivos. Los frascos se procesan de la misma forma tanto si se inocular sangre como bilis, líquido ascítico (LA) o efuente de diálisis. Se introducen en el correspondiente incubador de control automático de crecimiento, de acuerdo con la información técnica suministrada por el fabricante.

3.5 MEDIOS DE CULTIVO E INCUBACIÓN

Medios de cultivo. La inoculación directa de las muestras de líquidos, abscesos y homogeneizados de biopsias se realizará en medios convencionales para bacterias aerobias y facultativas (agar sangre, agar chocolate y agar MacConkey). Para el cultivo de las bacterias anaerobias se debe utilizar un medio no selectivo como el agar Brucella o agar Schaedler y

otros medios selectivos para anaerobios como: el agar *Bacteroides bilis* esculina con amicacina (BBE), el agar con alcohol fenil-etílico (PEA) y un agar sangre selectivo, como el agar Schaedler con neomicina y vancomicina (SNV) o con kanamicina y vancomicina (SKV) o el agar *Brucella* con kanamicina, vancomicina y sangre lacada (ASLKV). Además se inoculará un medio líquido de enriquecimiento tipo caldo tioglicolato o BHI.

Condiciones de incubación. Las placas de agar sangre se incuban a 35-37°C en aire o atmósfera con 5% de CO₂. Las placas de agar chocolate también a 35-37°C siempre con atmósfera de 5% de CO₂. Las placas para el cultivo de anaerobios a 35-37°C en atmósfera de anaerobiosis (jarras o cámaras). Es frecuente que la incubación en atmósfera anaerobia de los medios sembrados se demore un tiempo hasta completar por ejemplo la capacidad de las jarras lo que puede disminuir la viabilidad de los anaerobios, una alternativa es agrupar las muestras y sembrarlas juntas. Los caldos se incubarán a 35-37°C en aire. Se comprobará diariamente el crecimiento de microorganismos mediante visualización de turbidez, y en caso de que este aparezca se realizará subcultivo en los medios sólidos descritos previamente. El tiempo de incubación de las placas y los caldos de enriquecimiento será de al menos 5 días. El aumento en los últimos años del aislamiento de hongos en muestras de origen intraabdominal, hace que sea recomendable el uso de al menos un medio selectivo de cultivo de hongos (agar Sabouraud con antibióticos, similar o medio cromogénico) que se incubará en aire a 30°C. Aunque es posible aislar las levaduras en los medios bacteriológicos convencionales la recuperación en los medios selectivos para hongos es cinco veces mayor.

El incremento de patógenos multirresistentes en las infecciones intraabdominales hace que sea también aconsejable el uso de medios cromogénicos que detecten en el menor tiempo posible la presencia de enterobacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) o carbapenemasas, *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM) o *Enterococcus* spp. resistentes a vancomicina (ERV). Puesto que uno de los factores limitantes es el precio, podrían restringirse a pacientes hospitalizados, con pautas terapéuticas previas favorecedoras de sobreinfecciones.

De los hemocultivos en los que se detecte positividad, inoculados con sangre o con los líquidos anteriormente referidos, se aspirará asépticamente 8-10 ml, se subcultivará en medios sólidos, y se depositará una gota en un portaobjetos para la tinción de Gram y el resto se centrifugará en un tubo estéril. Según el resultado de la tinción de Gram se procederá a inocular directamente del sedimento paneles de identificación y sensibilidad. Como alternativa se puede realizar la identificación y sensibilidad del aislado a partir del medio sólido. Otra posibilidad es la aplicación directa de espectrometría

de masas (MALDI-TOF MS) o métodos de detección de antígenos mediante aglutinación o PCR.

3.6 CONSERVACIÓN DE LAS MUESTRAS

Se recomienda conservar las muestras como mínimo hasta la emisión del informe y si es posible una semana por si fuese preciso realizar estudios complementarios o confirmar resultados con un nuevo procesamiento.

3.7 INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

3.7.1 Tinción de Gram. Se evaluará la presencia o ausencia de bacterias, elementos fúngicos y células inflamatorias. La presencia de células inflamatorias indica si la muestra es representativa del proceso infeccioso. Se valorará la presencia o ausencia de leucocitos polimorfonucleares a bajo aumento (con objetivo 10x) y se registrará su presencia con esquema no cuantitativo: como aislados (≤ 1 PMN/campo), escasos (1-10 PMN/campo), moderados (11-25 PMN/campo) y abundantes (> 25 PMN/campo). Los resultados de la observación microscópica de las extensiones se informarán lo antes posible al clínico peticionario y quedarán registrados en la hoja de trabajo correspondiente a la muestra. Esto permitirá correlacionar los morfotipos visualizados con los aislados.

Es conveniente interpretar los resultados de la tinción de Gram para valorar la calidad de la muestra recibida en el contexto clínico del paciente. La mayoría de las infecciones intraabdominales tienen un importante componente inflamatorio y por ello, las tinciones procedentes de muestras en las que no se observan células inflamatorias, indican que las muestras son de mala calidad y poco útiles para el manejo del paciente. No obstante hay que tener en cuenta que algunos anaerobios como *Clostridium perfringens* producen lipasas y fosfolipasas que pueden destruir los leucocitos PMN.

3.7.2 Cultivos. Las placas y los medios líquidos serán examinados diariamente para detectar la presencia de crecimiento. La primera lectura de los medios incubados en aerobiosis y atmósfera de CO₂ se hará a las 24 horas de incubación y los medios incubados en anaerobiosis a las 48h.

3.7.2.1. Medios incubados en aerobiosis y atmósfera de CO₂. Si se obtienen cultivos mixtos se realizarán los subcultivos necesarios para obtener los microorganismos en cultivo puro. Una vez obtenido el cultivo puro se hará una identificación presuntiva mediante pruebas rápidas como tinción de Gram, catalasa, oxidasa, coagulasa en porta, etc. Si se considera relevante el hallazgo se avisará al clínico responsable del paciente. Se identificarán todos los aislados clínicamente significativos a nivel de especie y se realizarán las pruebas de sensibilidad a los antibióticos y detección de fenotipos de resistencia según las normas de cada laboratorio (EUCAST o CLSI). La utilización de la espectrometría de masas (MALDI-TOF MS) facilita la emisión de un informe preliminar rápido. Para más información se remite a los Procedimiento en

Microbiología Clínica de la SEIMC nº 37 (2ª edición): "Métodos de identificación bacteriana en el laboratorio de Microbiología", nº 38 (2ª edición): "Detección fenotípica de mecanismos de resistencia en gramnegativos" y nº39 (2ª edición): "Detección fenotípica de mecanismos de resistencia en grampositivos".

3.7.2.2. Medios incubados en anaerobiosis. Se examinarán los medios de cultivo para detectar todas las colonias morfológicamente diferentes y aislarlas en cultivo puro. Deben realizarse todos los reaislamientos necesarios para aislar colonias únicas de todos los morfotipos. A cada colonia se le realizará una prueba de aerotolerancia para diferenciar los aerobios y facultativos de los anaerobios. A los aerobios y facultativos que no se hayan detectado en los medios incubados en aire y CO₂ y que se consideren clínicamente significativos se les realizará la identificación y las pruebas de sensibilidad.

La identificación de los microorganismos anaerobios se debe ajustar a las necesidades clínicas, características microbiológicas de la muestra y posibilidades técnicas del laboratorio. La identificación por métodos tradicionales de los microorganismos anaerobios es un proceso lento que oscila entre 2-10 días y que no siempre lleva a la identificación de especie. La introducción del sistema MALDI-TOF MS ha supuesto un importante avance en la caracterización de los anaerobios por su sencillez, rapidez y reproductividad con relación a la genómica.

Las muestras para el diagnóstico microbiológico de las infecciones intraabdominales que tienen su origen a nivel colorectal (peritonitis secundarias, apendicitis, diverticulitis, abscesos intraperitoneales) son polimicrobianas y es posible aislar en ellas hasta 5-10 bacterias aerobias, facultativas y anaerobias. Salvo que exista un interés clínico o de investigación microbiológica que requiera la identificación de todos los microorganismos es suficiente, en la mayoría de los casos informar como "microbiota mixta aerobia y anaerobia". Sin embargo ciertas situaciones clínicas como peritonitis y apendicitis complicadas, pacientes con abscesos después de un tratamiento antimicrobiano empírico, pacientes inmunocomprometidos, etc. obligan a identificar las especies anaerobias clínicamente significativas.

Cuando un aislado predomina en una microbiota mixta, es aconsejable identificarlo a nivel de especie, también el aislamiento de anaerobios especialmente virulentos o resistentes como *Bacteroides* spp., *Parabacteroides* spp. (ambos géneros componentes del grupo *fragilis*), algunas especies de *Prevotella*, *Porphyromonas* spp., *Bilophila wadsworthia*, *Clostridium septicum*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium ramosum* o algunas especies de *Fusobacterium*. Si el cultivo contiene más de dos anaerobios distintos (o más de tres microorganismos en total) sin un predominio claro y sin ser especialmente virulento, puede ser suficiente la descripción de los morfotipos presentes en la

muestra, y si es posible el género al que pertenecen (*Clostridium*, *Fusobacterium*, *Prevotella*, etc.), mediante tinción de Gram, determinación de catalasa, crecimiento en bilis y sensibilidad o resistencia a discos de vancomicina, kanamicina y colistina según el punto 9 del Procedimiento en Microbiología Clínica de la SEIMC nº 16 (2ª edición): "Bacterias anaerobias".

En las muestras que procedan de sitios estériles, bilis por ejemplo, se realizará la identificación a nivel de especie.

No se recomienda la realización rutinaria de las pruebas de sensibilidad a todos los aislamientos de bacterias anaerobias. Sin embargo, hay evidencia sustancial de que la resistencia antimicrobiana es significativa en muchas especies de anaerobios, y que el tratamiento antibiótico inadecuado produce una mala respuesta clínica y un aumento de la mortalidad. Por ello, existen situaciones concretas en las que es recomendable realizar pruebas de sensibilidad a los microorganismos anaerobios: cuando se aislen en cultivo puro ó predominante y se les considere significativos clínicamente, en las infecciones graves o complicadas, en aislados de pacientes que no responden al tratamiento o cuando se aíslan microorganismos que presentan habitualmente un patrón de sensibilidad no predecible como *Bacteroides* spp. o *Parabacteroides* spp. debido a la creciente resistencia que presentan a los β-lactámicos.

3.7.2.3. Medios líquidos. Se examinarán cada día para ver si existe turbidez indicativa de crecimiento. Si el caldo de enriquecimiento está turbio, se realizará tinción de Gram y según los microorganismos que se observen, los subcultivos en los medios generales y selectivos adecuados. Cuando las muestras se han inoculado solo en caldos de enriquecimiento, es conveniente realizar al final del periodo de incubación, un subcultivo "de salida" en medios sólidos (agar chocolate y un medio no selectivo para anaerobios) aunque no se haya observado turbidez.

3.8 INFORMACIÓN DE RESULTADOS

Para que la información microbiológica tenga interés en el manejo del paciente cualquier información sobre la tinción de Gram o los cultivos que pueda tener significado clínico e influencia en el tratamiento, debe ser notificada lo antes posible al clínico responsable del paciente, mediante informes provisionales, máxime si se tiene en cuenta que en algunos procesos quirúrgicos la duración de la estancia hospitalaria ha disminuido en los últimos años principalmente por el uso cada vez más frecuente de las técnicas laparoscópicas y que el pronóstico está ligado a una terapia precoz adecuada.

3.8.1 Tinción de Gram. Se debe comunicar el resultado de la tinción de Gram el mismo día en que se recibe la muestra. En él se informarán todos los microorganismos visualizados y la presencia de leucocitos polimorfonucleares.

3.8.2 Cultivos. A las 24 horas se puede informar de los microorganismos presentes en el cultivo (*Pseudomonas aeruginosa*, *S. aureus*, enterococos, estreptococos, *Candida* spp.) e incluso la resistencia si se incluyen medios cromogénicos para detección de BLEE, carbapenemasas, SARM o ERV. En este contexto, y como se ha comentado con anterioridad, el sistema MALDI-TOF MS permite realizar las identificaciones en unos minutos directamente de las colonias en las placas de cultivo primario o de los hemocultivos positivos y reducir significativamente el tiempo en la emisión de los resultados. El informe preliminar tiene mucha importancia al permitir ajustar el tratamiento empírico. A los 2-3 días, se puede emitir un informe definitivo para bacterias aerobias y facultativas. Si el resultado del cultivo es positivo, el informe incluirá todos los microorganismos aislados que se consideren clínicamente significativos con su sensibilidad a los diferentes antimicrobianos según las normas de cada laboratorio. Se debe especificar que el resultado está pendiente del estudio de anaerobios.

A los 2-4 días es posible emitir el informe preliminar para las bacterias anaerobias, con la descripción de los morfotipos aislados en el cultivo, su relación con el aire, y a veces con la identificación presuntiva de algunos de ellos (*Bacteroides* spp., *C. perfringens*, *Clostridium* spp.) o definitiva si se dispone del sistema MALDI-TOF MS. Si el cultivo es positivo se informarán los anaerobios aislados. El estudio de sensibilidad sólo se realizará en las circunstancias especiales previamente comentadas.

Si el resultado final del cultivo es negativo, se emitirá un informe en el que conste "No se aíslan microorganismos" o "Cultivo negativo".

En todos los informes debe figurar la fecha de salida y el nombre del Microbiólogo responsable del estudio.

4. PERITONITIS Y ABSCESOS INTRAPERITONEALES

4.1. INTRODUCCIÓN Y CLASIFICACIÓN

La peritonitis es la inflamación de la membrana serosa peritoneal que recubre la cavidad abdominal. Diversos estímulos pueden generar esta respuesta inflamatoria: irritación química, necrosis local, contusión directa o invasión bacteriana, en este último caso se habla de peritonitis séptica, infecciosa o bacteriana. Desde el punto de vista clínico las peritonitis se consideran infecciones intraabdominales complicadas.

Atendiendo al origen y características de las peritonitis infecciosas éstas se clasifican en primarias (peritonitis monomicrobianas en las que no se evidencia un foco infeccioso de origen intraabdominal) secundarias (peritonitis polimicrobianas con origen intraabdominal), y terciarias (peritonitis persistentes y recurrentes). Según la evolución las peritonitis pueden ser agudas, aparecen bruscamente y progresan con rapidez o crónicas, con un curso más lento como la peritonitis tuberculosa. En función de la extensión, pueden ser localizadas cuando afectan a una zona del peritoneo

(abscesos peritoneales) o difusas si comprometen todo el peritoneo y según el lugar de adquisición, comunitarias o nosocomiales si se establecen a partir de las primeras 48 horas del ingreso hospitalario.

4.2 PERITONITIS PRIMARIAS

Las peritonitis primarias son infecciones bacterianas difusas que se manifiestan en ausencia de un foco primario de infección abdominal. Este término incluye diferentes patologías que tienen en común la infección de la cavidad peritoneal a partir de un foco extraabdominal no siempre evidente. Según la clasificación de Hamburgo de 1987, desde el punto de vista etiopatogénico se describen tres tipos de peritonitis primarias: peritonitis bacteriana espontánea (PBE), peritonitis tuberculosa (granulomatosas) y peritonitis asociada a diálisis peritoneal. Las especiales características de ésta última hace que se describa en un capítulo aparte.

4.2.1. Peritonitis bacteriana espontánea

4.2.1.1. Introducción. La PBE define la infección del líquido abdominal sin focalidad primaria intrabdominal. Incluye dos cuadros: la PBE del adulto y la PBE del niño. Los pacientes cirróticos con ascitis representan el principal grupo de riesgo para desarrollar PBE, con una prevalencia del 1,5-3% al 10% según se adquiera a nivel comunitario o nosocomial y un porcentaje de mortalidad todavía hoy día elevado (20-40%), a pesar de los avances diagnósticos y terapéuticos. En la actualidad, la PBE es una infección infrecuente en la infancia. Representa el 4,76% de todas las peritonitis pediátricas y el 2,1% de los cuadros de abdomen agudo visto en urgencias. Se manifiesta sobre todo en niños con ascitis secundaria a hepatopatía crónica (prevalencia 10-30%) y síndrome nefrótico (2-6%). También se han descrito peritonitis primarias en niños sanos o asociadas a infecciones respiratorias, periodontales y genitourinarias.

4.2.1.2. Etiopatogenia. La mayoría de las PBE tienen como origen la microbiota intestinal endógena. Los microorganismos acceden al líquido abdominal por vía linfática, acceso directo por migración transmural, y fundamentalmente por diseminación hematogena. La translocación bacteriana desempeña un papel importante en la patogenia. Las bacterias intestinales (viables o no) o sus productos (endotoxinas) atraviesan la mucosa intestinal y colonizan los ganglios linfáticos mesentéricos. Desde aquí pasan al torrente circulatorio y mediante bacteriemias repetidas difunden y colonizan el líquido abdominal. En el paciente cirrótico concurren una serie de circunstancias que favorecen la translocación bacteriana y el desarrollo de PBE: alteración estructural y funcional de la barrera intestinal (mayor permeabilidad), sobrecrecimiento de la microbiota intestinal y alteración de la respuesta inmune tanto a nivel local en el líquido abdominal, como sistémico.

En algunas ocasiones el origen es extraintestinal, en este contexto se presenta asociado a distintos focos sépticos sobre todo respiratorios, urinarios o iatrogénicos en el transcurso de procedimientos

invasivos (endoscopia con esclerosis de várices esofágicas, cateterismo venoso central, cateterismo urinario...etc.). En mujeres, sobre todo portadoras de dispositivos intrauterinos, la peritonitis primaria puede ser consecuencia del ascenso de microorganismos a través de las trompas de Falopio.

La etiología es monomicrobiana en el 92% de los casos, si se aísla más de una bacteria es necesario realizar diagnóstico diferencial con la peritonitis secundaria. En el 70% se aíslan patógenos entéricos facultativos, en especial *E. coli* y *Klebsiella pneumoniae* y en un 25% cocos positivos, sobre todo estreptococos del grupo *viridans*, siendo inusual la presencia de bacterias microaerófilas y anaerobias. En la PBE de origen nosocomial, especialmente en pacientes con ingresos repetidos de larga estancia o ingresados en UCI, así como aquellos que reciben profilaxis con norfloxacino o que presentan enfermedad hepática avanzada, predominan los cocos grampositivos (*Enterococcus* spp., *Staphylococcus* spp.) y bacilos gramnegativos no entéricos (*Pseudomonas* spp.). En los últimos años está adquiriendo importancia *S. aureus* como responsable de casos iatrogénicos.

En los niños, también se admite la vía hematogena como ruta de acceso mas frecuente sin descartar la linfática, transmural y urinaria y en niñas la ascendente del tracto genital. Son infecciones monomicrobianas, pero a diferencia del adulto, predominan los cocos grampositivos (69%) respecto a los bacilos gramnegativos (31%). En el primer grupo el agente etiológico mas frecuente es *Streptococcus pneumoniae* seguido de *Streptococcus pyogenes* y *S. aureus*. Estudios recientes detectan una frecuencia mayor de bacilos gramnegativos como *E. coli* (15,3%) y *K. pneumoniae* (7,7%).

Neisseria gonorrhoeae, *Chlamydia trachomatis* y *S. pneumoniae* se aíslan en las peritonitis de origen genital.

El término ascitis neutrocítica define la PBE “con cultivo negativo” debido posiblemente a cargas bacterianas bajas no detectadas por los métodos convencionales de cultivo. La bacteriascitis por el contrario define la presencia de bacterias sin respuesta inflamatoria peritoneal (<250 PMN/mm³).

4.2.1.3. Cuadro clínico. La presentación clínica de la PBE en el paciente cirrótico es muy variable. La mayoría manifiestan signos o síntomas de afectación peritoneal fundamentalmente fiebre (69%) y dolor abdominal difuso (59%). La presencia de íleo paralítico (30%) y diarrea (32%) es menos prevalente y los signos de irritación abdominal pueden no manifestarse por la presencia de ascitis. No es infrecuente que el cuadro debute con clínica de deterioro hepático (encefalopatía), síndrome hepatorenal y hemorragia gastrointestinal, o con signos y síntomas sistémicos de infección. Un 10-13% de los pacientes pueden estar asintomáticos.

En los niños, la PBE cursa de forma aguda con un cuadro clínico similar a la apendicitis, lo que lleva a realizar laparotomías exploradoras en la mayoría de

los casos sobre todo en ausencia de factores predisponentes. Los signos y síntomas más frecuentes de presentación son fiebre y dolor abdominal seguidos de distensión abdominal, vómitos y diarrea.

4.2.1.4 Diagnóstico microbiológico. El diagnóstico de la PBE se establece mediante el análisis del líquido abdominal. La infección peritoneal desencadena una respuesta inflamatoria con atracción de PMN. La presencia en el líquido abdominal de un recuento ≥ 250 PMN/mm³ determina el diagnóstico presuntivo de PBE, independientemente del resultado del cultivo que como se ha comentado con anterioridad, puede ser o no positivo.

El diagnóstico microbiológico se basa en el estudio microscópico y cultivo del líquido abdominal. Ante las sospecha de PBE, además del líquido abdominal, se recomienda realizar hemocultivos, ya que la mayoría se asocian a bacteriemias, y cultivo de orina aunque el paciente presente o no clínica urinaria, ya que la bacteriuria asintomática es un factor de riesgo para la PBE en el paciente cirrótico. Los hemocultivos son positivos en más del 50% de los pacientes.

El proceso a seguir es el descrito en el apartado: “Proceso microbiológico general de las infecciones intraabdominales” de este procedimiento. A continuación sólo se comentan aspectos particulares del proceso.

La recogida del líquido abdominal se realiza mediante aspiración percutánea (paracentesis). Es importante extremar las medidas de asepsia en la obtención de la muestra para evitar contaminaciones con la microbiota cutánea o ambiental. Para ello se debe desinfectar la zona de punción con alcohol isopropílico o etílico de 70° durante 30 segundos. Posteriormente se aplicará una solución yodada: tintura de yodo al 1-2% durante 30 segundos o povidona yodada al 10% durante 1 minuto haciendo círculos concéntricos desde el centro hacia la periferia en una zona de unos 10 cm de diámetro. En pacientes con hipersensibilidad a los compuestos yodados se puede realizar dos limpiezas consecutivas con alcohol isopropílico. Una alternativa eficaz es la solución alcohólica de clorhexidina al 0,5%.

En los niños, es frecuente que la muestra se recoja intraoperatoriamente, durante la laparotomía abdominal.

La muestra debe inocularse en frascos de hemocultivo (10 ml en frasco aerobio y 10 ml en frasco anaerobio) y el resto, mínimo 0,5 ml-1 ml, en un tubo estéril sin conservantes para realizar la tinción de Gram. La inoculación de los frascos de hemocultivo debe efectuarse en el momento de la extracción (cabecera del paciente). Se ha demostrado que la demora de 4 horas en la inoculación de los frascos, disminuye la sensibilidad en un 23%.

