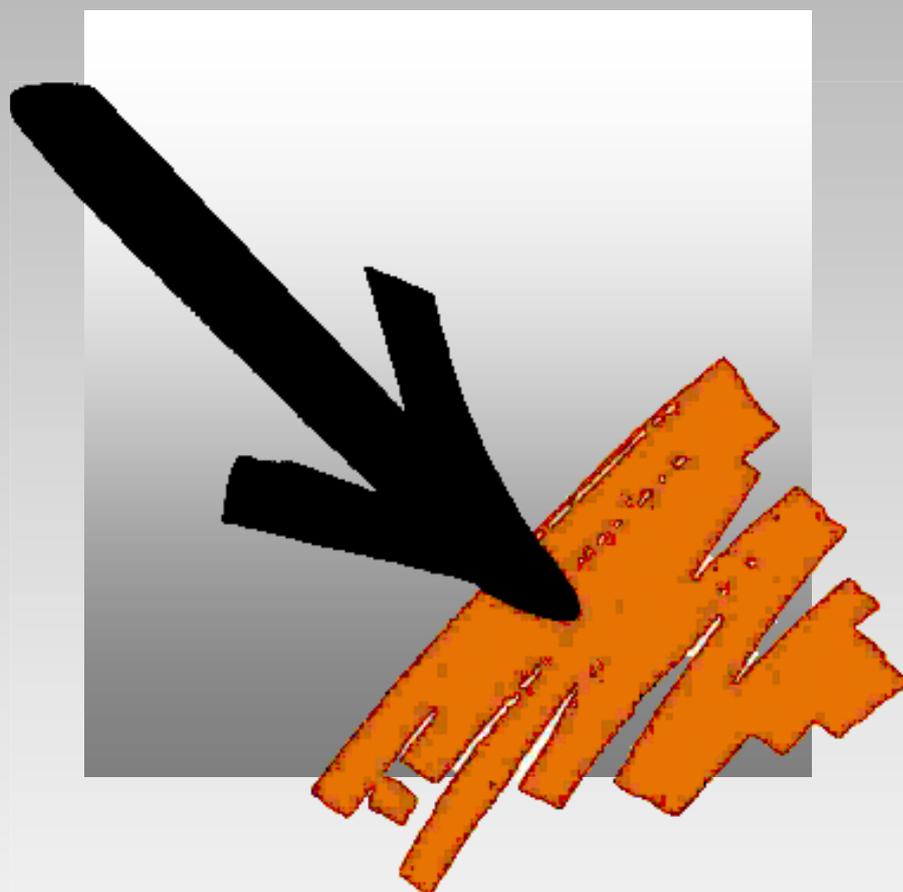


DOCUMENTO TÉCNICO GNEAUPP N° IV

“Toma de muestras para el laboratorio de microbiología. Procedimientos y recomendaciones”

2ª Edición. Noviembre de 2018



**GRUPO NACIONAL PARA EL ESTUDIO
Y ASESORAMIENTO EN ÚLCERAS
POR PRESIÓN Y HERIDAS CRÓNICAS**



EL PRESENTE DOCUMENTO TÉCNICO DE CONSENSO FUE ELABORADO POR EL PANEL DE EXPERTOS INTEGRADO POR:

Prof. Dr. JOSÉ VERDÚ SORIANO

Enfermero. Doctor por la Universidad de Alicante. Máster Oficial en Ciencias de la Enfermería. Departamento de Enfermería Comunitaria, Medicina Preventiva y Salud Pública e Historia de la Ciencia, Universidad de Alicante. Miembro del Comité Director del GNEAUPP

Dr. PABLO LÓPEZ CASANOVA

Enfermero. Master en Ciencias de la Enfermería. Doctor por la Universidad de Alicante. Centro de Salud de Onil. Departamento de Salud Alcoy. Miembro del Comité Director del GNEAUPP

Dra. M^a ISABEL SÁNCHEZ ROMERO

Doctora en Medicina y Cirugía. Especialista en Microbiología y Parasitología. Profesor Asociado del Departamento de Medicina Preventiva y Microbiología, Facultad de Medicina, Universidad autónoma de Madrid.