Examen macroscópico. El aspecto del líquido abdominal puede ser de ayuda en la orientación diagnóstica. La turbidez y el color del líquido deben ser observados y anotados. En circunstancias

normales es un líquido claro o amarillo pajizo. En las PBE su aspecto es turbio y amarillo (hemático si la punción ha sido traumática).

Tinción de Gram. Se efectúa a partir del sedimento del tubo estéril centrifugado. Si la muestra viene sólo inoculada en frascos de hemocultivo no es posible realizarla. Presenta una baja sensibilidad por el escaso número de bacterias presentes en las muestra (1-2 bacterias/ml). Es positiva en el 9-11% de las PBE.

Cultivo. No se considera útil la siembra directa de la muestra en los medios de cultivo. La baja carga bacteriana ya referida, unido al escaso volumen procesado (1-2 ml), determina una escasa rentabilidad. La siembra en frascos de hemocultivo se considera el método de referencia ya que por una parte incrementa la sensibilidad (80-90%) respecto al cultivo tradicional (50%) al procesar mayor volumen de muestra (10 ml) y por otra acorta el tiempo de respuesta al procesarse mediante sistemas automatizados. A pesar de estas medidas, el cultivo solo es positivo en un 30-50% de los casos. El sistema de lisis-centrifugación ofrece peores resultados.

Aunque el cultivo positivo no es un criterio imprescindible para establecer el diagnóstico de PBE, es importante el aislamiento para conocer la epidemiología y sobre todo la sensibilidad de los patógenos implicados. Datos recientes describen una amplia resistencia de enterobacterias a quinolonas, especialmente en pacientes que reciben profilaxis con norfloxacino.

Detección genómica. Diversos estudios han aplicado métodos moleculares para la detección bacteriana en la PBE. En comparación con el cultivo convencional, las PCR múltiples presentan mayor sensibilidad y especificidad. La detección mediante PCR universal (16S rDNA) muestra una rentabilidad superior en algunos estudios mientras que otros obtienen sensibilidades inferiores al cultivo.

En cuanto a la identificación bacteriana, los mejores resultados se obtienen con la aplicación de PCR múltiples. La secuenciación de los fragmentos amplificados sólo logra identificar el 50% de los aislados. Esta menor rentabilidad podría estar en relación con translocaciones polimicrobianas.

La relevancia clínica de la detección bacteriana mediante PCR en pacientes con ascitis estériles o bacteriascitis asintomáticas no está aclarada. Para algunos autores estas técnicas no logran diferenciar colonización de infección. La presencia de genoma bacteriano en el líquido abdominal no predice el posterior desarrollo de una PBE, aunque parece ser un indicador de mal pronóstico en determinados grupos de pacientes.

4.2.2 Peritonitis tuberculosa

4.2.2.1 Introducción. La afectación peritoneal es una forma clínica poco frecuente de presentación de la tuberculosis extrapulmonar. Representa el 31-58% de las tuberculosis abdominales y el 1-3% de todas las formas de tuberculosis. Los principales factores de riesgo asociados a este cuadro son la

hepatopatía alcohólica, la insuficiencia renal crónica asociada a CAPD y la infección por VIH. También se relaciona con diabetes, tratamiento prolongado con corticoides, tratamientos con TNF- α , y enfermedades malignas.

4.2.2.2 Etiopatogenia. Los bacilos pueden alcanzar el peritoneo por vía hematológica, a partir de un ganglio linfático mesentérico, por extensión desde un foco intestinal o ginecológico (salpingitis) o directamente en pacientes con diálisis peritoneal. Se han descrito casos después de la aplicación del bacilo de Calmette-Guérin (BCG) en carcinomas vesicales. La mayoría de los casos, se produce por reactivación de un foco latente peritoneal producido por diseminación a partir de un foco primario pulmonar. A pesar de ello sólo un 20% presenta afectación pulmonar. *Mycobacterium avium* complex, *Mycobacterium fortuitum*, *Mycobacterium kansasii* y *Mycobacterium gordonae* se han asociado también a cuadros de peritonitis.

4.2.2.3 Cuadro clínico. Clínicamente se presenta como un proceso insidioso, subagudo, cuyos signos y síntomas más prevalentes son: ascitis (73-90%) fiebre (74%) pérdida de peso (62%) y dolor abdominal difuso (58%).

4.2.2.4 Diagnóstico microbiológico. Se debe sospechar una peritonitis tuberculosa en toda ascitis exudativa de predominio linfocítico, con un gradiente albumina suero/albumina en líquido abdominal menor de 1,1 g/dL. Estos datos son solo orientativos, los pacientes con cirrosis puede presentar trasudados y en la insuficiencia renal pueden predominar los neutrófilos sobre los linfocitos. Un valor de adenosindeaminasa (ADA) en el líquido abdominal superior a 30 UI tiene una sensibilidad del 100% y una especificidad del 97%.

El diagnóstico microbiológico se basa en el examen microscópico, cultivo y/o detección molecular de *Mycobacterium tuberculosis* en el líquido abdominal o en muestras de biopsia peritoneal.

La recogida de muestras incluye paracentesis, biopsias percutáneas y biopsias por procedimientos quirúrgicos mediante laparotomía o laparoscopia. Se aconseja recoger el mayor volumen posible de líquido abdominal, como mínimo 10-15 ml, recomendable 50 ml, e incluso 1 litro, debido al bajo número de bacilos presente en la muestra. Las biopsias se deben recoger en envases estériles con suero fisiológico o con medio 7H9 de Middlebrook para evitar la desecación.

Todos los detalles técnicos de recogida, procesamiento, identificación y estudio de sensibilidad están recogidos en el Procedimiento en Microbiología Clínica de la SEIMC 9a (2ª edición): "Micobacterias".

En relación al líquido abdominal, la sensibilidad de la microscopía mediante tinciones de Ziehl-Neelsen y auramina es baja, menos de 3-5%, por la escasa concentración de bacilos. El cultivo presenta mayor sensibilidad que el estudio microscópico. Es positivo en un 20-35% de los casos. Para incrementar la

sensibilidad se recomienda aumentar el volumen de muestra estudiada (50 mL e incluso 1L) o concentrarla previamente mediante filtración en una membrana de policarbonato. La siembra de 1 litro de líquido abdominal previamente centrifugado (3000xg 15 minutos) aumenta la sensibilidad al 66-83%. El manejo de este volumen no es un método operativo en los laboratorios clínicos. La utilización de medios líquidos, más enriquecidos y de sistemas automatizados (BACTEC MGIT 960) de detección de crecimiento ha mejorado la sensibilidad del cultivo y reducido el tiempo de diagnóstico.

La mayor rentabilidad diagnóstica se obtiene con la biopsia peritoneal que ofrece la posibilidad de realizar además el estudio histológico. La tinción es positiva en el 3-25% de las muestras y la sensibilidad del cultivo oscila entre el 38-92%. El cultivo permite identificar la especie y realizar estudios de sensibilidad. Es aconsejable inocular en paralelo medios sólidos. Algunos trabajos han ensayado la utilidad de las técnicas moleculares (PCR) en la detección de *M. tuberculosis* del líquido abdominal o biopsia peritoneal. En general las PCR específicas presentan menor sensibilidad que el cultivo. En la actualidad no existen técnicas comerciales validadas para estas muestras, y deben ser consideradas un complemento del diagnóstico convencional. Para más información sobre las técnicas moleculares aplicadas a la detección de *M. tuberculosis* complex y detección de resistencia a rifampicina e isoniazida en muestras estériles se remite al punto 6.2 del Procedimiento en Microbiología de la SEIMC nº 36 (2ª edición): "Diagnóstico microbiológico de las infecciones del sistema nervioso central".

4.3. PERITONITIS SECUNDARIA

4.3.1 Introducción. Constituyen el grupo más frecuente de peritonitis bacterianas. Son infecciones de la cavidad peritoneal producidas por extensión de un proceso supurado intraabdominal o perforaciones del tracto gastrointestinal de origen traumático, quirúrgico, isquémico o espontáneo.

4.3.2 Etiopatogenia. El proceso patogénico se inicia con la contaminación peritoneal por microorganismos y sustancias adyuvantes (bilis, sangre) del órgano perforado. La progresión a infección depende del número, tipo y grado de virulencia de los microorganismos y de los mecanismos defensivos del paciente. Una vez producida la contaminación peritoneal se ponen en marcha varios mecanismos locales para evitar la infección, aclaramiento bacteriano por el sistema linfático, fagocitosis por los macrófagos y polimorfonucleares, reacción inflamatoria y formación de fibrina que actúa atrapando las bacterias y creando adherencias, evitando la diseminación de la contaminación, localizando el foco infeccioso. Como resultado de esta respuesta puede ocurrir la erradicación de los microorganismos con resolución completa del cuadro, la localización de la infección con la formación de un absceso intraabdominal o la extensión de la infección por el peritoneo

produciendo una peritonitis generalizada. El proceso inflamatorio y/o infeccioso libera citocinas y otros mediadores, tanto a nivel local como sistémico, que desencadena el síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SRIS) que puede llevar a un fracaso orgánico múltiple.

A diferencia de las peritonitis primarias, las secundarias son polimicrobianas y mixtas. En cada muestra se pueden llegar a aislar 5-10 especies bacterianas, con un claro predominio de microorganismos anaerobios frente a aerobios.

La etiología depende de la localización del foco primario de infección, del lugar de adquisición, y de las posibles modificaciones de la microbiota condicionadas por la administración previa de antimicrobianos y las comorbilidades del paciente. En relación al primer punto, y teniendo en cuenta la distribución de la microbiota intestinal, en las peritonitis secundarias a perforaciones del esófago y estómago predominan los microorganismos grampositivos (estreptococos, *Lactobacillus* spp.). En las perforaciones de duodeno y parte proximal del intestino delgado además de los anteriores se aíslan enterobacterias y algunos anaerobios. En el tramo distal del intestino delgado enterobacterias, enterococos y anaerobios y en las del colon predominan los anaerobios, en especial *Bacteroides* spp., *Prevotella* spp. y *Porphyromonas* spp. sobre los facultativos, como *E. coli*, *Proteus* spp., *Klebsiella* spp. y enterococos. Hay que tener en consideración que múltiples factores pueden modificar la composición de la microbiota endógena: toma de inhibidores de la secreción ácida, cirugía previa, tratamiento antimicrobiano, hospitalización, dieta, etc.

Las peritonitis de origen comunitario, en pacientes que no han recibido previamente antimicrobianos, están causadas por anaerobios fundamentalmente *B. fragilis*, bacilos entéricos como *E. coli*, *Klebsiella* spp., *Proteus* spp. y *Serratia marcescens* y *Streptococcus* spp.. Otros anaerobios implicados son: *Parabacteroides* spp., *Prevotella* spp., *Porphyromonas* spp., *Clostridium* spp., *Bilophila wadsworthia*, *Lactobacillus* spp., *Peptostreptococcus* spp. y *Veillonella* spp..

En las peritonitis de adquisición nosocomial y las comunitarias con tratamiento antimicrobiano previo están implicados microorganismos resistentes y patógenos nosocomiales: predominan los aerobios y facultativos con disminución del porcentaje de *E. coli* a favor de *Enterobacter* spp.. Se aíslan no fermentadores como *Pseudomonas aeruginosa* y predominan en relación a las anteriores, los aislamientos de *Enterococcus* spp., y levaduras (*C. albicans* y *C. glabrata*). El papel de los anaerobios es menor (Tabla 2). Trabajos recientes encuentran una prevalencia similar de levaduras en ambos tipos de peritonitis secundaria. Existe controversia sobre el papel que desempeña enterococo en las peritonitis comunitarias. En general su presencia no tiene impacto sobre la evolución del paciente y no se recomienda incluir cobertura antimicrobiana frente a

él excepto en pacientes inmunocomprometidos, graves, con bacteriemia asociada, valvulopatías o implantes protésicos cardiovasculares. De forma similar, el aislamiento de levaduras en las peritonitis secundarias de adquisición comunitaria debe tenerse

en cuenta en inmunocomprometidos, pacientes expuestos previamente a antimicrobianos de amplio espectro, candidiasis invasiva o perforaciones recurrentes.

Tabla 2. Microorganismos aislados de muestras peritoneales

Microorganismos	Peritonitis adquirida en la comunidad	Peritonitis nosocomial	
		Postquirúrgicas	No postquirúrgicas
Aerobios			
Gram negativos			
<i>Escherichia coli</i>	30	17	5
<i>Klebsiella</i> spp.	8	6	1
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5	6	2
<i>Enterobacter</i> spp.	1	9	0
<i>Proteus</i> spp.	1	1	0
<i>Acinetobacter</i> spp.	0	0	0
Otras bacterias	4	1	0
Gram positivos			
<i>Streptococcus</i> spp.	15	11	3
<i>Enterococcus</i> spp.	7	21	7
<i>Staphylococcus</i> spp.	0	6	0
Anaerobios			
<i>Bacteroides fragilis</i>	13	13	2
<i>Clostridium</i> spp.	2	3	2
Otras bacterias	4	1	0
<i>Candida</i> spp*	3	5	3

*Todas *Candida albicans*, excepto las de peritonitis postquirúrgicas: *C. albicans* (n=3), *C. glabrata* (n=1) y *Candida krusei* (n=1).

Tomado de Seguin P, et al. Clin Microbiol Infect. 2006; 12:980-985.

En un 15% de las peritonitis secundarias tanto comunitarias como nosocomiales, se aíslan enterobacterias productoras de BLEE, betalactamasas de tipo AmpC, o carbapenemasas, ERV, SARM, *P. aeruginosa* y *Acinetobacter baumannii* multirresistentes. Los factores de riesgo asociados son la estancia hospitalaria previa (>5 días, sensibilidad 93% y especificidad 58%) y el uso previo de antimicrobianos (mas de dos días). El factor de riesgo más importante para la selección de enterobacterias productoras de BLEE es la exposición previa a antimicrobianos sobre todo cefalosporinas de tercera generación, aminoglicósidos y también fluoroquinolonas y las comorbilidades.

4.3.3 Cuadro clínico. Varía según el proceso etiológico que lo origina y las características del paciente. Predomina la fiebre, el dolor abdominal al principio local y después generalizado, y los síntomas de irritación peritoneal que puede llevar a shock séptico y síndrome de respuesta inflamatoria sistémica. El diagnóstico se complementa con los datos analíticos y las pruebas de imagen.

4.3.4 Diagnóstico microbiológico. El diagnóstico de las peritonitis secundarias es fundamentalmente clínico, el análisis microbiológico es útil para establecer la etiología y determinar la sensibilidad. Recientemente las guías IDSA han publicado unas recomendaciones sobre el diagnóstico microbiológico de las infecciones intraabdominales complicadas complicadas. En relación a las infecciones adquiridas en la comunidad, no recomiendan de forma rutinaria la toma de hemocultivos, consideran opcional el cultivo de la muestra clínica y de poco valor la tinción de Gram. Como excepciones incluyen pacientes inmunocomprometidos o en situación grave y siempre que el porcentaje de resistencia local de los patógenos habitualmente aislados a los antimicrobianos utilizados empíricamente supere el 20%. En nuestra opinión y a pesar de la etiología “previsible” de las infecciones comunitarias es conveniente el estudio rutinario en base al incremento de resistencias o multirresistencias detectado tanto en cepas nosocomiales como comunitarias productoras de infección intraabdominal. El diagnóstico microbiológico se

basa en el estudio del líquido abdominal, material purulento o lavado peritoneal obtenidos por punción abdominal (con control ecográfico), abordaje laparoscópico o quirúrgico. Se recomienda realizar hemocultivos sobre todo en pacientes con fiebre o síntomas de sepsis.

El proceso a seguir es el descrito en el apartado: “Proceso microbiológico general de las infecciones intraabdominales” de este procedimiento. A continuación sólo se comentan aspectos particulares del proceso.

Como la etiología es polimicrobiana y mixta, la muestra se debe recoger en un vial adecuado para la recuperación de facultativos y anaerobios. Puede ser válida la jeringa siempre y cuando se retire la aguja para evitar pinchazos accidentales y se elimine el aire. No son adecuadas las muestras recogidas en torunda. Las muestras deben mantenerse a temperatura ambiente, nunca ser refrigeradas o congeladas. En general la viabilidad de los anaerobios oscila entre 2-3 horas.

El examen microscópico de la muestra mediante tinción de Gram se efectúa a partir del sedimento. Permite valorar la presencia de polimorfonucleares, levaduras y diferentes morfotipos bacterianos.

El cultivo además de medios convencionales para bacterias aerobias y facultativas (agar sangre, agar chocolate y agar MacConkey) debe incluir medios selectivos como el agar CNA y el agar BBE para anaerobios. No se recomienda utilizar medios líquidos de enriquecimiento. La toma previa de antimicrobianos o antifúngicos limita su utilidad.

La sensibilidad de los hemocultivos es baja, se estima en un 25%.

4.4 PERITONITIS TERCIARIA

4.4.1 Introducción. Son infecciones peritoneales difusas que recurren o persisten después de fracasar el tratamiento supuestamente adecuado, de una peritonitis secundaria o primaria. Indica un fallo en el control del foco, ineficacia del tratamiento antimicrobiano o un fracaso de los mecanismos defensivos del paciente. La severidad del cuadro se asocia a una elevada tasa de mortalidad que oscila entre el 30-60% relacionada no tanto con el proceso infeccioso en sí, sino con las características de los pacientes, casi todos críticos, con alteraciones del sistema inmune que les impide controlar el proceso infeccioso y precisan sucesivas relaparotomías. En ocasiones resulta difícil diferenciar las peritonitis terciarias de las secundarias complicadas.

La inmunosupresión, un estado nutricional deficiente, las comorbilidades y la presencia de microorganismos multirresistentes son algunos de los factores de riesgo que predicen el desarrollo de la peritonitis terciaria. La puntuación alta en las escalas APACHE II, SAPS II y MPI (*Mannheim Peritonitis Index*) favorece asimismo la progresión de las peritonitis secundarias a terciarias.

4.4.2 Etiopatogenia. Existe una alteración de los mecanismos de defensa locales peritoneales que impide controlar la infección. Por ello, las

relaparotomías no suelen revelar abscesos ni focos evidentes de infección, sino un líquido serohemático en ocasiones estéril, sin evidencia de microorganismos, mientras que en otras se aíslan patógenos nosocomiales o patógenos de escaso poder patógeno (*Enterococcus* spp., *Staphylococcus epidermidis*) que posiblemente representen translocaciones o contaminaciones exógenas.

Las peculiaridades de estas peritonitis: nosocomiales, postoperatorias con múltiples intervenciones, pacientes con ingreso prolongado en áreas hospitalarias de especial riesgo como UCI, con múltiples pautas terapéuticas previas casi siempre de amplio espectro, condicionan su etiología.

Predominan los bacilos gramnegativos, con mayor frecuencia *Enterobacter* spp. y patógenos nosocomiales multirresistentes como *P. aeruginosa* y *A. baumannii*. También se aíslan enterobacterias productoras de BLEE.

Dentro de los microorganismos grampositivos es frecuente el aislamiento de *Enterococcus faecium* (en ocasiones resistentes a la vancomicina) y *Staphylococcus* spp.. En lo referente a las levaduras predominan las especies no-*albicans* de *Candida*.

4.4.3 Cuadro clínico. Puede presentar clínica de cuadro abdominal o de SRIS. Hay que tener en cuenta además que las características del paciente (manejo en UCI) pueden enmascarar y alterar los signos y síntomas. Debe sospecharse si persiste fiebre o aparición de signos y síntomas de sepsis o fallo multiorgánico en un paciente postquirúrgico.

4.4.4 Diagnóstico microbiológico. El mismo que el referido en las peritonitis secundarias, la muestra se recoge siempre intraoperatoriamente y es fundamental recoger muestras en cada relaparotomía.

4.5 ABSCESOS INTRAPERITONEALES

4.5.1 Introducción. Los abscesos intraperitoneales son colecciones purulentas rodeadas de paredes fibrosas, que se pueden producir por extensión de cuadros inflamatorios localizados (apendicitis, diverticulitis, colecistitis, pancreatitis), traumatismos abdominales, perforaciones, complicaciones de una cirugía abdominal previa o pueden representar una reacción defensiva “favorable” ante de un proceso infeccioso peritoneal difuso. Representan junto a los retroperitoneales el 74% de los abscesos intraabdominales.

Los abscesos adquiridos en la comunidad son consecuencia de procesos localizados que en su evolución desarrollan abscesos, siendo los más frecuentes los diverticulares y apendiculares. También como resultado de perforaciones duodenales y colecistitis. Los abscesos posquirúrgicos se deben a infecciones por dehiscencias de anastomosis o perforaciones.

Abscesos subfrénicos: en el 83% de los casos son secundarios a complicaciones postoperatorias de cirugía de colon (21%), gastroduodenal (13%), traumatismo abdominal (13%) cirugía biliar (13%) y apendicectomía (12%). Las colecciones subfrénicas

se localizan más frecuentemente en el lado derecho (56%) que en el izquierdo (21%), existiendo afectación bilateral en el 23% de los casos. Los abscesos subfrénicos derechos suceden como complicación de cirugía hepatobiliar y apéndice y los izquierdos después de cirugía gástrica o esplénica.

Abscesos del epiplón menor: es una variante del absceso subfrénico izquierdo. La causa más frecuente es la pancreatitis aguda complicada y la perforación gastroduodenal evolucionada.

Abscesos subhepáticos: las complicaciones de la cirugía biliar y gástrica son el origen más frecuente de estos abscesos, aunque la etiología colónica va en aumento.

Abscesos entre asas: suelen ser múltiples asociándose con frecuencia a otras colecciones pélvicas.

Abscesos pélvicos: suelen ser complicación de una diverticulitis, enfermedad pélvica inflamatoria, peritonitis apendicular o secundaria a una dehiscencia de una anastomosis colorrectal.

4.5.2 Etiopatogenia. El sinergismo bacteriano desempeña un papel importante en su desarrollo. Una vez producida la contaminación peritoneal existe un predominio de enterobacterias en los 5-7 primeros días coincidiendo con la fase de peritonitis, después en la etapa de absceso predominan los anaerobios sobre todo *B. fragilis*. La comorbilidad del paciente, una respuesta inflamatoria inadecuada y la presencia de materiales extraños (sangre, bilis, gasas, talco) contribuyen igualmente a su formación.

Son infecciones polimicrobianas, que incluyen microorganismos facultativos, fundamentalmente *E. coli* y *Enterococcus* spp. y anaerobios con *B. fragilis* como patógeno predominante. En los abscesos postquirúrgicos o en pacientes con terapéutica antimicrobiana previa la etiología es similar a las peritonitis terciarias, con implicación de patógenos nosocomiales y levaduras. En los abscesos pélvicos secundarios a enfermedad inflamatoria pélvica suelen estar implicados *Chlamydia trachomatis* o *N. gonorrhoeae*. Los abscesos producidos por traumatismos penetrantes pueden deberse a *Staphylococcus* spp..

4.5.3 Cuadro clínico. Está en relación con el proceso desencadenante, suelen presentar clínica inespecífica con fiebre, náuseas, vómitos y dolor abdominal persistente. Los abscesos subfrénicos habitualmente se acompañan de hallazgos torácicos con afectación pulmonar y/o pleural, mientras que los subhepáticos tienen clínica abdominal. Por la falta de especificidad clínica son necesarias técnicas de imagen (radiografía, ecografía, TAC, gammagrafía o resonancia magnética) para detectar los abscesos. La TAC es la prueba de referencia.