D^a TERESA SEGOVIA GÓMEZ

Enfermera. Miembro del Comité Director del GNEAUPP. Madrid.

Como citar este documento:

Verdú Soriano, J; López- Casanova, P; Sánchez Romero. I; Segovia Gómez, T. Toma de muestras para el laboratorio de microbiología. Procedimientos y recomendaciones. Serie Documentos Técnicos GNEAUPP nº IV. Grupo Nacional para el Estudio y Asesoramiento en Úlceras por Presión y Heridas Crónicas. Logroño. 2018.

© 1995 GNEAUPP – 1^a edición

© 2018 GNEAUPP – 2^a edición

ISBN-13: 978-84-09-06690-2

Edición y producción: GNEAUPP

Imprime: GNEAUPP

Fotografías: Gloria Segura Jordá.

Los autores del documento y el Grupo Nacional para el Estudio y Asesoramiento en Úlceras por Presión y Heridas Crónicas, firmemente convencidos de que el conocimiento debe circular libremente, autorizan el uso del presente documento para fines científicos y/o educativos sin ánimo de lucro, siempre que sea citado el mismo de manera adecuada.

Queda prohibida la reproducción total o parcial del mismo sin la expresa autorización de los propietarios intelectuales del documento cuando sea utilizado para fines en los que las personas que los utilicen obtengan algún tipo de remuneración, económica o en especie.

Documento avalado por:



Cátedra de Estudios
Avanzados en Heridas



“Toma de muestras para el laboratorio de microbiología. Procedimientos y recomendaciones”

Reconocimiento – NoComercial – CompartirIgual (by-nc-sa): No se permite un uso comercial de la obra original ni de las posibles obras derivadas, la distribución de las cuales se debe hacer con una licencia igual a la que regula la obra original.



0. ÍNDICE.

1. Introducción	7
2. Estado actual del conocimiento	11
2.1. Condiciones generales	11
2.1.1. Información que debe acompañar a la muestra	12
2.1.2. Envases utilizados	12
2.1.3. Conservación y transporte de las muestras hasta su procesamiento	13
2.2. Toma de muestras para identificación de microorganismos planctónicos, basados en el cultivo y/o inmunohistoquímica	13
2.2.1. Toma de muestras con hisopo o torunda	13
2.2.2. Toma de muestras por punción-aspiración	17
2.2.3. Toma de muestras por biopsia de tejido	20
2.3. Toma de muestras para identificación de microorganismos formando biofilm	22
2.3.1. Toma de muestras por biopsia de tejido (ver 2.2.3)	22
2.3.2. Toma de muestras por desbridamiento de tejido	22
3. Recomendaciones para los investigadores	24
4. Bibliografía	25
5. Anexos	27
Anexo 1. Algoritmo clínico para la identificación de biofilm en heridas crónicas	27



1. INTRODUCCIÓN.

La piel es un órgano en el que se encuentran numerosos microorganismos, denominados en conjunto, como microbiota de la piel (anteriormente se usaba el término flora de la piel). La mayoría son bacterias no patógenas, sino de tipo comensal (se alimentan en la piel, pero no la dañan) o mutualistas (se alimentan y ofrecen algún beneficio).

Cuando se produce una herida, la piel pierde la integridad y permite la entrada de microorganismos al interior del organismo, los cuales pueden proliferar y crecer a expensas del tejido muerto o desvitalizado presente.

Tradicionalmente, en el cuidado de las heridas, hemos trasladado nuestro conocimiento de las heridas agudas a las heridas crónicas sin pararnos a pensar si estas lesiones se comportaban igual o de manera diferente en la clínica. Así, se puede aceptar que en todas las heridas crónicas hay presencia de bacterias, al igual que en la piel sana, pero eso no supone que todas las heridas estén infectadas.