4.5.4 Diagnóstico microbiológico. La muestra se obtiene mediante punción y drenaje percutáneo guiado por imagen, si el absceso está bien localizado, o por abordaje quirúrgico si son abscesos múltiples y localizados. El material recogido se trasfiere directamente a un vial de transporte de anaerobios. El transporte, procesamiento e

interpretación es similar al referido en las peritonitis secundarias.

5. INFECCIONES RELACIONADAS CON LA DIÁLISIS PERITONEAL

5.1 INTRODUCCIÓN Y CLASIFICACIÓN

La diálisis peritoneal (DP) es el primer escalón del tratamiento de la insuficiencia renal crónica que requiere depuración. Independiente del procedimiento utilizado (DP ambulatoria continua, DP automatizada o de ciclo continuo) la DP implica la inserción de un catéter en la pared abdominal que abre una puerta de entrada que puede ser utilizada por distintos microorganismos para invadir y producir diversos tipos de infecciones. La *International Society for Peritoneal Dialysis* ha publicado recientemente un documento de directrices y recomendaciones que analiza aspectos del diagnóstico microbiológico de las infecciones relacionadas con la DP.

En la DP pueden aparecer infecciones de la zona por la que transcurre el catéter en la pared y/o en la cavidad peritoneal. La bacteriemia es muy infrecuente y generalmente se asocia a la coexistencia de diversas patologías intraabdominales.

Las **infecciones relacionadas con el catéter** pueden localizarse tanto en el orificio de salida como en el túnel subcutáneo por el que transcurre a través del abdomen. Es frecuente la asociación de ambas infecciones.

La **peritonitis** es la principal complicación de la diálisis peritoneal, una causa importante de morbilidad y mortalidad. En nuestro país se ha comunicado una mortalidad del 5,9% (41 de 693 episodios), la mayoría asociada a hongos (27,5%), organismos entéricos (19,3%) y *S. aureus* (15,2%). En ocasiones para su resolución es necesario retirar el catéter. Ocasiona fracaso del procedimiento porque puede acabar produciendo una alteración estructural y funcional del peritoneo que lleva a la hemodiálisis. Es motivo de ingreso hospitalario y responsable de incremento en el gasto sanitario. Por estas razones es esencial establecer medidas eficaces de prevención y un tratamiento antimicrobiano. Por su reiteración y por el uso repetido de antimicrobianos las peritonitis conducen a la selección de microorganismos multirresistentes. Estos hechos resaltan la importancia de un diagnóstico microbiológico rápido que permita inicialmente orientar el tratamiento empírico y posteriormente establecer uno dirigido. La peritonitis de la DP puede ser considerada como un tipo de peritonitis primaria, dado que no se suele evidenciar ningún foco infeccioso intraabdominal ni una solución de continuidad en el tracto gastrointestinal, o como un cuarto tipo de peritonitis porque su origen está en la rotura permanente de la pared abdominal y en la introducción repetida de líquidos en la cavidad. Se puede asociar con la infección del orificio de salida y/o del túnel subcutáneo, en este caso se denomina peritonitis relacionada con el catéter. La peritonitis

puede ser **recurrente** (aparece dentro de las 4 semanas tras haber concluido el tratamiento de una peritonitis anterior en la que en el cultivo se aisló una bacteria diferente), **recidivante** (surge dentro de las 4 semanas tras haber concluido el tratamiento de una peritonitis anterior en la que el cultivo o bien fue negativo o positivo a la misma bacteria), **repetida** (aparece después de 4 semanas de haber concluido el tratamiento de una peritonitis anterior en la que en el cultivo se aisló la misma bacteria) y **refractaria** (cuando tras 5 días de tratamiento antibiótico adecuado el efluente no se clarifica).

5.2 ETIOPATOGENIA

5.2.1 Infecciones relacionadas con el catéter

Los microorganismos proceden de la piel o se transmiten por contacto. Con frecuencia se aíslan bacterias que forman parte de la microbiota cutánea. Tras su inserción el catéter se coloniza por microorganismos que forman una biopelícula que los protege de los mecanismos defensivos y de los antibióticos que pueden invadir los tejidos y producir una infección. Los agentes causales de la mayoría de las infecciones del sitio de salida son *S. aureus*, *P. aeruginosa* y enterobacterias. Con menor frecuencia se aíslan corinebacterias, estreptococos, bacilos no fermentadores, anaerobios, micobacterias atípicas, legionelas, levaduras y hongos filamentosos. El uso de antibióticos tópicos con fines profilácticos puede cambiar el espectro de los microorganismos recuperados. Los más agresivos son *S. aureus* y *P. aeruginosa*. En las infecciones del túnel los microorganismos recuperados son similares.

5.2.2 Peritonitis. La infección se puede producir por distintas vías, **intraluminal** por inoculación o manipulación de conexiones, **periluminal** a partir de infecciones de la entrada y/o del túnel, más raramente **trasmural** por migración de microorganismos intestinales a causa de patologías de la pared intestinal, estreñimiento o colitis. Infrecuentemente por **diseminación hematógena** o **contaminación vaginal**. La peritonitis recidivante puede ser consecuencia de bacterias que producen biopelícula en la porción de catéter intraabdominal como *S. epidermidis*.

La infección suele ser monomicrobiana. La mayor parte de las peritonitis relacionadas con la DP están producidas por bacterias grampositivas, más del 60%, especialmente por *S. epidermidis*, *S. aureus*, *Streptococcus* spp. y otras especies de estafilococos coagulasa negativa. También se aíslan corinebacterias. Muchas de estas bacterias pertenecen a la microbiota de la piel y suelen llegar al peritoneo a través del catéter, por su luz o por vía periluminal. Del 10-15% de los casos se aíslan *Enterococcus* spp. y *Streptococcus* spp., especialmente *Enterococcus faecalis* y estreptococos del grupo *viridans*. El aislamiento de estreptococos β-hemolíticos es infrecuente. Las bacterias gramnegativas están implicadas con menor frecuencia, las más recuperadas son *P. aeruginosa* y

enterobacterias particularmente *E. coli*. Son infrecuentes otros bacilos gramnegativos fermentadores y no fermentadores, anaerobios, *Mycobacterium* spp., *Candida* spp. y hongos filamentosos. La peritonitis fúngica está producida especialmente por especies del género *Candida*, particularmente por *C. albicans*, aunque en los últimos años se ha visto igualada o incluso superada por *C. parapsilosis*.

En las peritonitis recidivantes se han comunicado más casos de cultivos negativos y por *Pseudomonas* spp. que en las peritonitis que aparecen por primera vez, y en las recurrentes, más cultivos polimicrobianos por *Enterococcus* spp. y por gramnegativos diferentes a *Pseudomonas* spp. y *E. coli*.

5.3 CUADRO CLÍNICO

5.3.1 Infecciones relacionadas con el catéter. La infección del orificio de salida se manifiesta por secreción de pus que en ocasiones se asocia con un eritema del tejido que circunda al catéter, dolor y granuloma. Generalmente se acompaña de la infección del túnel. Puede ser aguda, si dura menos de cuatro semanas, o crónica en caso contrario.

La infección del túnel puede presentarse como eritema, edema o sensibilidad al tacto del trayecto subcutáneo pero inicialmente puede ser asintomática y requerir para su diagnóstico la ayuda de la ecografía con la que se visualiza el absceso. En general precede y se acompaña de la infección del orificio de salida pero no siempre.

5.3.2 Peritonitis. La peritonitis se manifiesta por turbidez del líquido efluente, dolor abdominal generalizado y/o fiebre. Un recuento de leucocitos superior a 100/mL con más del 50% de PMN indica inflamación y la peritonitis es su causa más frecuente.

5.4 DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO

5.4.1 Recogida de la muestra

5.4.1.1 Infecciones relacionadas con el catéter. En las infecciones del sitio de salida o del túnel que presenten supuración la muestra se toma con torunda, que se introduce preferentemente, en un medio de transporte para anaerobios.

Los catéteres sólo se estudian cuando tienen que ser retirados por infecciones, por peritonitis u otras causas. El procedimiento es quirúrgico con anestesia local. Se envía el extremo terminal desde el manguito externo que se introduce en un contenedor estéril de boca ancha. Es una muestra microbiológicamente aceptable.

5.4.1.2 Peritonitis. La muestra para el diagnóstico es el líquido efluente recogido antes de iniciar la terapia antimicrobiana empírica. Se puede enviar para su procesamiento la bolsa de diálisis o la muestra inoculada en frascos de hemocultivo y/o en envases estériles sin conservantes.

En las peritonitis de la DP el número de bacterias es bajo en relación al volumen del efluente por eso es necesario el uso de métodos que detecten pocas

bacterias (hemocultivos) o que partiendo de muestras cuantiosas las concentre (centrifugación).

Si se remite la bolsa de diálisis, debe ser la más turbia. Se introduce en una bolsa de plástico y posteriormente se coloca en un contenedor a prueba de derrames para su transporte.

La técnica estándar para establecer el diagnóstico y el control de tratamiento, es enviar la muestra inoculada en frascos de hemocultivo (10 mL en cada frasco). Este método proporciona un 20% de resultados negativos. Si el paciente está tomando antibióticos se pueden utilizar frascos con resinas neutralizantes.

Otra posibilidad es recoger la muestra en un envase estéril (50 mL) que se debe enviar junto a frascos de hemocultivo. Esta opción es la recomendada por la *International Society for Peritoneal Dialysis*, que estima que con este método el número de cultivos negativos baja del 5%.

5.4.2 Transporte y conservación de la muestra.

Las torundas se transportan a temperatura ambiente y el catéter se conserva refrigerado hasta su procesamiento. La bolsa y el envase estéril con el líquido efluente se mantienen a temperatura ambiente y deben ser enviadas al laboratorio en menos de seis horas (preferiblemente en una hora). La conservación de las botellas de hemocultivo debe realizarse según las directrices del fabricante.

5.4.3 Procesamiento de la muestra. Las torundas se siembran directamente en las placas y se realizan extensiones para la tinción de Gram. El catéter se deposita en un caldo de enriquecimiento y posteriormente se siembra en los medios de cultivo.

Los frascos de hemocultivo se manejan de la misma forma que si se tratara de sangre. Se introducen en el correspondiente incubador de control automático de crecimiento según la información técnica suministrada por el fabricante.

Si se envía la bolsa completa al laboratorio (la más turbia) se procede en primer lugar a homogenizar su contenido invirtiéndola de 10 a 20 veces. Después se desinfecta el lugar de la bolsa destinado a la administración de fármacos con povidona yodada dejando secar y se extraen 50 mL de líquido que se centrifuga a 3000xg durante 15 minutos. Del sedimento se hacen extensiones para la tinción/es y después se resuspende en 3-5 ml de solución salina estéril, que se siembra en los medios de cultivo, y el resto se inocula en frascos de hemocultivo. Para este procedimiento se requiere una centrifuga de alta capacidad.

Si sólo se envía el envase estéril (50 mL), se centrifuga y el sedimento se procesa según lo indicado anteriormente.

Si no se envía la bolsa de diálisis al laboratorio es preferible inocular los hemocultivos en el lugar de la recogida para evitar manipulaciones posteriores que aumentan el riesgo de contaminación. Algunos estudios dan mejores resultados para el procedimiento en hemocultivos que para el de centrifugación.

Ante una peritonitis cuya etiología se sospecha que es infecciosa pero que los cultivos son negativos, a los 3 días se debe repetir la petición microbiológica si el recuento de células indica infección. En un 35% de los casos se obtiene un cultivo positivo en el segundo estudio. Incluso se contactará con el laboratorio para la búsqueda de patógenos de crecimiento lento, difícil o que requieran condiciones especiales como levaduras lípido-dependientes, micobacterias, *Legionella* spp., *Campylobacter* spp., *Ureaplasma* spp., *Mycoplasma* spp., o incluso virus como enterovirus.

Para la investigación de micobacterias puede ser necesaria una biopsia intestinal.

5.4.4 Lectura e identificación

5.4.4.1 Tinción de Gram. En los exudados se valorará la presencia de microorganismos y leucocitos polimorfonucleares. En el líquido efluente cualquier microorganismo observado debe ser considerado e informado para orientar el tratamiento empírico.

5.4.4.2 Cultivos. Se deben examinar diariamente las placas. A las 24 horas las incubadas en aerobiosis y atmósfera de CO₂ y a las 48 horas las incubadas en anaerobiosis.

La mayoría de los cultivos son positivos a las 24 horas. Es necesario en lo posible identificar los microorganismos aislados a nivel de especie para poder diferenciar entre una peritonitis recurrente y una recidivante. Esto tiene un interés particular en las especies en las que la identificación bioquímica puede ser insuficiente como en los estafilococos coagulasa negativa. En este caso la identificación genómica o por MADI-TOF MS es de utilidad. Para las bacterias habituales los resultados de la identificación y antibiograma se pueden dar en 48 horas. Si se dispone de MALDI-TOF MS se puede ofrecer el resultado de la identificación en 24 horas. En más del 75% de los casos el diagnóstico se establece en menos de 3 días.

En relación a los anaerobios aislados se deben identificar a nivel de especie sólo los microorganismos predominantes o aquellos que se consideren especialmente virulentos o resistentes. No es preciso realizar estudio de sensibilidad de éstos últimos.

Los frascos de hemocultivos en los que no se detecta crecimiento deben ser subcultivados a los 3-5 días, si existe una sospecha clínica fundada de infección, en medios sólidos en placa que se incubarán durante 3-4 días en aerobiosis, microaerofilia y anaerobiosis. A los siete días se descartan los negativos.

5.4.5 Interpretación de resultados

5.4.5.1 Infecciones relacionadas con el catéter. Los cultivos positivos en ausencia de inflamación (signos de infección) en el orificio de salida indican una colonización más que una infección. La administración de antibióticos o uso de sustancias antisépticas pueden dar lugar a cultivos negativos. El resultado puede ser equivoco si se ha realizado una cauterización del granuloma. En un porcentaje

elevado de casos se aíslan bacterias que constituyen parte de la microbiota cutánea normal de la zona de inserción del catéter.

5.4.5.2 Peritonitis. La tinción de Gram suele ser negativa, pero en caso contrario orienta la etiología bacteriana. Ésta y otras tinciones son útiles para la detección de hongos precozmente. En todo caso se observará una numerosa celularidad particularmente de leucocitos PMN.

Cuando el número de cultivos negativos supera el 20% es necesario revisar los métodos y mejorarlos.

Si en el orificio de salida se recupera el mismo microorganismo que en el efluente (con la excepción de los estafilococos coagulasa negativa) presupone que el origen de la peritonitis se encuentra en el catéter, es necesario buscar una infección del túnel que puede ser no manifiesta.

En el método de enriquecimiento por centrifugación hay que considerar cualquier tipo de crecimiento que aparezca en el área de siembra.

El microorganismo aislado orienta sobre el posible origen de la peritonitis. La recuperación de estafilococos coagulasa negativa y enterococos orienta a una contaminación intraluminal. *S. aureus*, *P. aeruginosa* y con menor frecuencia otras especies de estafilococos y enterococos orientan a una infección alrededor del catéter. El aislamiento de bacterias intestinales como, enterococos, estreptococos y anaerobios sugiere patología intraabdominal.

5.4.6 Otros procedimientos. El método de lisis-centrifugación es más lento que el de la siembra en hemocultivos y da menos positividad en la tinción de Gram para bacterias grampositivas.

El uso de una PCR ha demostrado su utilidad en el diagnóstico de la etiología de la peritonitis relacionada con la DP pero en sus recomendaciones, la *International Society for Peritoneal Dialysis* demanda más estudios que confirmen los resultados obtenidos.

Una PCR de amplio espectro (ARNr 23S) ha demostrado su utilidad como complemento al cultivo en el diagnóstico de las peritonitis particularmente en pacientes con terapia antimicrobiana previa o concurrente. Igualmente ha demostrado su utilidad una PCR cuantitativa (ARNr 16S), que muestra buena correlación con los cultivos y que puede estar indicada en los líquidos en los que no hay crecimiento y en los procedentes de pacientes que recaen a pesar del tratamiento.

La implicación de *Ureaplasma urealyticum* ha sido puesta de manifiesto con una PCR (ARNr 16S). Este estudio permite sugerir su uso cuando se sospechen microorganismos de crecimiento lento.

También se ha empleado la hibridación *in-situ* para el diagnóstico de la etiología de la peritonitis relacionada con la DP.

5.4.7 Información de resultados. Si el cultivo es positivo, el informe de resultados incluirá todos los microorganismos aislados y si procede, su sensibilidad a los antimicrobianos.

Si el resultado del cultivo es negativo, se emitirá un informe en el que conste "No se aíslan microorganismos" o "Cultivo negativo".

Cualquier información sobre los cultivos que pueda tener significado clínico y pueda reconducir la actitud terapéutica, debe ser informada con la mayor rapidez posible al clínico responsable del paciente mediante informes provisionales escritos o telefónicos.

6. ABSCESOS DE VÍSCERAS INTRAABDOMINALES

6.1 INTRODUCCIÓN Y TIPOS

Los abscesos viscerales incluyen el hepático, pancreático, esplénico y suprarrenal. Los renales y tuboováricos aún siendo abdominales, no son objeto de éste procedimiento.

6.2 ABSCESO HEPÁTICO

6.2.1 Introducción. El absceso hepático constituye el 48% de todos los abscesos viscerales e incluye dos categorías: amebiano y piógeno. El amebiano, producido por *Entamoeba histolytica*, ha sido revisado en el Procedimiento en Microbiología Clínica de la SEIMC nº 35 (2ª edición): "El laboratorio de microbiología ante las enfermedades importadas" y dentro de la etiología parasitaria en nuestro medio incluiríamos también el absceso hidatídico. El absceso hepático piógeno, no representa una entidad específica, sino que es el resultado de un número de procesos patológicos que causan una infección bacteriana supurativa en el parénquima hepático.

En la actualidad se observa con mayor frecuencia entre la quinta y sexta décadas con una media de edad de 64 años, posiblemente en relación con el descenso de las apendicitis perforadas como factor etiopatogénico y a la mayor incidencia de neoplasias y enfermedades biliares complejas, que parecen ser la causa más frecuente de los abscesos hepáticos actualmente. Es una enfermedad grave con una tasa de mortalidad entre el 6-14% que puede elevarse hasta el 28% en pacientes ingresados en UCI. Aproximadamente la mitad de los pacientes tienen abscesos únicos.

6.2.2 Etiopatogenia. Desde el punto de vista etiopatogénico, los microorganismos pueden acceder al tejido hepático a través de la vía biliar (obstrucción por litiasis o tumor), del sistema porta (infecciones de órganos que drenan en la vena porta: apendicitis, diverticulitis, pancreatitis, colitis ulcerosa y pyleflebitis), vía hemática (bacteriemias por tromboflebitis periféricas supuradas, sobre todo en usuarios de drogas parenterales, endocarditis, infecciones pulmonares, urinarias y osteoarticulares), extensión directa de un foco contiguo (colecistitis aguda, empiema vesicular, abscesos subfrénicos u otros abscesos abdominales contiguos y úlceras perforadas), traumatismo (infección posterior a un inadecuado tratamiento quirúrgico de un traumatismo hepático), o postcirugía hepática, trasplante hepático, o biopsia hepática. En una proporción

variable de pacientes, la etiopatogenia es desconocida (abscesos criptogenéticos).

La etiología varía según el origen de la infección: si proviene de las vías biliares suelen hallarse bacilos gramnegativos aerobios y facultativos intestinales (*E. coli* y *Klebsiella* spp.) y *Enterococcus* spp.. En los que se originan en la pelvis u otras partes de la cavidad abdominal es frecuente la microbiota mixta constituida por facultativos y anaerobios donde es frecuente recuperar *B. fragilis*. Si la diseminación hematógena es el foco de la infección suele ser monomicrobina y predomina *S. aureus* o *Streptococcus milleri* y si los abscesos siguen a una fungemia, *Candida* spp. es el agente causal.

Existen variaciones etiológicas en relación con las zonas geográficas. En el sureste asiático los abscesos hepáticos piógenos están causados principalmente por *K. pneumoniae* y están típicamente asociados con la diabetes o con etiología criptogenética. Este hecho contrasta con el predominio de *E. coli* como el agente causal más frecuente y la etiología biliar visto en países occidentales. Un estudio reciente en nuestro país muestra un resultado similar con *Streptococcus* spp. y *E. coli* como microorganismos más frecuentes, pero con un alto número de casos originados por *Klebsiella* spp..

Merecen especial atención los abscesos hepáticos causados por *K. pneumoniae* considerados una enfermedad infecciosa emergente global, y aunque predominan fundamentalmente en el sudeste asiático están apareciendo nuevos casos en Estados Unidos y en Europa. Presentan características diferentes al resto de los abscesos hepáticos y raramente están asociados con infección intraabdominal. Su prevalencia es elevada en pacientes diabéticos, aunque también aparecen en adultos jóvenes y en alcohólicos. Existen cepas invasivas de *K. pneumoniae* en las que se ha localizado el gen de virulencia *MagA* redenidoado *Wzy* (KpK1). Estas cepas tienen una alta propensión a metastatizar y los abscesos hepáticos se han asociado a endoftalmítis, meningitis, abscesos cerebrales y embolismos pulmonares sépticos. Estudios seroepidemiológicos sugieren que este serotipo K1 es infrecuente en Estados Unidos, Europa y Australia, pero es el más común en Taiwan.

En pacientes con enfermedades de larga evolución se puede aislar *P. aeruginosa* y *Salmonella* spp. en casos de infecciones hematógenas o de la vía biliar.

En las series actuales, la frecuencia de aislamiento de microorganismos anaerobios oscila entre el 24 y el 67% y los más identificados son *B. fragilis*, *Fusobacterium* spp. y *Clostridium* spp..

El papel de los estreptococos en la etiología de los abscesos hepáticos ha adquirido especial relevancia. Destacan *Enterococcus* spp. y sobre todo, el grupo *S. milleri*, que llega en algunas series a ser el primer agente etiológico sobre todo en los abscesos de origen portal.

El 26-64% de los abscesos hepáticos son polimicrobianos, en especial los abscesos únicos y

también los causados por *K. pneumoniae*. Los abscesos originados por *S. milleri* tienen una mayor tendencia a ser monomicrobianos.

La parasitación biliar por *Ascaris lumbricoides* produce abscesos hepáticos en países con alto índice de parasitación.

6.2.3 Cuadro clínico. La presentación clínica es a menudo inespecífica y su diagnóstico requiere un alto grado de sospecha clínica. La fiebre es el signo inicial más frecuente (fiebre de origen desconocido en ancianos) y sólo un 50% presenta hepatomegalia, ictericia o hipersensibilidad en el hipocondrio derecho. El único dato complementario válido es la elevación sérica de la fosfatasa alcalina que se observa en el 70% de los pacientes. Las técnicas de imagen (ecografía, TAC, gammagrafía con leucocitos marcados con indio o con galio e incluso la resonancia magnética) constituyen los métodos más fidedignos para diagnosticar los abscesos hepáticos.

6.2.4 Diagnóstico microbiológico. Las muestras se recogen por aspiración percutánea guiada por imagen (ecografía o TAC), si el absceso está bien localizado, o por abordaje quirúrgico. El material recogido se trasfiere directamente a un vial de transporte de anaerobios. Deberá enviarse si es posible, un volumen de muestra de entre 1 y 5 mL. La muestra también puede inocularse directamente en botellas de hemocultivo aerobio y anaerobio en cuyo caso hay que enviar un tubo estéril sin conservantes con 0,5-1mL para realizar la tinción de Gram. En el caso de muestras escasas se podrán enviar en la propia jeringa, con el aire extraído, sin aguja y convenientemente tapada con un capuchón estéril.

La positividad de los hemocultivos en los pacientes con absceso hepático oscila entre el 38-69% (siendo mayor la recuperación de bacilos gramnegativos que la de cocos grampositivos), mientras que los cultivos del absceso dan una rentabilidad mayor, entre el 67-90%. Exceptuando los casos en los que el absceso hepático está producido por *K. pneumoniae*, que tiene mucha capacidad de diseminar y su recuperación en el hemocultivo es alta, los agentes etiológicos de los abscesos hepáticos, sólo valorando los hemocultivos, no están bien representados.

El transporte y procesamiento de la muestra y la interpretación de los cultivos es similar al descrito en el apartado: "Proceso microbiológico general de las infecciones intraabdominales" descrito en este procedimiento.

6.3 ABSCESO PANCREÁTICO Y NECROSIS PANCREÁTICA INFECTADA

6.3.1 Introducción. La necrosis pancreática infectada y los abscesos pancreáticos son complicaciones infecciosas de la pancreatitis aguda, precoces y tardías respectivamente. La primera suele surgir entre la primera y la segunda semana del comienzo del proceso y la segunda a las 4 semanas. Producen una elevada mortalidad especialmente la necrosis infectada (20-50%).

Afectan tanto al páncreas como a los tejidos peripancreáticos.

La necrosis pancreática infectada es una afectación difusa sin contenido purulento y el absceso pancreático una colección purulenta localizada por una envoltura fibrótica que puede ser única o múltiple.

6.3.2 Etiopatogenia. Ambos cuadros pueden estar producidos por bacterias y hongos. Los microorganismos llegan al páncreas principalmente por translocación bacteriana de origen digestivo, aunque son posibles otras vías.

La necrosis pancreática infectada se produce cuando una pancreatitis aguda necrosante se contamina por microorganismos.

El absceso pancreático es consecuencia de la formación de una pared fibrosa alrededor de un contenido líquido en una pancreatitis o de la infección secundaria de un pseudoquiste pancreático, una complicación no infecciosa de la pancreatitis. Los abscesos son más frecuentes en las pancreatitis postquirúrgicas que en las de origen biliar o alcohólico.

Las infecciones pancreáticas habitualmente implican a la microbiota gastrointestinal incluyendo bacterias aerobias y facultativas gramnegativas (*E. coli*, *K. pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *P. aeruginosa*), grampositivas (*E. faecalis*, *S. aureus*, *Streptococcus* spp.) y anaerobios (*Bacteroides* spp., cocos grampositivos) y hongos. En ocasiones se aíslan microorganismos de otros orígenes, incluso *M. tuberculosis*. Las infecciones pueden ser tanto monomicrobianas, más en las necrosis infectadas, como polimicrobianas, más en los abscesos.

6.3.3 Cuadro clínico. Suele existir dolor abdominal (60-90%), fiebre (75-80%) y leucocitosis (60-80%), la necrosis pancreática infectada se manifiesta precozmente y los abscesos alrededor de las cuatro semanas. En la necrosis pancreática infectada suele haber manifestaciones de una sepsis grave y de fallo multiorgánico (insuficiencia respiratoria, fallo renal, shock). La tomografía computarizada es la prueba de imagen de referencia en el diagnóstico.

6.3.4 Diagnóstico microbiológico. Las muestras útiles son el material procedente del páncreas, tejido necrótico o pus, y la sangre (los hemocultivos pueden ser positivos). El material pancreático se recoge por punción transcutánea con aguja fina guiada por imagen o por cirugía. Una vez recogidas las muestras el procedimiento a seguir es el común a otras infecciones intraabdominales.

El estudio microbiológico es diagnóstico en la necrosis pancreática al diferenciar la necrosis estéril de la infectada que es de peor pronóstico.

La tinción de Gram es esencial dada la gravedad de estos cuadros, pues permite establecer un tratamiento dirigido precoz en relación con los morfotipos observados y con la presencia o no de hongos.

6.4 ABSCESO ESPLÉNICO

6.4.1 Introducción. Aunque son infrecuentes, su incidencia (0,14-0,7%) está en aumento gracias a las técnicas diagnósticas de imagen. Se ha comunicado una mortalidad global del 18%, del 25% en los casos en los que está implicado *M. tuberculosis* y del 14% para otras etiologías. Producen un cuadro inespecífico responsable de la demora diagnóstica. Su principal factor predisponente es la inmunodepresión. Pueden ser múltiples y extenderse a la vecindad.

6.4.2 Etiopatogenia. Los abscesos esplénicos suelen ser secundarios a bacteriemias de otros procesos infecciosos. Ocasionalmente son el resultado de la extensión de un foco contiguo de infección.

La etiología está condicionada por la localización geográfica y por las condiciones clínicas subyacentes. Así en España y en pacientes VIH positivos el agente más frecuente es *M. tuberculosis* (36%) al que le sigue *Candida* spp. (13%) que aparece también en otros estados de inmunodepresión.

Los microorganismos tradicionalmente aislados con mayor frecuencia son *Streptococcus* spp., y *S. aureus*, incluidos los resistentes a meticilina, entre los grampositivos, y *Salmonella* spp. y *E. coli* entre los facultativos gramnegativos, que a menudo proceden de focos infecciosos situados en las vías urinarias, vinculados a bacteriemias o a otros puntos de la cavidad abdominal. Las especies de *Salmonella* son frecuentes sobre todo en pacientes con hemoglobinopatía drepanocítica.

Algunas series recientes describen como agentes etiológicos a hongos, fundamentalmente *Candida* spp., *Aspergillus* spp. y los agentes de la mucormicosis, en relación posiblemente, con el aumento de pacientes inmunodeprimidos. También está dejando de ser excepcional la implicación de las micobacterias. Los anaerobios se recuperan muy poco de los abscesos esplénicos en comparación con otros abscesos intraabdominales a pesar de la mejora en las técnicas de cultivo y aparecen con escasa frecuencia.

En los pacientes infectados por el VIH, *Salmonella* spp. y *M. tuberculosis* son causas frecuentes, también se aíslan patógenos oportunistas como *Mycobacterium avium* complex, *Leishmania* spp., *Rhodococcus equi* y *Pneumocystis jirovecii*. Muchos otros microorganismos se han descrito como agentes causales de abscesos esplénicos a nivel de casos, incluyendo *Bartonella henselae*, *Streptobacillus moniliformis* y *Nocardia* spp.. En series de Tailandia *Burkholderia pseudomallei* también se considera entre los agentes etiológicos.

6.4.3 Cuadro clínico. La fiebre está presente en la práctica totalidad de los casos y la mayoría de las veces es la única manifestación. El dolor abdominal sólo en el 50% de los pacientes, que pueden presentar escalofríos (41%) y síntomas constitucionales (36%). Puede existir esplenomegalia (23%) y especialmente hepatomegalia (36%). Los

hallazgos de imagen realizan el diagnóstico en la mayoría de los pacientes, es de referencia la tomografía computarizada, pero se puede utilizar la ecografía y la resonancia magnética. La precocidad en el diagnóstico es esencial en el pronóstico.

6.4.4 Diagnóstico microbiológico. Se realiza con muestras recogidas del propio absceso, de infecciones concomitantes que se consideran su origen y de sangre. Las del absceso se recogen por punción percutánea o cirugía (drenaje o esplenectomía). En los hemocultivos se han comunicado positividad del 32% al 72%.

El proceso microbiológico es el general de las infecciones intraabdominales. El clínico debe informar al laboratorio cuando sospeche que el agente etiológico es *M. tuberculosis*.

6.5 ABSCESOS SUPRARRENALES

6.5.1 Introducción. Son muy infrecuentes, en los neonatos se comunican más que en adultos. Los bilaterales son aún más raros. Se asocian a factores predisponentes, especialmente en tratamiento con inmunodepresores (infiximab), cirugía, e infección por el VIH.

6.5.2 Etiopatogenia. Los microorganismos suelen llegar a la glándula suprarrenal por vía hematógena y asentar sobre glándulas normales o hemorrágicas, una de las causas favorecedoras en neonatos. Se han descrito casos por extensión de procesos en la vecindad (apendicitis, corioamnionitis) así como extensión del absceso a estructuras vecinas. Su etiología es muy variada, se han comunicado casos por *E. coli*, *S. aureus*, *Streptococcus* spp., *Streptococcus agalactiae*, *S. pneumoniae*, *Nocardia* spp., *Salmonella* spp., *B. pseudomallei* e *Histoplasma capsulatum*, entre otros.

6.5.3 Cuadro clínico. Se manifiesta por fiebre, escalofríos y dolor abdominal. Los hallazgos de imagen realizan el diagnóstico en la mayoría de los pacientes, particularmente la tomografía computarizada.

6.5.4 Diagnóstico microbiológico. Se realiza con muestras recogidas del propio absceso por punción percutánea o cirugía (drenaje o adrenalectomía). Los hemocultivos pueden ser positivos.

El proceso microbiológico es el general de las infecciones intraabdominales y puede ayudar a excluir otras patologías suprarrenales

7. INFECCIÓN DE LAS VÍAS BILIARES

7.1 INTRODUCCIÓN Y CLASIFICACIÓN

Las infecciones del tracto biliar se producen en la mayoría de los casos por la obstrucción de la vía biliar por colelitiasis o estenosis benignas. Según su localización anatómica se pueden distinguir dos entidades clínicas: las colecistitis, procesos relacionados con la inflamación de la vesícula biliar y las colangitis que son aquellos procesos que afectan a las vías biliares.

La **colecistitis aguda** es la inflamación de la vesícula biliar causada en más del 90% de los casos por la obstrucción del conducto cístico por cálculos

biliares. De los pacientes con colelitiasis, más del 80% permanecen asintomáticos, y sólo entre 1-3% presentará una colecistitis aguda.

La **colangitis aguda** es la inflamación de las vías biliares secundaria a una infección bacteriana. En la colangitis aguda la coledocolitiasis es la causa principal de la obstrucción de la vía biliar, aunque existen otras causas menos frecuentes como: estenosis benignas o malignas, compresiones extrínsecas (pancreatitis aguda y crónica, pseudoquistes pancreáticos, divertículos duodenales) o parasitosis de la vía biliar. Otra causa es la manipulación de la vía biliar de forma percutánea o endoscópica.

7.2 ETIOPATOGENIA

La bilis humana es estéril pero en determinadas circunstancias se puede colonizar con la microbiota intestinal, aunque se ha demostrado que la presencia de bacterias en la bilis, no es suficiente para causar infección.

En la colecistitis aguda, la obstrucción del conducto cístico impide la salida normal de la bilis, provoca un aumento de la presión intraluminal y genera una reacción inflamatoria aguda. En la mayoría de las colecistitis, el proceso inflamatorio no se acompaña de infección ya que se mantiene parte del flujo y con él la esterilidad del líquido biliar. No obstante, si la obstrucción continúa se favorece la infección bacteriana secundaria y el proceso puede producir necrosis, gangrena y perforación.

En la colangitis aguda tras la obstrucción de la vía biliar las bacterias pueden acceder por vía ascendente desde el duodeno al árbol biliar. Otras vías de acceso menos frecuentes son a través de la vena porta y la vía linfática. También, cualquier alteración instrumental de la barrera esfinteriana (esfinterotomía endoscópica, cirugía del colédoco, prótesis biliar) facilita el paso de bacterias al sistema biliar. El aumento de la presión intraluminal permite la translocación de bacterias al torrente sanguíneo causando frecuentemente bacteriemia.

Las infecciones de las vías biliares se producen por una microbiota mixta polimicrobiana con predominio de los gramnegativos y los anaerobios. Los microorganismos más frecuentemente aislados en el líquido biliar son enterobacterias de la microbiota intestinal normal como *E. coli*, *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp. y *Proteus* spp.. En pacientes portadores de prótesis biliar, con manipulación reciente de la vía biliar o con antibioterapia previa se han aislado microorganismos más resistentes como *P. aeruginosa* o *Enterobacter* spp. hiperproductor de betalactamasa AmpC. También se pueden aislar especies de *Salmonella*, y en particular *Salmonella enterica* serovar Typhi, en portadores crónicos.

Los anaerobios ocupan también un lugar destacado en la etiología de las infecciones biliares si se realiza una correcta recogida, transporte y procesamiento de las muestras. Estas condiciones permiten la detección de anaerobios hasta en el 40% de los pacientes con colecistitis aguda, en el 50%

con colangitis aguda y en el 72% con colecistitis gangrenosa. En general el aislamiento de bacterias anaerobias se asocia a cuadros clínicos más graves, a pacientes con cirugía biliar previa o en el contexto de complicaciones infecciosas. Las bacterias anaerobias que se recuperan con más frecuencia son *Bacteroides* spp., *Fusobacterium* spp. y *Clostridium* spp.. La colecistitis enfisematosa está causada por microorganismos productores de gas como *C. perfringens* y *E. coli*.

Con menor frecuencia, y casi siempre en infecciones polimicrobianas, aparecen los grampositivos como *Streptococcus* spp. y *Enterococcus* spp.. Este último se aísla principalmente en pacientes con manipulación de la vía biliar o con prótesis biliares.

La infección fúngica de la vía biliar es poco frecuente y está producida por *Candida* spp.. Se presenta en pacientes inmunodeprimidos, en los que han recibido tratamiento antibiótico previo, pacientes con neoplasias malignas, o en pacientes sometidos a cirugía biliar o con manipulación instrumental de repetición.

Algunos parásitos pueden colonizar las vías biliares favoreciendo la infección bacteriana. Entre los nematodos destacan: *Clonorchis sinensis*, *Opisthorchis* spp., endémicos de algunas regiones de Asia, y *Fasciola hepatica*, *Ascaris lumbricoides* y *Strongyloides* spp. que se pueden encontrar en nuestro medio. Los cestodos que pueden producir obstrucción son: *Echinococcus granulosus* y *Echinococcus multilocularis*.

En los pacientes infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), se presentan algunas colangiopatías infecciosas causadas por patógenos oportunistas. El más frecuentemente implicado es *Cryptosporidium* spp.. Otros patógenos identificados en esta colangiopatía son: Citomegalovirus, *Microsporidium* spp., *Mycobacterium avium* complex y *Cyclospora cayetanensis*.

7.3 CUADRO CLÍNICO

La colecistitis aguda se presenta clínicamente como cólico biliar con dolor severo localizado en hipocondrio derecho que persiste durante más de seis horas y que puede irradiar a la región infraescapular, acompañado de fiebre, leucocitosis con desviación izquierda y signo de Murphy positivo. Es primariamente un proceso inflamatorio, pero que deviene en infección secundaria a consecuencia de la colestasis. Una vez que se ha producido la infección entre el 20% y el 30% de los pacientes presentarán complicaciones como empiema vesicular, colecistitis gangrenosa, perforación y colangitis. El empiema vesicular es la formación de un absceso en la vesícula biliar. La colecistitis gangrenosa es la complicación más frecuente de la colecistitis aguda y representa hasta el 30% de los pacientes con colecistitis aguda. Es un proceso local inflamatorio con formación de un plastrón que evoluciona a gangrena y sepsis. Se presenta en

alrededor del 10% de pacientes con colecistitis aguda. Si la perforación es abierta a la cavidad peritoneal se produce una peritonitis generalizada. Sin embargo, lo más frecuente es que se produzca una perforación localizada con formación de un absceso perivesicular. La colecistitis enfisematosa es una variante de la colecistitis aguda que se caracteriza por la presencia de gas en la vesícula.

El diagnóstico clínico se completa con técnicas de imagen siendo la ecografía el método de elección. En caso de que la ecografía presente dudas se puede realizar una gammagrafía hepatobiliar que tiene mayor sensibilidad y especificidad.

La colangitis aguda se presenta clínicamente con fiebre, dolor en el hipocondrio derecho e ictericia (triada de Charcot). Aproximadamente entre el 3-14% de los casos con triada de Charcot presentan también hipotensión y alteración del nivel conciencia en lo que se ha denominado péntada de Reynolds. Una forma clínica poco frecuente en nuestro medio es la colangitis piógena recurrente. Es endémica del sudeste asiático y se presenta como episodios de obstrucción biliar, dolor abdominal y bacteriemia por gramnegativos en pacientes infectados crónicamente por parásitos biliares como *Clonorchis* spp. y *Opisthorchis* spp..

Las técnicas de imagen y endoscópicas tienen un papel esencial en el diagnóstico de la colangitis. La ecografía es la primera prueba que se realiza para demostrar la obstrucción, dilatación y estenosis de la vía biliar. Puede presentar falsos negativos en casos muy precoces o con cálculos muy pequeños. En estos casos se puede utilizar la CPRE que permite confirmar el diagnóstico, el drenaje de la vía mediante la extracción de los cálculos o la colocación de endoprótesis. En los pacientes de riesgo en los que esté contraindicada una CPRE se puede utilizar la pancreatografía por resonancia magnética.

7.4 DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO

El proceso a seguir es el descrito en el apartado: "Proceso microbiológico general de las infecciones intraabdominales" de este procedimiento. A continuación sólo se comentan aspectos particulares del proceso.

En el diagnóstico microbiológico de estas infecciones se parte de muestras de origen biliar (bilis, tejidos o biopsias de la vesícula o de las vías biliares y materiales protésicos) y de sangre. En las parasitosis, de heces donde se encuentran los huevos de los helmintos que pueden vivir en vías biliares o larvas en caso de *Strongyloides stercoralis*.

La obtención de las muestras se realiza por procedimientos quirúrgicos y endoscópicos. En una colecistitis con colecistectomía las muestras se obtienen durante la cirugía abierta o por vía laparoscópica. En los pacientes que por su enfermedad de base tienen un elevado riesgo quirúrgico se puede realizar una colecistostomía percutánea. En las colangitis agudas las muestras se

pueden obtener durante el drenaje de la vía biliar bien por vía endoscópica o quirúrgica.

En el análisis microscópico de las muestras de origen biliar, la observación de microorganismos en la tinción de Gram, permite dar un diagnóstico presuntivo rápido de la etiología bacteriana y orientar el tratamiento empírico. Es también un control de calidad del transporte y procesamiento de la muestra al correlacionar lo que se aísla en el cultivo con los morfotipos observados en la tinción. La sensibilidad de la tinción de Gram en las muestras biliares es cercana al 80%.

Las muestras se siembran en medios en placas para aerobios, facultativos, anaerobios, hongos y en caldos de enriquecimiento. La bilis también se puede inocular en botellas de hemocultivos.

Los cultivos de bilis de poco menos de la mitad de los pacientes con colecistitis aguda son positivos mientras que en las colangitis agudas el cultivo de la bilis, las biopsias o las prótesis biliares son positivos en alrededor del 90% de los casos. Los casos de cultivo de bilis negativo suelen estar relacionados con un tratamiento antibiótico previo, un transporte inadecuado de la muestra (especialmente en el caso de los microorganismos anaerobios) o con la recogida en fase temprana, sin tiempo suficiente para permitir la invasión bacteriana. El cultivo de la bilis obtenida en una colecistectomía por litiasis es positivo en el 10-20% de pacientes, mientras que la coledocolitiasis se asocia a colonización biliar en el 70% de los casos.

Además en todos los casos sospechosos de infección biliar deben obtenerse muestras de sangre para la realización de hemocultivos. En la colecistitis aguda la bacteriemia es poco frecuente excepto en los casos con complicaciones. Por el contrario entre el 20-80% de los pacientes con colangitis aguda tienen bacteriemia.

Si hay sospecha clínica de que la muestra procede de un paciente portador de *Salmonella* spp. a los medios señalados en el apartado de "Proceso microbiológico general de las infecciones intraabdominales" se debe añadir al menos una placa de un medio selectivo para aislamiento de *Salmonella* (agar *Salmonella-Shigella*, agar Hektoen o similar) y también un medio de enriquecimiento para *Salmonella* (caldo de selenito o similar). Todos los medios se incuban en aerobiosis a 37°C. Los medios sólidos deben examinarse a las 24 y 48 horas y el caldo de enriquecimiento se resiembró a las 24 horas en los medios sólidos mencionados anteriormente. La identificación bioquímica se complementará con la aglutinación con antisueros polivalentes.

8. APENDICITIS Y DIVERTICULITIS

8.1 INTRODUCCIÓN Y TIPOS

La apendicitis aguda es la inflamación e infección del apéndice por causa de la obstrucción de la luz apendicular. En general la obstrucción se produce por fecalitos pero hay otras causas menos frecuentes de obstrucción como la presencia de cuerpos

extraños, tumores, estenosis o parásitos. Según la localización y extensión del proceso se distinguen dos formas clínicas de apendicitis aguda: las apendicitis agudas complicadas y las no complicadas. En las formas no complicadas el proceso infeccioso está localizado, no hay interrupción anatómica y se limita a formas flemonosas. En las apendicitis agudas complicadas el proceso infeccioso rebasa la localización anatómica pudiendo producir un absceso, gangrena o peritonitis.

Los divertículos colónicos (o pseudodivertículos) son evaginaciones saculares de la pared colónica que se producen en sus zonas vascularizadas por herniación de la mucosa y la submucosa a través de la capa muscular circular. La diverticulitis resulta de la inflamación y perforación de uno o varios divertículos colónicos. Puede presentarse de forma localizada como un pequeño flemón cólico, en lo que se considera una forma no complicada, o bien, en las diverticulitis complicadas la inflamación se propaga al mesenterio causando desde abscesos de tamaño variable hasta peritonitis.

8.2 ETIOPATOGENIA

El principal mecanismo patogénico de la apendicitis aguda y de la diverticulitis aguda es la obstrucción de la luz apendicular o el cuello del divertículo por fecalitos. Esta obstrucción causa la acumulación de moco y el aumento de la presión intraluminal, lo que conlleva la compresión del drenaje linfático y vascular produciendo el daño isquémico de la mucosa seguido de la invasión microbiana. Si el proceso no se trata, la inflamación, el sobrecrecimiento bacteriano y la isquemia conducen a la perforación.

Los cultivos de las apendicitis agudas son polimicrobianos con una mezcla de bacterias del colon muy diversa con predominio de las bacterias anaeróbicas frente a las aeróbicas. Se pueden aislar una media de 10 microorganismos diferentes por muestra. Los más frecuentes son: *E. coli*, *B. fragilis*, *Bacteroides* spp., *Prevotella* spp., *Bilophila wadsworthia*, *Peptostreptococcus* spp., *Pseudomonas* spp., enterobacterias, estreptococos y enterococos. *Yersinia enterocolitica* y *Y. pseudotuberculosis* se han asociado con algunos casos de apendicitis aguda particularmente de apendicitis granulomatosa.