Desde el punto de vista “clásico” de la microbiología, aparecen en escena nuevos términos relacionados con el estado bacteriano y su posterior tratamiento, como: carga bacteriana, carga necrótica, equilibrio bacteriano, elevada carga bacteriana, colonización crítica, etc., que se suman a los clásicos términos de contaminación, colonización e infección. Así, los términos clásicos y vistos de una manera estática se convierten en un concepto dinámico, denominado, por algunos autores, el “*continuum de la infección*”, donde, en función de las variables críticas que afectan a la herida: cantidad de tejido necrótico, nº de microorganismos, virulencia bacteriana y respuesta inmune de la persona, podemos tener heridas que van a poder pasar de contaminación a infección o viceversa.

Generalmente, se definen las diferentes situaciones respecto a la microbiología de las heridas como sigue:



Introducción

- Contaminación: cuando hay presencia de microorganismos en la superficie de la lesión pero estos no están adheridos a la misma, no se reproducen y no se objetiva ninguna respuesta del huésped. Se asume que todas las heridas están contaminadas.
- Colonización: Las bacterias presentes en la lesión están fijadas al lecho, se reproducen pero no causan respuesta en el huésped. Se asume que todas las heridas crónicas están colonizadas.
- Infección: las bacterias que se estaban multiplicando en el lecho, penetran el tejido sano y causan daño y reacción de defensa en el huésped.

El diagnóstico de infección es clínico, a partir de los signos y síntomas de la misma, pero, en muchas ocasiones se visualizan lesiones que no presentan reacción o respuesta en el huésped y, sin embargo, presentan un retraso en su cicatrización, haciendo pensar que pudiera haber un problema relacionado con la cantidad de microorganismos presentes. A este concepto se le denominó “colonización crítica”. Este concepto se hizo “fuerte” al enunciar el mencionado “continuum de la infección”. No obstante, el último consenso del WoundInfectionInstitute de 2016, recomienda dejar de utilizar este término por su imprecisión y dificultad de diagnóstico, además de cuadrar de manera plausible con el moderno concepto de “biofilm bacteriano”.

Podríamos definir un biofilm como: *“un ecosistema microbiano organizado, conformado por una o varias especies de microorganismos asociados a una superficie viva o inerte, con características funcionales y estructurales complejas”*. Este tipo de conformación microbiana ocurre cuando las células planctónicas se adhieren a una superficie o sustrato, formando una comunidad, que se caracteriza por la excreción de una matriz extracelular adhesiva protectora.

Dichas comunidades se ha visto que están presentes en las heridas crónicas (hasta el 80% de ellas pueden tener biofilms) y su organización y estructura hace

que tengamos que aproximarnos a su identificación y abordaje desde una perspectiva diferente.

Para enlazar el paradigma clásico con el paradigma del biofilm, recordaremos que todas las heridas abiertas se considera que están contaminadas. Consecuentemente, a medida que en la lesión aparece tejido desvitalizado, el lecho de la herida favorece la proliferación. A medida que la carga bacteriana (bioburden) se incrementa, las demandas sobre el sistema inmune del huésped también aumentan. Como respuesta, si la carga bacteriana de la herida no es suprimida por las defensas del huésped, entonces esta continuará aumentando. El incremento en la cantidad de bacterias en la herida aumentará el riesgo de infección clínica, que ocurrirá, a no ser que se utilicen medidas apropiadas tales como el desbridamiento del tejido desvitalizado y la administración de antimicrobianos tópicos/sistémicos.

En este momento y a partir de la aparición del paradigma del biofilm estamos en disposición de hacer una propuesta de estadios de progresión de la microbiología de una herida hacia la infección clínica. Estos estadios se consideran estancos pero en realidad, y a menudo, pueden estar solapados.

Se pueden establecer 6 estadios en el desarrollo de la carga bacteriana de una herida:

Estadio 1: Contaminación o estadio transitorio

Estadio 2: Colonización fase 1 o adhesión reversible

Estadio 3: Colonización fase 2 o adhesión irreversible

Estadio 4: Colonización crítica o comunidad clímax o Biofilm

Estadio 5: Infección local

Estadio 6: Infección sistémica

Cuando se establece el criterio de infección en la clínica, lo habitual es solicitar un diagnóstico microbiológico del germen o gérmenes que están produciendo



Introducción

esta situación. Normalmente, suele existir confusión en los métodos de toma de muestra para que estos sean correctamente obtenidos. ¿Cómo se debería recoger una muestra? ¿Cuál es el mejor momento para tomar la muestra?