Al igual que la apendicitis aguda, la diverticulitis es una infección polimicrobiana causada por una gran variedad de bacterias endógenas aeróbicas y anaeróbicas. Los microorganismos más comúnmente aislados incluyen *Bacteroides* spp., *Peptostreptococcus* spp., enterobacterias, estreptococos y enterococos.

8.3 CUADRO CLÍNICO

Clínicamente la apendicitis aguda comienza como un dolor periumbilical o epigástrico de tipo visceral, que después migra a la fosa ilíaca derecha. El dolor viene a menudo acompañado por fiebre leve,

anorexia, náuseas y vómitos. El diagnóstico es fundamentalmente clínico y se basa en una historia clínica detallada y en la exploración física.

Si la presentación clínica es ambigua la laparoscopia y las técnicas de imagen (ecografía y TAC) confirman el diagnóstico.

La diverticulitis aguda se presenta clínicamente con dolor abdominal hipogástrico con predominio en fosa ilíaca izquierda, fiebre, distensión abdominal, náuseas y vómitos. Según la magnitud del proceso la presentación clínica puede variar desde un pequeño absceso hasta un cuadro séptico severo secundario a una peritonitis fecaloidea. Aunque el diagnóstico de la diverticulitis aguda es básicamente clínico en ocasiones precisa técnicas de imagen para su confirmación siendo la TAC el procedimiento de elección.

8.4 DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO

El proceso a seguir es el descrito en el apartado "Proceso microbiológico general de las infecciones intraabdominales" de este procedimiento. A continuación sólo se comentan aspectos particulares del proceso.

En el diagnóstico microbiológico de estas infecciones se parte de muestras de líquido peritoneal, abscesos y tejidos apendiculares.

La obtención de las muestras para el diagnóstico de la apendicitis aguda se realiza en el acto quirúrgico bien sea por cirugía abierta o por vía laparoscópica. Las muestras de tejido apendicular se deben tomar cortando tangencialmente una lámina del tejido necrótico evitando alcanzar la luz apendicular. En las diverticulitis agudas complicadas con abscesos además de la toma de la muestra durante el proceso quirúrgico se pueden obtener las muestras por punción percutánea guiada por ecografía o TAC.

La sensibilidad de la tinción de Gram en estas muestras es cercana al 100%.

En las apendicitis agudas la toma de muestras quirúrgicas para cultivo microbiológico viene realizándose desde los años cuarenta. El cultivo proporciona el diagnóstico etiológico definitivo y permite realizar las pruebas de sensibilidad a antimicrobianos. Esta práctica tradicional ha sido cuestionada en los últimos años en varios estudios que concluyen que es innecesaria porque la microbiota habitualmente aislada es predecible y sensible a las pautas de tratamiento empírico, los resultados de los cultivos microbiológicos se reciben a menudo cuando el paciente ya ha sido dado de alta y no tienen un efecto en el tratamiento antimicrobiano y, en estos casos, los cultivos microbiológicos tienen un coste añadido que no repercute en el manejo del paciente. Sin embargo, todos estos estudios carecen de la suficiente potencia estadística y del diseño adecuado para justificar dejar de realizar la toma de muestras apendiculares. Existen razones clínicas y microbiológicas que aconsejan realizar estos cultivos. El cultivo permite el seguimiento

epidemiológico de los microorganismos poco frecuentes pero responsables de infecciones graves. En las apendicitis complicadas, en las que tras el tratamiento inicial se produce un absceso en el que se seleccionan microorganismos resistentes, los cultivos microbiológicos permiten ajustar el tratamiento antimicrobiano. También, en determinados pacientes como los inmunocomprometidos, los infectados por el VIH o pacientes que han recibido múltiples tratamientos antimicrobianos, el procesamiento de estas muestras proporciona evidencia útil y fiable de los microorganismos implicados y de su perfil de sensibilidad, lo que reduce la posibilidad de que fracase el tratamiento antimicrobiano. Las diferencias geográficas en los patrones de resistencia aconsejan realizar cultivos periódicos en cada centro para adaptar los tratamientos empíricos generales a las particularidades de cada hospital. Por último, el coste de los cultivos microbiológicos es mucho menor que el de un retraso del alta hospitalaria y del tratamiento antimicrobiano asociado.

9. INFECCIONES RETROPERITONEALES

9.1 INTRODUCCIÓN Y TIPOS

Incluyen abscesos de algunas vísceras intraabdominales, los del espacio retroperitoneal y los que afectan al psoas. Los abscesos viscerales del páncreas y de las glándulas suprarrenales ya han sido descritos. Los renales han sido tratados en el procedimiento dedicado a la infección urinaria.

9.2 ABSCESOS DEL ESPACIO RETROPERITONEAL

9.2.1 Introducción. Son raros, producen una mortalidad elevada y sus manifestaciones son bastante inespecíficas. Según su localización pueden ser perirrenales o perinefríticos, pararrenales anteriores y pararrenales posteriores.

9.2.2 Etiopatogenia. Los abscesos perinefríticos suelen ser secundarios a infecciones urinarias ascendentes que desembocan en abscesos renales o pionefrosis que se perforan al espacio perirrenal. Favorecen su aparición la litiasis, las malformaciones, los traumatismos urinarios y la diabetes. Más raramente son consecuencia de cirugía de vías urinarias o diseminación hematógena. *E. coli* y otros uropatógenos gramnegativos como *Klebsiella* spp., *Proteus* spp. y *P. aeruginosa* son la etiología más frecuente. En los de origen hematógeno puede estar involucrado *S. aureus*.

Los abscesos pararrenales anteriores son secundarios a procesos digestivos que afectan a colon descendente, ascendente, apéndice, duodeno o páncreas y a veces primarios. Tienen una etiología mixta con *E. coli* como principal patógeno.

Los abscesos pararrenales posteriores pueden ser consecuencia de la extensión de abscesos perirrenales, pararrenales anteriores, infecciones del psoas o vertebrales, a veces son primarios. La etiología depende del origen. En los espinales puede estar implicado *M. tuberculosis*.

9.2.3 Cuadro clínico. Es inespecífico, suele existir fiebre, escalofríos, dolor abdominal o de costado y pérdida de peso. Puede haber síntomas derivados de la irritación del psoas y cuando el origen es renal manifestaciones de infección urinaria. La tomografía computarizada es esencial para el diagnóstico.

9.2.4 Diagnóstico microbiológico. Las muestras para el diagnóstico se toman por punción percutánea o cirugía. El procedimiento a seguir es el común a otras infecciones intraabdominales.

9.3 ABSCESOS DEL PSOAS

9.3.1 Introducción. Los abscesos de psoas son raros, de comienzo insidioso, clínica inespecífica y diagnóstico complicado. Pueden ser primarios, aún más infrecuentes, o secundarios.

9.3.2 Etiopatogenia. Los primarios son de origen hematógeno más frecuentes en los países en vías de desarrollo donde afecta sobre todo a jóvenes. En los países desarrollados aparece especialmente en inmunocomprometidos y usuarios de drogas parenterales. La bacteria más frecuentemente recuperada es *S. aureus* al que siguen a distancia estreptococos y *E. coli*.

Los secundarios son consecuencia de procesos o infecciones de las proximidades. Los más habituales son los de origen digestivo, especialmente la enfermedad de Crohn. Otras causas son las infecciones urinarias, osteomielitis vertebrales, discitis y sacroileitis. Los de origen digestivo o pélvico están producidos por una mezcla de microorganismos intestinales (microbiota mixta aerobia y anaerobia) entre los que destacan *E. coli*, y *Bacteroides* spp.. Los que se originan en un foco de osteomielitis suelen estar ocasionados por *S. aureus*. Causa era frecuente la enfermedad de Pott una causa frecuente de absceso del músculo psoas era *M. tuberculosis* y es una etiología que no hay que olvidar (inmunocomprometidos, inmigrantes). Se han descrito abscesos del músculo psoas por una gran variedad de microorganismos (*S. enteritidis*, *Streptococcus* spp., *P. aeruginosa*, *P. mirabilis*, *Y. enterocolitica*, *Pasteurella multocida*, *Klebsiella* spp., *S. marcescens*, *M. kansasii* y *M. xenopi* entre otros), de ahí la importancia de la confirmación microbiológica del microorganismo implicado en la etiología del absceso.

9.3.3 Cuadro clínico. El cuadro es muy inespecífico, las manifestaciones más habituales son la fiebre, el dolor (abdominal o dorsal bajo o dolor irradiado hacia la cadera o la rodilla) y la limitación de los movimientos de la cadera. Además, suele ser muy difícil diferenciar la sintomatología causada por el propio absceso y la clínica secundaria al foco de origen de la infección, con lo que es frecuente un solapamiento entre ambas. Respecto al absceso del psoas de origen tuberculoso, éste se caracteriza por tener una presentación más larvada, con un transcurso de tiempo mayor entre el inicio de los síntomas y el diagnóstico, ser secundario a espondilodiscitis y tener afectación bilateral,

circunstancia inusual en el resto de abscesos del psoas de etiología bacteriana.

La tomografía computarizada es la técnica diagnóstica de elección, además, tiene las ventajas añadidas de servir como guía de referencia para la realización de punción y/o drenaje de la lesión con un fin tanto diagnóstico como terapéutico.

9.3.4 Diagnóstico microbiológico. Se establece con las muestras recogidas mediante drenaje percutáneo guiado o quirúrgico. El procedimiento a seguir es el común a otras infecciones intraabdominales.

10. BIBLIOGRAFÍA

1. Alonso i Tarrés C. Etiología de las complicaciones infecciosas en el post-operatorio de cirugía abdominal. En: Álvarez Lerma F. Complicaciones infecciosas en el postoperatorio de cirugía abdominal. Madrid: Ediciones Ergon S.A.; 2000. pp. 57-77.
2. Álvarez JA, González JJ, Baldonado RF, Sanz L. Abscesos hepáticos piógenos. *Cir Esp.* 2001; 70:164-172.
3. Álvarez JA, González JJ, Baldonado RF, Sanz L, Junco A, Rodríguez JL, Martínez MD. Pyogenic liver abscesses: a comparison of older and younger patients. *HPB.* 2001; 3:201-206.
4. Badia JM, Williamson RCN. Antibioticos e infección biliar. *Cir Esp.* 2004; 76:203-206.
5. Baron EJ, Bennion R, Thompson J, Strong C, Summanen P, McTeague M, Finegold SM. A microbiological comparison between acute and complicated appendicitis. *Clin Infect Dis.* 1992; 14:227-231.
6. Barreales M, Fernandez I. Spontaneous bacterial peritonitis. *Rev Esp Enferm Dig.* 2011; 103:255-263.
7. Bennion RS, Baron EJ, Thompson JE, Downes J, Summanen P, Talan DA, Finegold SM. The bacteriology of gangrenous and perforated appendicitis - revisited. *Ann Surg.* 1990; 211:165-171.
8. Brook I. Microbiology and management of abdominal infections. *Dig Dis Sci.* 2008; 53:2585-2591.
9. Burillo A, Bouza E. Papel de las bacterias grampositivas en la infección intraabdominal. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2006; 26 (Supl 2):61-68.
10. Chow AW, Evans GA, Nathens AB, Ball CG, Hansen G, et al. Canadian practice guidelines for surgical intra-abdominal infections. *Can J Infect Dis Med Microbiol.* 2010; 21:11-37.
11. Davenport A. Peritonitis remains the major clinical complication of peritoneal dialysis: the London, UK, peritonitis audit 2002-2003. *Perit Dial Int.* 2009; 29:297-302.
12. Doñate T, Borràs M, Coronel F, Lanuza M, González MT, Morey A, Ruiz JE, Teixidor JM, Torguet P. Diálisis peritoneal. Consenso de la Sociedad Española de Diálisis y Trasplante. *Dial Traspl.* 2006; 27:23-34.
13. EASL clinical practice guidelines on the management of ascites, spontaneous bacterial peritonitis, and hepatorenal syndrome in cirrhosis. *J Hepatol.* 2010; 53:397-417.

14. England DM, Rosenblatt JE. Anaerobes in human biliary tracts. *J Clin Microbiol.* 1977; 6:494-498.
15. Garau J, García Sanchez JE (Eds). Infecciones intraabdominales. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2010; 28 (Supl 2).
16. Garcia LS. *Clinical Microbiology Procedures Handbook*, 3th edition, Washington DC: ASM Press; 2010.
17. García-Martos P, Gil de Sola F, Marín P, García-Agudo L, García-Agudo R, Tejuca F, Calle L. Peritonitis fúngica en diálisis peritoneal continua ambulatoria: descripción de 10 casos. *Nefrología.* 2009; 29:534-539.
18. Guirat A, Koubaa M, Mzali R, Abid B, Ellouz S, et al. Peritoneal tuberculosis. *Clin Res Hepatol Gastroenterol.* 2011; 35:60-69.
19. Hanau LH, Seitzbigel NH. Acute (ascending) cholangitis. *Infect Dis Clin North Am.* 2000; 14:521-546.
20. Huw OBD, Alkhamesi NA, Dawson PM. Peritoneal fluid culture in appendicitis: review in changing times. *Int J Surg.* 2010; 8:426-429.
21. Isenberg HD and Damato R. Indigenous and pathogenic microorganisms of humans. En: Murray PR, (Ed.). *Manual of Clinical Microbiology.* 9th edition. Washington DC: ASM Press; 2007. pp. 43-54.
22. Kimura Y, Takada T, Kawarada Y, Nimura Y, Hirata K, Sekimoto M, et al. Definitions, pathophysiology, and epidemiology of acute cholangitis and cholecystitis: Tokyo guidelines. *J Hepatobiliary Pancreat Surg.* 2007; 14:15-26.
23. Levison ME, Bush LM. Peritonitis and intraperitoneal abscesses. En Mandell GL, Bennett JE, Dollin R (Eds.) *Principles and Practice of Infectious Diseases.* 7th edition. Philadelphia: Elsevier Inc; 2010. Cap. 71.
24. Li PK, Szeto CC, Piraino B, Bernardini J, Figueiredo AE, Gupta A, et al. Peritoneal dialysis-related infections recommendations: 2010 update. *Perit Dial Int.* 2010; 30:393-423.
25. Marín I, Serra I, Mañosa M, Cabré E, Domènech E. Absceso de psoas como complicación de la enfermedad de Crohn: presentación de 3 casos y revisión de la literatura médica. *Gastroenterol Hepatol.* 2009; 32:557-561.
26. Marshall JC. Intra-abdominal infections. *Microbes and infection.* 2004; 6:1015-1025.
27. Mazuski JE, Solomkin JS. Intra-abdominal infections. *Surg Clin N Am* 2009; 89:421-437.
28. Montravers P, Lepape A, Dubreuil L, Gauzit R, Pean Y, Benchimol D, Dupont H. Clinical and microbiological profiles of community-acquired and nosocomial intra-abdominal infections: results of the French prospective, observational EBIA study. *J Antimicrob Chemother.* 2009; 63:785-794.
29. Nazir NT, Penfield JD, Hajjar V. The clinical picture: pyogenic liver abscess. *Cleveland Clinic Journal of Medicine.* 2010; 77:426-427.
30. Ocharan-Corcuera J, Forastera A, Monfá JM et al. Guía práctica clínica. Actitudes frente a la infección. *Diálisis y Trasplante* 2010; 31:89-100.
31. Rerknimitr R, Fogel EL, Kalayci C, Esber E, Lehman GA, Sherman S. Microbiology of bile in patients with cholangitis or cholestasis with and without plastic biliary endoprosthesis. *Gastrointest Endosc.* 2002; 56:885-889.
32. Sartelli M, Viale P, Koike K et al. WSES consensus conference: guidelines for first-line management of intra-abdominal infections. *World J Emerg Surg.* 2011; 6:2.
33. Seguin P, Laviolle B, Chanavaz C, et al. Factors associated with multidrug-resistant bacteria in secondary peritonitis: impact on antibiotic therapy. *Clin Microbiol Infect.* 2006; 12:980-985.
34. Solomkin JS, Mazuski JE, Bradley JS, Rodvold KA, et al. Diagnosis and management of complicated intra-abdominal infection in adults and children: guidelines by the Surgical Infection Society and the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis.* 2010; 50:133-164.
35. Soriano G, Esparcia O, Montemayor M, Guarner-Argente C, et al. Bacterial DNA in the diagnosis of spontaneous bacterial peritonitis. *Aliment Pharmacol Ther* 2011; 33:275-284.
36. Sifri CD, Madoff LC. Infections of the liver and biliary system. In: Mandell GL, Bennett JE, Dollin R (Eds.) *Principles and Practice of Infectious Diseases.* 7th edition. Philadelphia: Elsevier Inc; 2010. Cap. 72.
37. Sifri CD, Madoff LC. Appendicitis. In: Mandell GL, Bennett JE, Dollin R (Eds.) *Principles and Practice of Infectious Diseases.* 7th edition. Philadelphia: Elsevier Inc; 2010. Cap. 75.
38. Sifri CD, Madoff LC. Diverticulitis and Typhlitis. In: Mandell GL, Bennett JE, Dollin R (Eds.) *Principles and Practice of Infectious Diseases.* 7th edition. Philadelphia: Elsevier Inc; 2010. Cap. 76.
39. Szeto CC, et al. Recurrent and relapsing peritonitis: causative organisms and response to treatment. *Am J Kidney Dis.* 2009; 54:702-710.
40. Thompson III GR, Patterson JE. Infections in patients on peritoneal dialysis. En *Principles and Practice of Dialysis*, 4ª edición. Henrich WL. Filadelfia: Lippincott Williams & Wilkins; 2009.
41. Yoon S-H, Choi NW, Yun S-R. Detecting bacterial growth in continuous ambulatory peritoneal dialysis effluent using two culture methods. *Korean J Intern Med.* 2010; 25:82-85.

Servicio de Microbiología Hospital.....	Procesamiento microbiológico del líquido peritoneal	PNT-IIA-01	
		Edición Nº 01	Página 2 de 5

1. PROPÓSITO Y ALCANCE

El objetivo del presente documento es describir el procesamiento del líquido peritoneal para el diagnóstico microbiológico de las peritonitis, así como los criterios de interpretación de los cultivos.

2. FUNDAMENTO

Las peritonitis son infecciones intraabdominales complicadas con un alto índice de mortalidad asociada. Existen tres tipos con características epidemiológicas y etiológicas diferentes. Las peritonitis primarias o espontáneas que se producen en ausencia de un foco infeccioso de origen abdominal, son monomicrobianas y en general sólo precisan tratamiento antimicrobiano. Las peritonitis secundarias que son consecuencia de la pérdida de integridad del tracto gastrointestinal, son polimicrobianas y requieren para su resolución el control del foco infeccioso y tratamiento antimicrobiano. Las terciarias son peritonitis persistentes o recurrentes en las que no se aíslan microorganismos o estos son de baja patogenicidad o multirresistentes. No siempre responden al tratamiento médico y quirúrgico. Las más frecuentes son las peritonitis secundarias y en su etiología intervienen patógenos aerobios, facultativos y anaerobios.

El diagnóstico microbiológico de las peritonitis se basa en el examen microscópico y aislamiento de los microorganismos responsables a partir del cultivo del líquido peritoneal. En el presente documento se describen los métodos a seguir en el procesamiento de esta muestra.

3. DOCUMENTOS DE CONSULTA

- Bou G (Coordinador), Fernández A, García C, Saéz JA, Valdezate S. Métodos de identificación bacteriana en el laboratorio de microbiología. Procedimientos en Microbiología Clínica nº 37, 2ª edición. SEIMC 2010.
<http://www.seimc.org/documentos/protocolos/microbiologia>
- Garcia LS. "Quality Control". En: Clinical Microbiology Procedures Handbook, 3th edition, vol.3. Section 14.2. Washington DC: ASM Press; 2010.
- García JE (Coordinador), Alcalá L, Betriu C, García JE, Reig M. Bacterias anaerobias. Procedimientos en Microbiología Clínica nº 16, 2ª edición. SEIMC 2004.
<http://www.seimc.org/documentos/protocolos/microbiologia>
- Loza E (Coordinador), Alomar P, Bernal A, Harto A, Pérez JL, Picazo JJ, Sarazá ML. Seguridad en el laboratorio de microbiología clínica. Procedimientos en Microbiología Clínica nº 10, 1ª edición. SEIMC 2000.
<http://www.seimc.org/documentos/protocolos/microbiologia>
- Sánchez C (Coordinador), Guerrero C, Sánchez C. Recogida, transporte y procesamiento general de muestras en el laboratorio de microbiología.

Procedimientos en Microbiología nº 1a, 2ª edición. SEIMC 2003.

<http://www.seimc.org/documentos/protocolos/microbiologia>

4. MUESTRAS

4.1 VOLANTE DE PETICIÓN

El volante de petición o la petición electrónica que acompaña a cada muestra debe ser correctamente cumplimentado y en él deberán constar claramente:

- Datos demográficos del paciente (filiación, edad, número de historia), servicio de procedencia y datos del clínico que realiza la petición.
- Datos de la muestra (tipo, localización anatómica, modo y fecha de obtención) y determinaciones microbiológicas solicitadas.
- Datos clínicos (diagnóstico del paciente, enfermedad de base, tratamiento antibiótico previo, alergias medicamentosas).

4.2 RECOGIDA DE LA MUESTRA

- Se recogerá bajo estrictas condiciones de asepsia y preferentemente antes de iniciar el tratamiento antimicrobiano.
- El líquido peritoneal se recoge por aspiración mediante punción percutánea (paracentesis) o mediante cirugía abierta o vía laparoscópica.
- El líquido obtenido por paracentesis se inocular preferentemente en el momento de la extracción, en frascos de hemocultivo aerobio y anaerobio. La inoculación se realiza con jeringa, previa desinfección del tapón de goma, inoculando el mayor volumen disponible, hasta un máximo de 10 mL por botella. Además se debe enviar 0,5-1 mL en un tubo estéril sin conservantes para realizar la tinción de Gram. Como alternativa se puede enviar en un contenedor estéril e inocular en el propio laboratorio.
- El líquido recogido por aspiración con jeringa y aguja mediante cirugía abierta o laparoscópica, se inocular en un vial de transporte de anaerobios previa desinfección del tapón de goma evitando la entrada de aire. Puede ser válida la jeringa sin aguja, si previamente se elimina el aire en una gasa impregnada con alcohol y se envía con un capuchón estéril.
- En la peritonitis tuberculosa se recomienda enviar 10-50 mL en un frasco estéril sin conservantes.

4.3 TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN DE LA MUESTRA

- El transporte se realizará de forma inmediata tras la obtención de la muestra a temperatura ambiente. En general, la recuperación de los microorganismos anaerobios disminuye si el tiempo de transporte es superior a las tres horas.
- Deben procesarse a su llegada al laboratorio y en caso de que esto no sea posible, conservarse a temperatura ambiente. No deben refrigerarse (excepto solicitud de micobacterias) ni congelarse.

Servicio de Microbiología Hospital.....	Procesamiento microbiológico del líquido peritoneal	PNT-IIA-01	
		Edición Nº 01	Página 3 de 5

- Las muestras inoculadas en botellas de hemocultivo deben seguir las normas del sistema automatizado utilizado.
- Una vez procesadas, conviene conservarlas durante al menos 3-5 días.

4.4 CRITERIOS DE ACEPTACIÓN Y RECHAZO

Por tratarse de muestras obtenidas por procedimientos quirúrgicos o invasores se intentará no rechazarlas, pero se indicará en el informe de resultados cualquier incidencia relacionada con su identificación, transporte o conservación.

Se considerarán incidencias relacionadas con la recepción de la muestra:

- Identificación defectuosa: etiquetado erróneo y cumplimentación incompleta del volante de petición/petición electrónica.
- Conservación defectuosa (temperatura inadecuada o medio de transporte inadecuado).
- Muestra insuficiente para las determinaciones solicitadas. En este caso se consultará al clínico responsable de la petición el orden de prioridad de las peticiones.

Se considerarán motivos de rechazo los siguientes:

- Imposibilidad de identificación del paciente
- Muestras no identificadas
- Volantes/peticiones electrónicas sin nombre
- No coincidencia del nombre del paciente en el volante/petición electrónica con el de la muestra
- Muestras derramadas
- Muestras recogidas con torunda
- Muestras recogidas en contenedor no estéril o en formol

Si se solicita estudio de micobacterias proceder según el Procedimiento en Microbiología Clínica de la SEIMC nº 9a (2ª edición) "Micobacterias".

5. MEDIOS DE CULTIVO, REACTIVOS Y PRODUCTOS

5.1 MEDIOS DE CULTIVO:

- Agar sangre
- Agar chocolate
- Agar colistina-nalidíxico (CNA) (optativo)
- Agar MacConkey /Eosina azul de metileno
- Agar Brucella anaerobios/ agar Schaedler o similar
- Agar sangre lacada con kanamicina, vancomicina (ASLKV) o similar
- Agar Bacteroides bilis esculina (BBE) (optativo)
- Agar Sabouraud con antibióticos
- Caldo de enriquecimiento (tioglicolato/BHI o similar)
- Frascos de hemocultivo aerobio y anaerobio

5.2. REACTIVOS Y PRODUCTOS:

- Colorantes para tinción de Gram y blanco de calcoflúor.
- Sistemas comerciales generadores de atmósfera anaerobia.

6. APARATOS Y MATERIAL

- Cabina de seguridad biológica tipo II
- Pinzas estériles

- Pipetas Pasteur estériles
- Jeringas y agujas
- Asas de siembra estériles
- Portaobjetos
- Vórtex
- Estufa de aerobiosis a 35-37°C
- Estufa con 5% de CO₂ a 35-37°C
- Jarras de incubación o cámara de anaerobiosis
- Centrífuga
- Microscopio
- Sistema automatizado de identificación y sensibilidad (aerobios-facultativos)
- Sistema de identificación de anaerobios (API o similar)
- Sistema automatizado de incubación de hemocultivos
- MALDI-TOF (deseable)

7. PROCEDIMIENTO

7.1 PREPARACIÓN E INOCULACIÓN DE LA MUESTRA

- El procesamiento de las muestras se efectuará en una cabina de bioseguridad tipo II.
- El líquido ascítico obtenido por paracentesis remitido en un contenedor estéril, se inocula en frascos de hemocultivo (10mL cada uno). Si se envía inoculado, se registran las botellas y se introducen en el incubador-lector de crecimiento.
- Si la muestra se recibe en un envase con medio de transporte para anaerobios se agita en el vórtex para su homogenización y se extrae con jeringa, previa desinfección del tapón con povidona yodada evitando introducir aire en el recipiente. La muestra se siembra con la propia jeringa depositando una o dos gotas en cada uno de los medios de cultivo y otra en un portaobjetos para la tinción de Gram.
- Si la muestra se envía en jeringa, se retira el capuchón y se procede a la siembra como en el punto anterior.
- El líquido peritoneal recibido en un contenedor estéril, sin transporte de anaerobios, se trasfiere a un tubo para su centrifugación. Del sedimento se siembran las placas inoculando con una pipeta estéril (0,5-1 mL) o asa directamente por agotamiento en los medios de cultivo y se pone una gota en un portaobjetos para la tinción de Gram.
- En las peritonitis contaminadas con microbiota fecal se aconseja añadir a la siembra agar CNA y agar BBE. La inoculación de éstas muestras en caldos de enriquecimiento, es opcional.

7.2 CONDICIONES DE INCUBACIÓN

- Agar sangre, agar chocolate, agar CNA (35-37°C, 5-7% CO₂): 3-5 días.
- Agar Brucella, agar ASLKV, agar BBE (35-37°C, anaerobiosis): 7 días.
- Agar Sabouraud con antibióticos (30°C, aerobiosis): 48 horas.
- Agar MacConkey (35-37°C, aerobiosis): 48 horas.
- Caldo tioglicolato (35-37°C, aerobiosis): 5 días.

Servicio de Microbiología Hospital.....	Procesamiento microbiológico del líquido peritoneal	PNT-IIA-01	
		Edición N° 01	Página 4 de 5

7.3 LECTURA DE CULTIVOS E IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS

7.3.1 Tinción de Gram

- Evaluar la presencia o ausencia de diferentes morfotipos bacterianos, elementos fúngicos y células inflamatorias. Valorar la presencia o no de leucocitos polimorfonucleares y registrar su presencia con esquema no cuantitativo: como aislados (≤ 1 PMN/campo), escasos (1-10 PMN/campo), moderados (11-25 PMN/campo) y abundantes (>25 PMN/campo).

- Informar los resultados lo antes posible al clínico peticionario y registrarlos en la hoja de trabajo correspondiente a la muestra. Esto permitirá correlacionar los morfotipos visualizados con los aislados.

7.3.2 Cultivos

- Examinar diariamente las placas y los medios líquidos. A las 24 horas los incubados en aerobiosis y atmósfera de CO₂ y a las 48 horas los incubados en anaerobiosis.

7.3.2.1 Medios sólidos incubados en aerobiosis y atmósfera de CO₂:

- Correlacionar los aislados con los morfotipos observados en la tinción de Gram. Si se obtienen cultivos mixtos realizar subcultivos. Una vez obtenido el cultivo puro realizar una identificación presuntiva mediante pruebas rápidas como tinción de Gram, catalasa, oxidasa, coagulasa en porta, etc. (o definitiva mediante espectrometría de masas MALDI-TOF). Si se considera relevante el hallazgo avisar al clínico responsable del paciente.

- Identificar todos los aislados clínicamente significativos a nivel de especie y realizar las pruebas de sensibilidad a los antibióticos según las normas estandarizadas (CLSI, EUCAST) del año en curso.

- Si no hay crecimiento reincubar todas las placas y reexaminar diariamente hasta el final del periodo de incubación.

7.3.2.2 Medios sólidos incubados en anaerobiosis:

- Examinar las placas para detectar todas las colonias morfológicamente diferentes y aislarlas en cultivo puro. Hacer los reaislamientos necesarios para aislar colonias únicas de todos los morfotipos y correlacionarlos con los observados en la tinción de Gram. Realizar a cada colonia una prueba de aerotolerancia.

- Efectuar identificación y pruebas de sensibilidad a los facultativos que no se hayan detectado en los medios incubados en aerobiosis o CO₂ y que se consideren clínicamente significativos.

- Identificar los microorganismos anaerobios aislados. Si se aíslan tres o más identificar a nivel de especie solo los microorganismos predominantes o aquellos que se consideren especialmente virulentos o resistentes. El resto se informará con una identificación presuntiva (o definitiva mediante MALDI-TOF) según la tinción de Gram, catalasa y sensibilidad o resistencia a discos de vancomicina, kanamicina y colistina.

- No realizar rutinariamente pruebas de sensibilidad.

- Si no hay crecimiento reincubar las placas y reexaminar diariamente hasta el final del periodo de incubación.

7.3.2.3 Medios líquidos:

- Si hay turbidez realizar tinción de Gram y sembrar los medios generales y selectivos adecuados según los microorganismos observados.

- Si no hay crecimiento visible, reincubar hasta el final del periodo de incubación.

- Si la muestra se ha inoculado sólo en caldo de enriquecimiento, realizar al final del periodo de incubación, un subcultivo "de salida" en medios sólidos (agar chocolate y un medio no selectivo para anaerobios) aunque no se haya observado turbidez.

7.4 CONTROL DE CALIDAD

- Verificar la caducidad de los medios y los estándares de calidad de los medios de cultivo preparados en el laboratorio (control de esterilidad y eficiencia en cada nuevo lote preparado). Comprobar los medios comercializados exentos de control según el documento del CLSI "Quality Control for Commercially Prepared Microbiological Culture Media: Approved Standard. 3 Edition M22-A3".

- Registrar los resultados de los controles realizados. Si no son adecuados, adoptar medidas correctoras.

- Aplicar un control interno que asegure que el funcionamiento de los reactivos (tinciones), equipos (microscopios, centrifugas, pipetas, incubadores, cabinas de bioseguridad, jarras de anaerobiosis, etc.), sistemas de determinación de sensibilidad (manuales o automatizados), sistemas automatizados de identificación, hemocultivos, etc., sea el apropiado para los ensayos efectuados. Seguir las recomendaciones de la sección 14.2 "Quality Control" En: Clinical Microbiology Procedures Handbook. Edición actual: Garcia LS. 3th edition, vol.3. Washington DC: ASM Press; 2010.

8. OBTENCIÓN Y EXPRESIÓN DE LOS RESULTADOS

8.1 TINCIÓN DE GRAM

Se indicarán todos los morfotipos visualizados y la presencia de leucocitos polimorfonucleares, que se pueden informar como aislados, escasos, moderados o abundantes.

8.2 CULTIVOS

- Si el cultivo es positivo, el informe de resultados incluirá todos los microorganismos aerobios y facultativos aislados que se consideren clínicamente significativos y su sensibilidad a los antimicrobianos.

- También incluirá la identificación de los anaerobios aislados. A nivel de especie los microorganismos predominantes o los considerados especialmente virulentos o resistentes y el resto con una identificación presuntiva (género o grupo).

- No se informarán resultados de sensibilidad, salvo petición expresa o cuando las condiciones clínicas o microbiológicas lo aconsejen.

Servicio de Microbiología Hospital.....	Procesamiento microbiológico del líquido peritoneal	PNT-IIA-01	
		Edición N° 01	Página 5 de 5

- Si el resultado del cultivo es negativo, se emitirá un informe en el que conste "No se aíslan microorganismos" o "Cultivo negativo".
- Cualquier información sobre los cultivos que pueda tener significado clínico y pueda reconducir la actitud terapéutica, debe ser informada con la mayor rapidez posible al clínico responsable del paciente mediante informes provisionales.

9. RESPONSABILIDADES

- El proceso de recogida de la muestra es responsabilidad del servicio solicitante. 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.
- El facultativo encargado del área de recepción y procesamiento de muestras del laboratorio es responsable de la supervisión de la recepción, identificación y procesamiento de las muestras, así como del rechazo de las muestras remitidas en condiciones defectuosas (medios de transporte inadecuados, derramadas) y adopción de medidas correctoras.
- El personal técnico es responsable de los procedimientos microbiológicos de identificación y determinación de la sensibilidad a los antimicrobianos, así como del registro de resultados.
- El personal facultativo es responsable de la valoración de la tinción de Gram, lectura de los cultivos y determinación de los microorganismos a valorar, así como de la supervisión del trabajo del personal técnico, comunicación de los resultados preliminares, validación de los resultados preliminares y definitivos y firma de los informes. También es responsable de mantener al día los procedimientos y responder a las interconsultas.

10. ANOTACIONES AL PROCEDIMIENTO

- Al ser muestras de difícil obtención, con riesgos y molestias para el paciente, y en muchas ocasiones insustituibles, los criterios de rechazo deben reducirse al máximo.
- En la tinción de Gram, el empleo de fucsina (en lugar de safranina) facilita la visualización de los bacilos gramnegativos anaerobios.
- Una vez sembradas las placas anaerobias, no demorar la incubación para evitar la pérdida de viabilidad de las bacterias anaerobias.

11. LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

- El tratamiento antimicrobiano previo a la obtención de la muestra puede dar lugar a cultivos negativos.
- La recogida de muestra sin las medidas de asepsia adecuadas puede dar falsos resultados positivos por contaminaciones con la microbiota cutánea.
- La demora superior a 3 horas en el transporte de las muestras disminuye la viabilidad de las bacterias anaerobias y puede dar falsos resultados negativos.
- Si la muestra se envía inoculada sólo en botellas de hemocultivo, no es posible realizar la tinción de Gram.
- El SPS puede inhibir el crecimiento y viabilidad de los microorganismos.
- Un volumen reducido de muestra obliga a establecer prioridades con el clínico peticionario.

12. BIBLIOGRAFÍA

1. EASL Clinical practice guidelines on the management of ascites, spontaneous bacterial peritonitis, and hepatorenal syndrome in cirrhosis. *J Hepatol* 2010; 53:397-417.
2. Garcia LS. *Clinical Microbiology Procedures Handbook*, 3th edition, vol.1, Section 4. Anaerobic bacteriology. Washington DC: ASM Press; 2010.
3. Levison ME, Bush LM. Peritonitis and intraperitoneal abscesses. En Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (Eds.) *Principles and Practice of Infectious Diseases*. 7th edition. Philadelphia: Churchill Livingstone; 2010. Cap 71.
4. Miller J, Krisher K, Holmes HT: General principles of specimen collection and handling. En: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA. *Manual of Clinical Microbiology*, 9th edition. vol.1. Washington D.C: ASM Press; 2007.
5. Solomkin JS, Mazuski JE, Bradley JS, Rodvold KA, et al. Diagnosis and management of complicated intra-abdominal infection in adults and children: Guidelines by the Surgical Infection Society and the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis*. 2010; 50:133-64.

Servicio de Microbiología Hospital.....	Procesamiento microbiológico de las muestras obtenidas de pacientes con infecciones asociadas a diálisis peritoneal	PNT-IIA-02	
		Edición N° 01	Página 2 de 5

1. PROPÓSITO Y ALCANCE

El objetivo del presente documento es describir el procesamiento de las muestras obtenidas en pacientes con infecciones asociadas a diálisis peritoneal, para establecer el diagnóstico etiológico de estos procesos, así como los criterios de interpretación de los cultivos.

2. FUNDAMENTO

La diálisis peritoneal (DP) es el primer escalón del tratamiento de la insuficiencia renal crónica que requiere depuración. Independiente del procedimiento utilizado (DP ambulatoria continua, DP automatizada o de ciclo continuo), la DP implica la inserción de un catéter en la pared abdominal que abre una puerta de entrada, que puede ser aprovechada por distintos microorganismos para invadir y producir diversos tipos de infecciones. En la DP pueden aparecer tres tipos de infecciones: infección en el sitio de salida, en la zona por la que transcurre el catéter en la pared y/o en la cavidad peritoneal. El diagnóstico microbiológico de estas infecciones se basa en el aislamiento de los microorganismos responsables a partir del cultivo de los exudados, catéter o líquido efluente. En el presente documento se describen los métodos a seguir en el procesamiento de estas muestras.

3. DOCUMENTOS DE CONSULTA

- Garcia LS. "Quality Control". En: Clinical Microbiology Procedures Handbook, 3th edition, vol.3. Section 14.2. Washington DC: ASM Press; 2010.

- Li PK, Szeto CC, Piraino B, Bernardini J, Figueiredo AE, Gupta A, et al. Peritoneal dialysis-related infections recommendations: 2010 update. *Perit Dial Int.* 2010; 30:393-423.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20628102>

- Loza E (Coordinador), Alomar P, Bernal A, Harto A, Pérez JL, Picazo JJ, Sarazá ML. Seguridad en el laboratorio de microbiología clínica. Procedimientos en Microbiología Clínica n° 10, 1ª edición. SEIMC 2000.

<http://www.seimc.org/documentos/protocolos/microbiologia>

- Sánchez C (Coordinador), Guerrero C, Sánchez C. Recogida, transporte y procesamiento general de muestras en el laboratorio de microbiología. Procedimientos en Microbiología n° 1a, 2ª edición. SEIMC 2003.

<http://www.seimc.org/documentos/protocolos/microbiologia>

4. MUESTRAS

4.1 VOLANTE DE PETICIÓN

El volante de petición o la petición electrónica que acompaña a cada muestra debe ser correctamente cumplimentado y en él deberán constar claramente:

- Datos demográficos del paciente (filiación, edad, número de historia), servicio de procedencia y datos del clínico que realiza la petición.

- Datos de la muestra (tipo, localización anatómica, modo y fecha de obtención) y determinaciones microbiológicas solicitadas.

- Datos clínicos (diagnóstico del paciente, enfermedad de base, tratamiento antibiótico previo, alergias medicamentosas).

4.2 RECOGIDA DE LA MUESTRA

- La obtención de la muestra debe realizarse bajo estrictas condiciones de asepsia y preferentemente antes de iniciar el tratamiento antimicrobiano.

- En la infección del sitio de salida el exudado, éste se recoge con torunda, en las infecciones del catéter las muestras válidas son el catéter (retirado quirúrgicamente) y el exudado recogido mediante torunda, y en la peritonitis se recoge el líquido efluente de la bolsa mas turbia. Las torundas deben ser enviadas si es posible, en medio de transporte para anaerobios.

- El líquido efluente se puede remitir al laboratorio de las siguientes formas:

a) Bolsa completa del dializado, preferentemente la más turbia. Se introduce en otra bolsa de plástico y ésta en un recipiente hermético para su transporte al laboratorio.

b) Inoculado en frascos de hemocultivo aerobio y anaerobio (10mL en cada uno). Técnica estándar para establecer el diagnóstico y el control de tratamiento. Este método proporciona un 20% de resultados negativos.

c) Envase estéril con 50 mL, junto a frascos inoculados de hemocultivo (5-10mL). Opción recomendada por la *International Society for Peritoneal Dialysis*, que estima con este método un 5% de cultivos negativos.

4.3 TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN DE LA MUESTRA

Se deben enviar lo antes posible al laboratorio para su procesamiento. Las torundas se mantienen a temperatura ambiente y el catéter se conserva refrigerado. La bolsa y el líquido efluente deben mantenerse a temperatura ambiente y remitirse en menos de seis horas. El transporte y mantenimiento de las botellas de hemocultivo debe realizarse según las directrices del fabricante.

4.4 CRITERIOS DE ACEPTACIÓN Y RECHAZO

Deben considerarse criterios de rechazo los siguientes:

- Defectos en la identificación de la muestra y/o volante de petición/petición electrónica (etiquetado erróneo, que no permite la identificación correcta del paciente).

- Conservación inadecuada (temperatura o medio de transporte inadecuado).

- Muestras derramadas.

- Muestras recogidas en contenedor no estéril.

- Todas estas incidencias deben ser comunicadas al clínico correspondiente, indicando el procesamiento

Servicio de Microbiología Hospital.....	Procesamiento microbiológico de las muestras obtenidas de pacientes con infecciones asociadas a diálisis peritoneal	PNT-IIA-02	
		Edición N° 01	Página 3 de 5

o no de la muestra e incidiendo en la interpretación de los resultados si se llevara a cabo el mismo.

Si se solicita estudio de micobacterias, proceder según el Procedimiento en Microbiología Clínica de la SEIMC n° 9a (2ªedición): "Micobacterias".

5. MEDIOS DE CULTIVO, REACTIVOS Y PRODUCTOS

5.1 MEDIOS DE CULTIVO:

- Agar sangre
- Agar chocolate
- Agar MacConkey /Eosina azul de metileno
- Agar Brucella anaerobios/ agar Schaedler o similar
- Agar sangre lacada con kanamicina, vancomicina (ASLKV) o similar
- Agar Bacteroides bilis esculina (BBE) (optativo)
- Agar Sabouraud con antibióticos
- Caldo de enriquecimiento (tioglicolato/BHI o similar)
- Frascos de hemocultivo aerobio y anaerobio
- Medios especiales si se solicita estudio de: *Campylobacter* spp., *Legionella* spp. y *Mycoplasma* spp..

5.2. REACTIVOS Y PRODUCTOS:

- Colorantes para tinción de Gram y blanco de calcoflúor.
- Sistemas comerciales generadores de atmósfera anaerobia.

6. APARATOS Y MATERIAL

- Cabina de seguridad biológica tipo II
- Pinzas estériles
- Pipetas Pasteur estériles
- Jeringas y agujas
- Asas de siembra estériles
- Portaobjetos
- Vórtex
- Estufa de aerobiosis a 35-37°C
- Estufa con 5% de CO₂ a 35-37°C
- Jarras de incubación o cámara de anaerobiosis
- Centrífuga
- Microscopio
- Frascos de hemocultivos
- Sistema automatizado de identificación y sensibilidad (aerobios-facultativos)
- Sistema de identificación de anaerobios (API o similar)
- Sistema automatizado de incubación de hemocultivos
- MALDI-TOF (deseable)

7. PROCEDIMIENTO

7.1 PREPARACIÓN E INOCULACIÓN DE LA MUESTRA

- El procesamiento de las muestras se efectuará en una cabina de bioseguridad tipo II.
- Las torundas se siembran directamente en los medios de cultivo y se realiza extensión para tinción de Gram. El catéter se deposita en un caldo de enriquecimiento y posteriormente se siembra en los medios de cultivo.

- Los frascos de hemocultivo se introducen en el correspondiente incubador de control automático de crecimiento y se procesan según el protocolo establecido en el laboratorio.

- El líquido efluente recibido en envase estéril (50 mL) se centrifuga a 3000xg durante 15 minutos, se decanta con cuidado y se realizan extensiones del sedimento para las tinciones (tinción de Gram y si procede, blanco de calcoflúor). El sedimento se resuspende con 3-5 ml de suero salino, se agita en el vórtex y se siembran las placas de cultivo y los frascos de hemocultivo.

- Si se envía la bolsa completa al laboratorio, se procede en primer lugar a homogenizar su contenido invirtiéndola de 10 a 20 veces, a continuación se desinfecta el lugar de la bolsa destinado a la administración de fármacos con povidona yodada dejando secar y se extraen 50 mL de líquido. Se centrifuga 15 minutos a 3000xg y se procesa según lo indicado en el punto anterior. Una vez procesada se aconseja guardar la bolsa refrigerada durante 5 días.

7.2 CONDICIONES DE INCUBACIÓN

- Agar sangre, agar chocolate (35-37°C, 5-7% CO₂): 3-5 días.
 - Agar MacConkey (35-37°C, aerobiosis): 48 horas.
 - Frascos de hemocultivos: (35-37°C, aerobiosis): 5-7 días.
 - Agar Brucella, agar ASLKV, agar BBE: (35-37°C, anaerobiosis): 7 días.
 - Caldo tioglicolato (35-37°C, aerobiosis): 5 días.
 - Agar Sabouraud con antibióticos 30°C, 48 horas.
- En caso de alta sospecha de infección fúngica prolongar la incubación.

7.3 LECTURA DE CULTIVOS E IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS

7.3.1 Tinción de Gram

- En los exudados se valorará la presencia de microorganismos y leucocitos polimorfonucleares.
- En el líquido efluente las tinciones (Gram y blanco de calcoflúor), son más útiles en la detección fúngica que bacteriana. No obstante, cualquier microorganismo observado debe ser inmediatamente informado para orientar el tratamiento empírico.

7.3.2 Cultivos

- Examinar diariamente las placas y los caldos de enriquecimiento incubadas en aerobiosis y atmósfera de CO₂ a las 24 horas, y las incubadas en anaerobiosis a las 48 horas.
- Identificar todos los aislados aerobios y facultativos a nivel de especie y realizar las pruebas de sensibilidad a los antibióticos según las normas estandarizadas (CLSI, EUCAST). La identificación es importante para poder diferenciar entre una peritonitis recurrente y una recidivante. También para orientar el origen de la infección. El sistema MALDI-TOF reduce el tiempo de identificación.
- En relación a los anaerobios aislados se deben identificar hasta el nivel que permita la rutina del

Servicio de Microbiología Hospital.....	Procesamiento microbiológico de las muestras obtenidas de pacientes con infecciones asociadas a diálisis peritoneal	PNT-IIA-02	
		Edición N° 01	Página 4 de 5

laboratorio (especie, género). No es preciso realizar estudio de sensibilidad, salvo en especies particularmente resistentes.

- Si no hay crecimiento, reincubar todas las placas y reexaminar diariamente hasta el final del periodo de incubación (3-5 días los anaerobios facultativos y 7 los anaerobios estrictos).
- Los frascos de hemocultivos en los que no se detecte crecimiento deben ser subcultivados a los 5-7 días, si existe una sospecha clínica fundada de infección, en medios sólidos que se incubarán durante 3-4 días en aerobiosis y anaerobiosis. A los siete días se descartarán los negativos.

7.4 CONTROL DE CALIDAD

- Verificar la caducidad de los medios y los estándares de calidad de los medios de cultivo preparados en el laboratorio (control de esterilidad y eficiencia en cada nuevo lote preparado). Comprobar los medios comercializados exentos de control según el documento del CLSI "Quality Control for Commercially Prepared Microbiological Culture Media: Approved Standard. 3 Edition M22-A3". Registrar los resultados de los controles realizados. Si no son adecuados, adoptar medidas correctoras.
- Aplicar un control interno que asegure que el funcionamiento de los reactivos (tinciones), equipos (microscopios, centrifugas, pipetas, incubadores, cabinas de bioseguridad, jarras de anaerobiosis), sistemas de determinación de sensibilidad (manuales o automatizados), sistemas automatizados de identificación, hemocultivos etc. sea el apropiado para los ensayos efectuados. Seguir las recomendaciones de la sección 14.2 "Quality Control" En: Clinical Microbiology Procedures Handbook. Edición actual: Garcia LS. 3th edition, vol.3. Washington DC: ASM Press; 2010.

8. OBTENCIÓN Y EXPRESIÓN DE LOS RESULTADOS

8.1 TINCIÓN DE GRAM

Se indicará la presencia o ausencia de microorganismos y leucocitos polimorfonucleares que se pueden informar como aislados, escasos, moderados o abundantes.

8.2 CULTIVOS

- En el método de enriquecimiento por centrifugación hay que considerar cualquier tipo de crecimiento que aparezca en el área de siembra.
- El microorganismo aislado orienta sobre el posible origen de la peritonitis. La recuperación de estafilococos coagulasa negativa y enterococos sugiere una contaminación intraluminal. *S. aureus*, *P. aeruginosa* y con menor frecuencia otras especies de estafilococos y enterococos orientan a una infección alrededor del catéter. El aislamiento de bacterias intestinales como, enterococos, estreptococos y anaerobios sugiere patología intraabdominal.

- Si el cultivo es positivo, el informe de resultados incluirá todos los microorganismos aislados y si procede, su sensibilidad a los antimicrobianos.
- Si el cultivo es negativo, se emitirá un informe en el que conste "No se aíslan microorganismos" o "Cultivo negativo".

9. RESPONSABILIDADES

- El proceso de recogida de la muestra es responsabilidad del servicio solicitante. 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.
- El facultativo encargado del área de recepción y procesamiento de muestras del laboratorio es responsable de la supervisión de la recepción, identificación y procesamiento de las muestras, así como del rechazo de las muestras remitidas en condiciones defectuosas (medios de transporte inadecuados, derramadas) y adopción de medidas correctoras.
- El personal técnico es responsable de los procedimientos microbiológicos de identificación y determinación de la sensibilidad a los antimicrobianos, así como del registro de resultados.
- El personal facultativo es responsable de la valoración de la tinción de Gram, lectura de los cultivos y determinación de los microorganismos a valorar, así como de la supervisión del trabajo del personal técnico, comunicación de los resultados preliminares, validación de los resultados preliminares y definitivos y firma de los informes. También es responsable de mantener al día los procedimientos y responder a las interconsultas.

10. ANOTACIONES AL PROCEDIMIENTO

- Los cultivos positivos en ausencia de inflamación (signos de infección) en el orificio de salida indican colonización más que infección.
- Hay estudios que demuestran la superioridad de los hemocultivos sobre los métodos de enriquecimiento por centrifugación.
- El sistema de lisis-centrifugación ofrece peor resultado.
- Sólo se debe procesar una muestra de líquido efluente al día. No obstante, si se recibe una bolsa turbia después de sembrar una bolsa de dializado clara, ésta se debe procesar.

11. LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

- El tratamiento antimicrobiano previo a la obtención de la muestra o el uso de sustancias antisépticas puede dar lugar a cultivos negativos.
- Si la muestra se envía inoculada sólo en botellas de hemocultivo, no es posible realizar la tinción de Gram.
- El examen microscópico del efluente tiene buena sensibilidad para infecciones fúngicas y mala para las bacterianas.

Servicio de Microbiología Hospital.....	Procesamiento microbiológico de las muestras obtenidas de pacientes con infecciones asociadas a diálisis peritoneal	PNT-IIA-02	
		Edición N° 01	Página 5 de 5

- Puede haber falsos negativos por microorganismos inusuales que requieran medios de cultivo especiales.

- Cuando el número de cultivos negativos supera el 20% es necesario revisar los métodos y mejorarlos.

12. BIBLIOGRAFÍA

1. Doñate T, Borràs M, Coronel F, Lanuza M, González MT, Morey A, Ruiz JE, Teixidor JM, Torquet P. Diálisis peritoneal. Consenso de la Sociedad Española de Diálisis y Trasplante. Dial Traspl. 2006; 27:23-34.
2. Garcia LS. Clinical Microbiology Procedures Handbook, 3th edition, vol.3. Section 13.8. Culture of peritoneal dialysis fluid. Washington DC: ASM Press; 2010.
3. Li PK, Szeto CC, Piraino B, Bernardini J, Figueiredo AE, Gupta A, et al. Peritoneal dialysis-related infections recommendations: 2010 update. Perit Dial Int. 2010; 30:393-423.
4. Thompson III GR, Patterson JE. Infections in patients on peritoneal dialysis. En Principles and Practice of Dialysis, 4ª edition. Henrich WL. Filadelfia: Lippincott Williams & Wilkins; 2009.
5. Yoon S-H, Choi NW, Yun S-R. Detecting bacterial growth in continuous ambulatory peritoneal dialysis effluent using two culture methods. Korean J Intern Med. 2010; 25:82-85.

Servicio de Microbiología Hospital.....	Procesamiento microbiológico de los abscesos intraabdominales	PNT-IIA-03	
		Edición Nº 01	Página 2 de 5

1. PROPÓSITO Y ALCANCE

El objetivo del presente documento es describir el procesamiento de las muestras obtenidas de abscesos intraabdominales para el diagnóstico microbiológico de estas infecciones, así como los criterios de interpretación de los cultivos.

2. FUNDAMENTO

Los abscesos son colecciones de pus rodeadas de una pared fibrosa. A nivel intraabdominal hay que diferenciar los abscesos intraperitoneales, los viscerales y los retroperitoneales. Los primeros se forman fundamentalmente a nivel subfrénico, subhepático y pélvico. Los viscerales incluyen los abscesos hepáticos, pancreáticos, esplénicos y suprarrenales. Dentro de los retroperitoneales se encuentran los perirrenales, pararrenales anteriores y posteriores y el absceso del psoas. Los abscesos intraabdominales se producen como consecuencia de la resolución de una peritonitis difusa, de la extensión de infecciones próximas o de bacteriemias. El diagnóstico requiere alta sospecha clínica y pruebas de imágenes. El diagnóstico microbiológico se basa en el examen microscópico y aislamiento de los microorganismos responsables a partir del cultivo del material recogido del absceso. En el presente documento se describen los métodos a seguir en el procesamiento de estas muestras.

3. DOCUMENTOS DE CONSULTA

- García LS. "Quality Control". En: Clinical Microbiology Procedures Handbook, 3th edition, vol.3. Section 14.2. Washington DC: ASM Press; 2010.
- García JE (Coordinador), Alcalá L, Betriú C, García JE, Reig M. Bacterias anaerobias. Procedimientos en Microbiología Clínica nº 16, 2ª edición. SEIMC 2004. <http://www.seimc.org/documentos/protocolos/microbiologia>
- Loza E (Coordinador), Alomar P, Bernal A, Harto A, Pérez JL, Picazo JJ, Sarazá ML. Seguridad en el laboratorio de microbiología clínica. Procedimientos en Microbiología Clínica nº 10, 1ª edición. SEIMC 2000. <http://www.seimc.org/documentos/protocolos/microbiologia>
- Sánchez C (Coordinador), Guerrero C, Sánchez C. Recogida, transporte y procesamiento general de muestras en el laboratorio de microbiología. Procedimientos en Microbiología Clínica nº 1a, 2ª edición. SEIMC 2003. <http://www.seimc.org/documentos/protocolos/microbiologia>

4. MUESTRAS

4.1 VOLANTE DE PETICIÓN

El volante de petición o la petición electrónica que acompaña a cada muestra debe ser correctamente cumplimentado y en él deberán constar claramente:

- Datos demográficos del paciente (filiación, edad, número de historia), servicio de procedencia y datos del clínico que realiza la petición.
- Datos de la muestra (tipo, localización anatómica, modo y fecha de obtención) y determinaciones microbiológicas solicitadas.
- Datos clínicos (diagnóstico del paciente, enfermedad de base, tratamiento antibiótico previo, alergias medicamentosas).

4.2 RECOGIDA DE LA MUESTRA

- Se recogerán bajo estrictas condiciones de asepsia y preferentemente antes de iniciar el tratamiento antimicrobiano.
- Las muestras se pueden obtener por aspiración, drenaje y también son válidas las biopsias y tejidos recogidos durante la incisión del absceso.
- El material aspirado con aguja y jeringa se trasfiere a un vial de transporte de anaerobios evitando la entrada de aire. La muestra se inocula a través del tapón de goma previamente desinfectado. Si no se aspira material, inyectar subcutáneamente solución salina estéril y volver a aspirar. En caso de no poder utilizar la aguja, recoger la muestra directamente con jeringa o con catéter.
- Si la muestra es escasa o se va a procesar dentro de los 30 minutos siguientes se puede mantener en la misma jeringa con la que se ha extraído el material del absceso eliminado el aire y tapando con un capuchón estéril. No se debe enviar de rutina la jeringa (sin aguja) por el peligro de derrame de la muestra y contaminación durante la manipulación.
- El material drenado se recoge por aspiración directa durante el drenaje o a partir del tubo de drenaje previa desinfección de la zona de punción y se inocula en un vial de transporte de anaerobios. No se deben procesar los tubos de drenaje.
- Las muestras de tejidos y biopsias de la cápsula del absceso se depositan en tubos de transporte de anaerobios. Si son grandes se introducen en envases estériles sobre una gasa estéril humedecida en solución salina para evitar la desecación y después se depositan en una bolsa de transporte de anaerobios.

4.3 TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN DE LA MUESTRA

- El transporte se realizará de forma inmediata tras la obtención de la muestra a temperatura ambiente. En general, la recuperación de los microorganismos anaerobios disminuye si el tiempo de transporte es superior a las tres horas.
- Deben procesarse inmediatamente tras su llegada al laboratorio, y en caso de que esto no sea posible, conservarse a temperatura ambiente. No deben refrigerarse (excepto solicitud de micobacterias) ni congelarse.
- Una vez procesadas, conviene conservarlas durante al menos 3-5 días.

Servicio de Microbiología Hospital.....	Procesamiento microbiológico de los abscesos intraabdominales	PNT-IIA-03	
		Edición Nº 01	Página 3 de 5

4.4 CRITERIOS DE ACEPTACIÓN Y RECHAZO

- Por tratarse de muestras obtenidas por procedimientos quirúrgicos o invasivos se intentará no rechazarlas, pero se indicará en el informe de resultados cualquier incidencia relacionada con su identificación, transporte o conservación.

Se considerarán incidencias relacionadas con la recepción de la muestra:

- Identificación defectuosa: etiquetado erróneo y cumplimentación incompleta del volante de petición/petición electrónica.
- Conservación defectuosa (temperatura inadecuada o medio de transporte inadecuado).
- Muestra insuficiente para las determinaciones solicitadas. En este caso se consultará al clínico responsable de la petición el orden de prioridad de las peticiones.

Se considerarán motivos de rechazo los siguientes:

- Imposibilidad de identificación del paciente
- Muestras no identificadas
- Volantes/peticiones electrónicas sin nombre
- No coincidencia del nombre del paciente en el volante/petición electrónica con el de la muestra
- Muestras derramadas
- Muestras recogidas con torunda
- Muestras recogidas en contenedor no estéril o en formol

Si en la muestra se solicita estudio de micobacterias proceder según el Procedimiento en Microbiología Clínica de la SEIMC nº 9a (2ª edición) "Micobacterias".

Si se solicita estudio de *Entamoeba histolytica* proceder según el Procedimiento en Microbiología Clínica de la SEIMC nº 35 (2ª edición): "El laboratorio de Microbiología ante las enfermedades importadas".

5. MEDIOS DE CULTIVO, REACTIVOS Y PRODUCTOS

5.1 MEDIOS DE CULTIVO:

- Agar sangre
- Agar chocolate
- Agar colistina-nalidíxico (CNA) (optativo)
- Agar MacConkey /Eosina azul de metileno
- Agar Brucella anaerobios/ agar Schaedler o similar
- Agar sangre lacada con kanamicina, vancomicina (ASLKV) o similar
- Agar Bacteroides bilis esculina (BBE) (optativo)
- Agar Sabouraud con antibióticos
- Caldo de enriquecimiento (tioglicolato/BHI o similar)
- Agar Thayer Martin o similar (opcional)

5.2. REACTIVOS Y PRODUCTOS:

- Colorantes para tinción de Gram.
- Sistemas comerciales generadores de atmósfera anaerobia.

6. APARATOS Y MATERIAL

- Cabina de seguridad biológica tipo II
- Pinzas estériles
- Pipetas Pasteur estériles
- Jeringas y agujas
- Asas de siembra estériles

- Portaobjetos
- Vórtex
- Estufa de aerobiosis a 35-37°C
- Estufa con 5% de CO₂ a 35-37°C
- Jarras de incubación o cámara de anaerobiosis
- Centrífuga
- Microscopio
- Sistema automatizado de identificación y sensibilidad (aerobios-facultativos)
- Sistema de identificación de anaerobios (API o similar)
- MALDI-TOF (deseable)

7. PROCEDIMIENTO

7.1 PREPARACIÓN E INOCULACIÓN DE LA MUESTRA

- El procesamiento de las muestras se efectuará en una cabina de bioseguridad tipo II.

- Si la muestra se recibe inoculada en un envase de transporte para anaerobios se agita en un vórtex para su homogenización y se extrae con jeringa previa desinfección del tapón con povidona yodada evitando introducir aire en el interior. La muestra se siembra con la propia jeringa depositando una o dos gotas en cada uno de los medios de cultivo y otra en un portaobjetos para la tinción de Gram. Si se envía cantidad suficiente se puede inocular un medio líquido.

- Si la muestra se envía en jeringa, se retira el capuchón y se procede a la siembra como en el punto anterior.

- Las muestras de biopsias si son grandes se fraccionan con bisturí en una placa de Petri estéril o se homogenizan en un mortero estéril con una pequeña cantidad (0,5-1mL) de caldo tioglicolato, solución salina o caldo BHI antes de su siembra en los medios de cultivo.

- En los abscesos pélvicos secundarios a enfermedad pélvica inflamatoria añadir a la siembra una placa de agar Thayer-Martin (o similar).

- Mantener la muestra una vez procesada durante al menos 5-7 días.

7.2 CONDICIONES DE INCUBACIÓN

- Agar sangre, agar chocolate, agar CNA, agar Thayer Martin (35-37°C, 5-7% CO₂): 3-5 días.

- Agar Brucella, agar ASLKV, agar BBE (35-37°C, anaerobiosis): 7 días.

- Agar Sabouraud con antibióticos (30°C, aerobiosis): 48 horas.

- Agar MacConkey (35-37°C, aerobiosis): 48 horas.

- Caldo tioglicolato (35-37°C, aerobiosis): 5 días.

7.3 LECTURA DE CULTIVOS E IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS

7.3.1 Tinción de Gram

- Evaluar la presencia o ausencia de diferentes morfotipos bacterianos, elementos fúngicos y células inflamatorias. Valorar la presencia o no de leucocitos polimorfonucleares y registrar su presencia con esquema no cuantitativo: como aislados (≤ 1

Servicio de Microbiología Hospital.....	Procesamiento microbiológico de los abscesos intraabdominales	PNT-IIA-03	
		Edición N° 01	Página 4 de 5

PMN/campo), escasos (1-10 PMN/campo), moderados (11-25 PMN/campo) y abundantes (>25 PMN/campo).

- Informar los resultados lo antes posible al clínico peticionario y registrarlos en la hoja de trabajo correspondiente a la muestra. Esto permitirá correlacionar los morfotipos visualizados con los aislados.

7.3.2 Cultivos

Examinar diariamente las placas y los medios líquidos. A las 24 horas los incubados en aerobiosis y atmósfera de CO₂ y a las 48 horas los incubados en anaerobiosis

7.3.2.1 Medios sólidos incubados en aerobiosis y atmósfera de CO₂:

- Correlacionar los aislados con los morfotipos observados en la tinción de Gram. Si se obtienen cultivos mixtos realizar subcultivos. Una vez obtenido el cultivo puro realizar una identificación presuntiva mediante pruebas rápidas como tinción de Gram, catalasa, oxidasa, coagulasa en porta, etc. (o definitiva mediante espectrometría de masas MALDI-TOF). Si se considera relevante el hallazgo avisar al clínico responsable del paciente.

- Identificar todos los aislados clínicamente significativos a nivel de especie y realizar las pruebas de sensibilidad a los antibióticos según las normas estandarizadas (CLSI, EUCAST) del año en curso.

- Si no hay crecimiento reincubar todas las placas y reexaminar diariamente hasta el final del periodo de incubación.

7.3.2.2 Medios sólidos incubados en anaerobiosis:

- Examinar las placas para detectar todas las colonias morfológicamente diferentes y aislarlas en cultivo puro. Hacer los reaislamientos necesarios para aislar colonias únicas de todos los morfotipos y correlacionarlos con los observados en la tinción de Gram. Realizar a cada colonia una prueba de aerotolerancia.

- Efectuar identificación y pruebas de sensibilidad a las bacterias aerobias facultativas que no se hayan detectado en los medios incubados en aerobiosis o CO₂ y que se consideren clínicamente significativos.

- Identificar los microorganismos anaerobios aislados. Si se aíslan tres o mas identificar a nivel de especie solo los microorganismos predominantes o aquellos que se consideren especialmente virulentos o resistentes. El resto se informará con una identificación presuntiva (o definitiva mediante MALDI-TOF) según la tinción de Gram, catalasa, y sensibilidad o resistencia a discos de vancomicina, kanamicina y colistina.

- No realizar rutinariamente pruebas de sensibilidad.

- Si no hay crecimiento reincubar las placas y reexaminar diariamente hasta el final del periodo de incubación.

7.3.2.3 Medios líquidos

- Si hay turbidez, realizar tinción de Gram y sembrar los medios generales y selectivos adecuados según los microorganismos observados.

- Si no hay crecimiento visible, reincubar hasta el final del periodo de incubación.

- Si la muestra se ha inoculado sólo en caldo de enriquecimiento, realizar al final del periodo de incubación, un subcultivo "de salida" en medios sólidos (agar chocolate y un medio no selectivo para anaerobios) aunque no se haya observado turbidez.

7.4 CONTROL DE CALIDAD

- Verificar la caducidad de los medios y los estándares de calidad de los medios de cultivo preparados en el laboratorio (control de esterilidad y eficiencia en cada nuevo lote preparado). Comprobar los medios comercializados exentos de control según el documento del CLSI "Quality Control for Commercially Prepared Microbiological Culture Media: Approved Standard. 3 Edition M22-A3". Registrar los resultados de los controles realizados. Si no son adecuados, adoptar medidas correctoras.

- Aplicar un control interno que asegure que el funcionamiento de los reactivos (tinciones), equipos (microscopios, centrifugas, pipetas, incubadores, cabinas de bioseguridad, jarras de anaerobiosis), sistemas de determinación de sensibilidad (manuales o automatizados), sistemas automatizados de identificación, hemocultivos etc. sea el apropiado para los ensayos efectuados. Seguir las recomendaciones de la sección 14.2 "Quality Control" En: Clinical Microbiology Procedures Handbook. Edición actual: Garcia LS. 3th edition, vol.3. Washington DC: ASM Press; 2010.

8. OBTENCIÓN Y EXPRESIÓN DE LOS RESULTADOS

8.1 TINCIÓN DE GRAM

Se indicarán todos los morfotipos visualizados y la presencia de leucocitos polimorfonucleares, que se pueden informar como aislados, escasos, moderados o abundantes

8.2 CULTIVOS

- Si el cultivo es positivo, el informe de resultados incluirá todos los microorganismos aerobios y facultativos aislados que se consideren clínicamente significativos y su sensibilidad a los antimicrobianos.

- También incluirá la identificación de los anaerobios aislados. A nivel de especie los microorganismos predominantes o los considerados especialmente virulentos o resistentes y el resto con una identificación presuntiva (género o grupo). No se informarán resultados de sensibilidad, salvo petición expresa o cuando las condiciones clínicas o microbiológicas lo aconsejen.

- Si el resultado del cultivo es negativo, se emitirá un informe en el que conste "No se aíslan microorganismos" o "Cultivo negativo".

- Cualquier información sobre los cultivos que pueda tener significado clínico y pueda reconducir la actitud terapéutica, debe ser informada con la mayor rapidez posible al clínico responsable del paciente mediante informes provisionales.

Servicio de Microbiología Hospital.....	Procesamiento microbiológico de los abscesos intraabdominales	PNT-IIA-03	
		Edición Nº 01	Página 5 de 5

9. RESPONSABILIDADES

- El proceso de recogida de la muestra es responsabilidad del servicio solicitante. 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.
- El facultativo encargado del área de recepción y procesamiento de muestras del laboratorio es responsable de la supervisión de la recepción, identificación y procesamiento de las muestras, así como del rechazo de las muestras remitidas en condiciones defectuosas (medios de transporte inadecuados, derramadas) y adopción de medidas correctoras.
- El personal técnico es responsable de los procedimientos microbiológicos de identificación y determinación de la sensibilidad a los antimicrobianos, así como del registro de resultados.
- El personal facultativo es responsable de la valoración de la tinción de Gram, lectura de los cultivos y determinación de los microorganismos a valorar, así como de la supervisión del trabajo del personal técnico, comunicación de los resultados preliminares, validación de los resultados definitivos y firma de los informes. También es responsable de mantener al día los procedimientos y responder a las interconsultas.

10. ANOTACIONES AL PROCEDIMIENTO

- Al ser muestras de difícil obtención, con riesgos y molestias para el paciente, y en muchas ocasiones insustituibles, los criterios de rechazo deben reducirse al máximo.
- En la tinción de Gram, el empleo de fucsina (en lugar de safranina) facilita la visualización de los bacilos gramnegativos anaerobios.
- Una vez sembrados los medios para cultivo de bacterias anaerobias, no demorar la incubación para evitar la pérdida de viabilidad de éstas.

11. LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

- El tratamiento antimicrobiano previo a la obtención de la muestra puede dar lugar a cultivos negativos.
- La recogida de muestra sin las medidas de asepsia adecuadas, puede dar falsos resultados positivos por contaminaciones con la microbiota cutánea.
- No aceptar los tubos de drenaje para cultivo microbiológico.
- Un volumen reducido de muestra obliga a establecer prioridades con el clínico peticionario.

12. BIBLIOGRAFÍA

1. Bosanko NC, Chauhan A, Brookes M, Moss M, Wilson PG. Presentations of pyogenic liver abscess in one UK centre over a 15-year period. *J R Coll Physicians Edinb.* 2011; 41:13-17.
2. Garcia LS. *Clinical Microbiology Procedures Handbook*, 3th edition, vol.1, Section 3.13.1 Wound/Abscess and soft tissue cultures. Washington DC: ASM Press; 2010.
3. Levison ME, Bush LM. Peritonitis and intraperitoneal abscesses. En Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (Eds.) *Principles and Practice of Infectious Diseases*. 7th edition. Cap. 71. Philadelphia: Elsevier Inc; 2010.
4. Llenas-García J, Fernández-Ruiz M, Caurcel L, Enguita-Valls A, Vila-Santos J, Guerra-Vales JM. Splenic abscess: A review of 22 cases in a single institution. *Eur J Intern Med.* 2009; 20:537-539.
5. Miller J, Krisner K, Holmes HT: General principles of specimen collection and handling. En: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA. *Manual of Clinical Microbiology*, 9th edition. vol.1 Washington, D.C: ASM Press; 2007.

Servicio de Microbiología Hospital.....	Procesamiento microbiológico de las muestras de origen biliar: líquido biliar, biopsias y materiales protésicos	PNT-IIA-04	
		Edición N° 01	Página 2 de 5

1. PROPÓSITO Y ALCANCE

El objetivo del presente documento es la descripción del procesamiento microbiológico e interpretación de los resultados de los cultivos de muestras de líquido biliar, tejidos o biopsias de la vesícula o de las vías biliares y los materiales protésicos implantados en la vía biliar.

2. FUNDAMENTO

La bilis es estéril pero se puede colonizar con la microbiota del tracto digestivo cuando se produce la obstrucción del conducto cístico, de la vía biliar o una alteración instrumental de la barrera esfinteriana.

Según su localización anatómica se pueden distinguir dos entidades clínicas: las colecistitis, procesos relacionados con la obstrucción e inflamación de la vesícula biliar, y las colangitis, procesos que afectan a las vías biliares. La infección biliar es un proceso grave que en muchos casos requiere el drenaje urgente de la vía biliar mediante procedimientos endoscópicos o quirúrgicos.

Las infecciones biliares son habitualmente polimicrobianas con predominio de los bacilos gramnegativos y los anaerobios. Los microorganismos más frecuentemente aislados son enterobacterias como *E. coli*, *Klebsiella* spp. *Enterobacter* spp. y *Proteus* spp. y anaerobios como *Bacteroides* spp., *Fusobacterium* spp. y *Clostridium* spp.. Los cocos grampositivos como *Enterococcus* spp. y *Streptococcus* spp. se aíslan con menor frecuencia.

El análisis microbiológico de las muestras de origen biliar constituye junto con las técnicas de imagen, la base del diagnóstico de las infecciones de las vías biliares. En el presente procedimiento se describen los métodos a seguir para el procesamiento de estas muestras.

3. DOCUMENTOS DE CONSULTA

- García LS. "Quality Control". En: Clinical Microbiology Procedures Handbook, 3th edition, vol.3. Section 14.2. Washington DC: ASM Press; 2010.

- García JE (Coordinador), Alcalá L, Betriú C, García JE, Reig M. Bacterias anaerobias. Procedimientos en Microbiología Clínica nº 16, 2ª edición. SEIMC 2004. <http://www.seimc.org/documentos/protocolos/microbiologia>

- Loza E (Coordinador), Alomar P, Bernal A, Harto A, Pérez JL, Picazo JJ, Sarazá ML. Seguridad en el laboratorio de microbiología clínica. Procedimientos en Microbiología Clínica nº 10, 1ª edición. SEIMC 2000. <http://www.seimc.org/documentos/protocolos/microbiologia>

- Sánchez C (Coordinador), Guerrero C, Sánchez C. Recogida, transporte y procesamiento general de muestras en el laboratorio de microbiología. Procedimientos en Microbiología Clínica nº 1a, 2ª edición. SEIMC 2003. <http://www.seimc.org/documentos/protocolos/microbiologia>

4. MUESTRAS

4.1 VOLANTE DE PETICIÓN

El volante de petición o la petición electrónica que acompaña a cada muestra debe ser correctamente cumplimentado y en él deberán constar claramente:

- Datos demográficos del paciente (filiación, edad, número de historia), servicio de procedencia y datos del clínico que realiza la petición.
- Datos de la muestra (tipo, localización anatómica, modo y fecha de obtención) y determinaciones microbiológicas solicitadas.
- Datos clínicos (diagnóstico del paciente, enfermedad de base, tratamiento antibiótico previo, alergias medicamentosas).

4.2 RECOGIDA DE LA MUESTRA

- Se recogerán bajo estrictas condiciones de asepsia y preferentemente antes de iniciar el tratamiento antimicrobiano.

- Las muestras se obtienen por procedimientos percutáneos, quirúrgicos o endoscópicos.

- La bilis y abscesos se recogen por aspiración con aguja y jeringa, y se inoculan previa desinfección del tapón de goma, en un medio de transporte de anaerobios, evitando la entrada de aire. Las muestras de tejido y material protésico se recogen en un recipiente estéril de tamaño adecuado y cierre hermético, que no contenga ni formol ni conservantes y se introducen en una bolsa de plástico para anaerobiosis. Opcionalmente se pueden depositar en un tubo con base de agar para anaerobios.

- Las jeringas utilizadas en la aspiración de los abscesos no deben utilizarse como transporte por el riesgo de pinchazos. Pueden ser válidas las jeringas sin agujas, si previamente se elimina el aire en una gasa impregnada con alcohol y se envía con un capuchón estéril.

- Como alternativa se puede inocular el líquido biliar en botellas aerobias y anaerobias de hemocultivo, tanto en el lugar de la toma como a su llegada al laboratorio. La inoculación se realizará con jeringa, previa desinfección del tapón de goma, e inoculando el máximo volumen disponible y hasta un máximo de 10 mL por frasco. En éste caso se deberá enviar por separado, en un envase estéril, un volumen de 1 mL para realizar la tinción de Gram.

4.3 TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN DE LA MUESTRA

- El transporte se realizará de forma inmediata tras la obtención de la muestra a temperatura ambiente. En general, la recuperación de los microorganismos anaerobios disminuye si el tiempo de transporte es superior a las tres horas.

- Deben procesarse inmediatamente tras su llegada al laboratorio, y en caso de que esto no sea posible, conservarse a temperatura ambiente. No deben refrigerarse (excepto solicitud de micobacterias) ni congelarse.

Servicio de Microbiología Hospital.....	Procesamiento microbiológico de las muestras de origen biliar: líquido biliar, biopsias y materiales protésicos	PNT-IIA-04	
		Edición N° 01	Página 3 de 5

- Las muestras inoculadas en botellas de hemocultivo deben seguir las normas del sistema automatizado utilizado.
- Una vez procesadas, conviene conservarlas durante al menos 3-5 días.

4.4 CRITERIOS DE ACEPTACIÓN Y RECHAZO

- Por tratarse de muestras obtenidas por procedimientos quirúrgicos o invasivos se intentará no rechazarlas, pero se indicará en el informe de resultados cualquier incidencia relacionada con su identificación, transporte o conservación.

Se considerarán incidencias relacionadas con la recepción de la muestra:

- Identificación defectuosa: etiquetado erróneo y cumplimentación incompleta del volante de petición/petición electrónica.
- Conservación defectuosa (temperatura inadecuada o medio de transporte inadecuado).
- Muestra insuficiente para las determinaciones solicitadas. En este caso se consultará al clínico responsable de la petición el orden de prioridad de las peticiones.

Se considerarán motivos de rechazo los siguientes:

- Imposibilidad de identificación del paciente
- Muestras no identificadas
- Volantes/peticiones electrónicas sin nombre
- No coincidencia del nombre del paciente en el volante/petición electrónica con el de la muestra
- Muestras derramadas
- Muestras recogidas con torunda
- Muestras recogidas en contenedor no estéril o en formol

5. MEDIOS DE CULTIVO, REACTIVOS Y PRODUCTOS

5.1 MEDIOS DE CULTIVO:

- Agar sangre
- Agar chocolate
- Agar MacConkey /Eosina azul de metileno
- Agar Brucella anaerobios/ agar Schaedler o similar
- Agar sangre lacada con kanamicina, vancomicina (ASLKV) o similar
- Agar Bacteroides bilis esculina (BBE) (optativo)
- Agar Sabouraud con antibióticos
- Caldo de enriquecimiento (tioglicolato/BHI o similar)
- Botellas de hemocultivo aerobias y anaerobias
- Agar *Salmonella-Shigella* /agar Hektoen/ o similar y medio de enriquecimiento como caldo de selenito (si hay sospecha de *Salmonella* spp.).

5.2. REACTIVOS Y PRODUCTOS:

- Colorantes para tinción de Gram.
- Sistemas comerciales generadores de atmósfera anaerobia.

6. APARATOS Y MATERIAL

- Cabina de seguridad biológica tipo II
- Pinzas estériles
- Pipetas Pasteur estériles
- Jeringas y agujas

- Asas de siembra estériles
- Portaobjetos
- Vórtex
- Estufa de aerobiosis a 35-37°C
- Estufa con 5% de CO₂ a 35-37°C
- Jarras de incubación o cámara de anaerobiosis
- Centrífuga
- Microscopio
- Sistema automatizado de incubación de hemocultivos
- Sistema automatizado de identificación y sensibilidad (aerobios-facultativos)
- Sistema de identificación de anaerobios (API o similar)
- MALDI-TOF (deseable)

7. PROCEDIMIENTO

7.1 PREPARACIÓN E INOCULACIÓN DE LA MUESTRA

Las muestras se procesarán tan pronto como se reciban en el laboratorio en una cabina de bioseguridad tipo II.

7.1.1 Líquido biliar y abscesos

- Las muestras inoculadas en botellas de hemocultivos se registran y se introducen en el incubador-lector de crecimiento.
- Las recibidas en envase de transporte para anaerobios se agitan en el vórtex para su homogenización, y se extraen con jeringa, previa desinfección del tapón con povidona yodada, evitando introducir aire en el recipiente y se inoculan con la misma jeringa dos o tres gotas en cada medio de cultivo.
- Las muestras de líquido biliar y abscesos recogidas en un recipiente estéril sin medio de transporte para anaerobios, se inoculan con pipeta estéril depositando dos o tres gotas directamente en los medios de cultivo. Si el absceso es demasiado denso y no se puede recoger con pipeta, la inoculación se hace con asa de siembra.
- Para realizar la tinción de Gram se deposita una gota en un porta con pipeta, jeringa o asa de siembra.

7.1.2 Muestras de tejido, biopsias y materiales protésicos

- Las muestras de tejido o biopsias si son suficientemente grandes se trocean en una placa de Petri estéril con bisturí estéril. Los distintos fragmentos se homogenizan en un mortero estéril con una pequeña cantidad de solución salina o caldo tioglicolato antes de su siembra en los medios de cultivo (aproximadamente 1 mL). Las muestras muy pequeñas que no puedan cortarse se inoculan directamente en el caldo de enriquecimiento.
- Las prótesis biliares se añaden directamente en un caldo de enriquecimiento (tioglicolato o similar).
- La siembra en los medios sólidos convencionales se realizará por agotamiento con asa estéril y los medios líquidos se inocularán con dos o tres gotas.
- Las extensiones para tinciones a partir de muestras de tejidos se realizan mediante impronta sobre el porta o bien a partir de la muestra homogeneizada.

Servicio de Microbiología Hospital.....	Procesamiento microbiológico de las muestras de origen biliar: líquido biliar, biopsias y materiales protésicos	PNT-IIA-04	
		Edición N° 01	Página 4 de 5

7.2 CONDICIONES DE INCUBACIÓN

- Agar sangre, agar chocolate (35-37°C, 5-7% CO₂): 3-5 días.
- Agar Brucella, agar ASLKV (35-37°C, anaerobiosis): 7 días.
- Agar Sabouraud con antibióticos (30°C, aerobiosis): 48 horas.
- Agar MacConkey (35-37°C, aerobiosis): 48 horas.
- Caldo tioglicolato (35-37°C, aerobiosis): 5 días.
- Los medios y caldos para aislamiento de *Salmonella* spp. se incuban en aerobiosis a 35-37°C.

7.3 LECTURA DE CULTIVOS E IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS

7.3.1 Tinción de Gram

- Evaluar la presencia o ausencia de diferentes morfotipos bacterianos, elementos fúngicos y células inflamatorias. Valorar la presencia o no de leucocitos polimorfonucleares y registrar su presencia con esquema no cuantitativo: como aislados (≤ 1 PMN/campo), escasos (1-10 PMN/campo), moderados (11-25 PMN/campo) y abundantes (> 25 PMN/campo).
- Informar los resultados lo antes posible al clínico peticionario y registrarlos en la hoja de trabajo correspondiente a la muestra. Esto permitirá correlacionar los morfotipos visualizados con los aislados.

7.3.2 Cultivos

Examinar diariamente las placas y los medios líquidos. A las 24 horas los incubados en aerobiosis y atmósfera de CO₂ y a las 48 horas los incubados en anaerobiosis.

7.3.2.1 Medios sólidos incubados en aerobiosis y atmósfera de CO₂:

- Correlacionar los aislados con los morfotipos observados en la tinción de Gram. Si se obtienen cultivos mixtos realizar subcultivos. Una vez obtenido el cultivo puro realizar una identificación presuntiva mediante pruebas rápidas como tinción de Gram, catalasa, oxidasa, coagulasa en porta, etc. (o definitiva mediante espectrometría de masas MALDI-TOF).
- Los medios sólidos para aislamiento de *Salmonella* spp. deben examinarse a las 24 y 48 horas y el caldo selenito se resiembró a las 24 horas en agar *Salmonella-Shigella*. A las bacterias lactosa negativas se les realizará una identificación bioquímica que en caso de ser *Salmonella* spp. debe complementarse con la aglutinación mediante antisueros polivalentes. Si se considera relevante el hallazgo avisar al clínico responsable del paciente.
- Identificar todos los aislados clínicamente significativos a nivel de especie y realizar las pruebas de sensibilidad a los antibióticos según las normas estandarizadas (CLSI, EUCAST) del año en curso.
- Si no hay crecimiento, reincubar todas las placas y reexaminar diariamente hasta el final del periodo de incubación.

7.3.2.2 Medios sólidos incubados en anaerobiosis:

- Examinar las placas para detectar todas las colonias morfológicamente diferentes y aislarlas en cultivo puro. Hacer los reaislamientos necesarios para aislar colonias únicas de todos los morfotipos y correlacionarlos con los observados en la tinción de Gram. Realizar a cada colonia una prueba de aerotolerancia.
- Efectuar identificación y pruebas de sensibilidad a las bacterias aerobias facultativas que no se hayan detectado en los medios incubados en aerobiosis o CO₂ y que se consideren clínicamente significativos.
- Identificar los microorganismos anaerobios aislados. Si se aíslan tres o más identificar a nivel de especie solo los microorganismos predominantes o aquellos que se consideren especialmente virulentos o resistentes. El resto se informará con una identificación presuntiva (o definitiva mediante MALDI-TOF) según la tinción de Gram, catalasa, y sensibilidad o resistencia a discos de vancomicina, kanamicina y colistina.
- No realizar rutinariamente pruebas de sensibilidad.
- Si no hay crecimiento reincubar las placas y reexaminar diariamente hasta el final del periodo de incubación.

7.3.2.3 Medios líquidos

- Si hay turbidez, realizar tinción de Gram y sembrar los medios generales y selectivos adecuados según los microorganismos observados.
- Si no hay crecimiento visible, reincubar hasta el final del periodo de incubación.
- Si la muestra se ha inoculado sólo en caldo de enriquecimiento, realizar al final del periodo de incubación, un subcultivo "de salida" en medios sólidos (agar chocolate y un medio no selectivo para anaerobios) aunque no se haya observado turbidez.

7.4 CONTROL DE CALIDAD

- Verificar la caducidad de los medios y los estándares de calidad de los medios de cultivo preparados en el laboratorio (control de esterilidad y eficiencia en cada nuevo lote preparado). Comprobar los medios comercializados exentos de control según el documento del CLSI "Quality Control for Commercially Prepared Microbiological Culture Media: Approved Standard. 3 Edition M22-A3". Registrar los resultados de los controles realizados. Si no son adecuados, adoptar medidas correctoras.
- Aplicar un control interno que asegure que el funcionamiento de los reactivos (tinciones), equipos (microscopios, centrifugas, pipetas, incubadores, cabinas de bioseguridad, jarras de anaerobiosis), sistemas de determinación de sensibilidad (manuales o automatizados), sistemas automatizados de identificación, hemocultivos etc., sea el apropiado para los ensayos efectuados. Seguir las recomendaciones de la sección 14.2 "Quality Control" En: Clinical Microbiology Procedures Handbook. Edición actual: Garcia LS. 3th edition, vol.3. Washington DC:ASM Press; 2010.

Servicio de Microbiología Hospital.....	Procesamiento microbiológico de las muestras de origen biliar: líquido biliar, biopsias y materiales protésicos	PNT-IIA-04	
		Edición N° 01	Página 5 de 5

8. OBTENCIÓN Y EXPRESIÓN DE LOS RESULTADOS

8.1 TINCIÓN DE GRAM

Se indicarán todos los morfotipos visualizados y la presencia de leucocitos polimorfonucleares, que se pueden informar como aislados, escasos, moderados o abundantes.

8.2 CULTIVOS

- Si el cultivo es positivo, el informe de resultados incluirá todos los microorganismos aerobios y facultativos aislados que se consideren clínicamente significativos y su sensibilidad a los antimicrobianos.
- También incluirá la identificación de los anaerobios aislados. A nivel de especie los microorganismos predominantes o los considerados especialmente virulentos o resistentes y el resto con una identificación presuntiva (género o grupo). No se informarán resultados de sensibilidad, salvo petición expresa o cuando las condiciones clínicas o microbiológicas lo aconsejen.
- Si el resultado del cultivo es negativo, se emitirá un informe en el que conste "No se aíslan microorganismos" o "Cultivo negativo".
- Cualquier información sobre los cultivos que pueda tener significado clínico y pueda reconducir la actitud terapéutica, debe ser informada con la mayor rapidez posible al clínico responsable del paciente mediante informes provisionales.

9. RESPONSABILIDADES

- El proceso de recogida de la muestra es responsabilidad del servicio solicitante. 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.
- El facultativo encargado del área de recepción y procesamiento de muestras del laboratorio es responsable de la supervisión de la recepción, identificación y procesamiento de las muestras, así como del rechazo de las muestras remitidas en condiciones defectuosas (medios de transporte inadecuados, derramadas) y adopción de medidas correctoras.
- El personal técnico es responsable de los procedimientos microbiológicos de identificación y determinación de la sensibilidad a los antimicrobianos, así como del registro de resultados.
- El personal facultativo es responsable de la valoración de la tinción de Gram, lectura de los cultivos y determinación de los microorganismos a valorar, así como de la supervisión del trabajo del personal técnico, comunicación de los resultados preliminares, validación de los resultados preliminares y definitivos y firma de los informes. También es responsable de mantener al día los procedimientos y responder a las interconsultas.

10. ANOTACIONES AL PROCEDIMIENTO

- Al ser muestras de difícil obtención, con riesgos y molestias para el paciente, y en muchas ocasiones insustituibles, los criterios de rechazo deben reducirse al máximo.
- En la tinción de Gram, el empleo de fucsina (en lugar de safranina) facilita la visualización de los bacilos gramnegativos anaerobios.
- Una vez sembradas las placas anaerobias, no demorar la incubación para evitar la pérdida de viabilidad de las bacterias anaerobias.

11. LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

- El tratamiento antimicrobiano previo a la obtención de la muestra puede dar lugar a cultivos negativos.
- La recogida de muestra sin las medidas de asepsia adecuadas puede dar falsos resultados positivos por contaminaciones con la microbiota cutánea.
- La demora superior a 3 horas en el transporte de las muestras disminuye la viabilidad de las bacterias anaerobias y puede dar falsos resultados negativos.
- Si la muestra se envía inoculada sólo en botellas de hemocultivo, no es posible realizar la tinción de Gram.
- Un volumen reducido de muestra obliga a establecer prioridades con el clínico petionario.

12. BIBLIOGRAFÍA

1. Citron DM, Appelbaum PC. How far should a clinical laboratory go in identifying anaerobic isolates, and who should pay?. Clin Infect Dis. 1993; 16(Suppl 4): S435-438.
2. Garcia LS. Clinical Microbiology Procedures Handbook, 3th edition, vol.1. Section 3. 5. Body fluids cultures. Washington D.C: ASM Press; 2010.
3. Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML., Pfaller MA. Manual of Clinical Microbiology, 9th edition, Washington D.C: ASM Press; 2007.
4. Rosenblatt JE. Can we afford to do anaerobic cultures and identification?. A positive point of view. Clin Infec Dis. 1997; 25(Suppl 2):S127-131.
5. Sifri CD, Madoff LC. Infections of the liver and biliary system. In: Mandell GL, Bennett JE, Dollin R (Eds.) Principles and Practice of Infectious Diseases. 7th edition. Cap. 72. Philadelphia: Elsevier Inc; 2010.