Así, está generalmente aceptado que es inapropiado tomar muestras de todas las heridas, pero la consistencia en la práctica es muy variable. En general, la toma de muestras de una herida solo estaría recomendada si la herida está fallando en su evolución, se deteriora, aumenta de tamaño, está siendo evaluada para ver si tiene microorganismos resistentes a los antibióticos, y está clínicamente infectada y no ha respondido a la terapia empírica antimicrobiana.

Los métodos tradicionales de toma de muestras son la toma de muestras con hisopo o escobillón, la aspiración de tejido (normalmente conocida como punción-aspiración) y la biopsia. Con la teoría del biofilm, una de las técnicas de recogida de muestras para estudio que se presenta como válida sería el desbridamiento radical mediante bisturí, tijera o cureta.

Así pues, el objetivo de este documento es proporcionar conocimiento actualizado y acorde a la evidencia científica, sobre el procedimiento de recogida o toma de muestras en las heridas crónicas. En el anexo se presenta un algoritmo, adaptado de Metcalf et al, para ayudar en la toma de decisiones sobre que método de toma de muestras sería adecuado.

2. ESTADO ACTUAL DEL CONOCIMIENTO.

Los procedimientos y recomendaciones que se enuncian aquí, están basados principalmente, en el documento: *1b Recogida, transporte y procesamiento general de las muestras en el laboratorio de Microbiología en: "Procedimientos de Microbiología Clínica. Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (2017)".*

Se recomienda, no obstante, el contacto previo con el Laboratorio de Microbiología de referencia para coordinar estos procedimientos.

Tan importante como la recogida de muestras son: la información que debe acompañar a la misma, la conservación y el transporte.

2.1 CONSIDERACIONES GENERALES

En términos generales, se recomienda obtener la muestra antes de iniciar un tratamiento antibiótico empírico y únicamente de aquellas lesiones que presenten signos clásicos de infección: dolor, eritema, edema, calor, absceso, celulitis y exudado (seroso con inflamación, sero-purulento, hemo-purulento, pus).

En heridas crónicas aparecen otros signos de infección local: como la aparición súbita, el aumento o el cambio en las características del dolor, retraso de la cicatrización, edema alrededor de la herida, tejido de granulación friable, mal olor o cambio en el olor, cambio en el color del lecho de la herida, aumento o cambio de las características del exudado, exudado purulento, induración y/o formación de bolsas/puentes.



2.1.1 Información que debe acompañar a la muestra

- Cada muestra deberá de ir acompañada de un volante de petición o una petición electrónica y estar perfectamente identificada.
- En la peticiones conveniente anotar lo siguiente:
 - Fecha y hora de la toma
 - Tratamientos antimicrobianos previos, especificando los fármacos y el que estuviese tomando en ese momento.
 - Enfermedad/es de base
 - Tipo de muestra y su localización anatómica
 - Determinaciones microbiológicas solicitadas

2.1.2 Envases utilizados

Hay varios tipos de envases en los que se pueden recoger este tipo de muestras, pero para todos, una característica común, es que sean estériles y con cierre a prueba de fugas.

-Torundas o hisopos estériles: habitualmente se utilizan las de alginato cálcico para el cultivo de bacterias y hongos, que pueden tener la superficie de absorción lisa o flocada y el mango preferiblemente de plástico. NO utilizar torundas secas, deben llevar un medio de transporte tipo Stuart-Amies o específico para anaerobios.

-Viales y tubos con atmósfera anaerobia: específicos para el estudio de microorganismos anaerobios, contienen un medio de transporte semisólido con un agente reductor y un indicador. Cualquier coloración azul de dicho medio, indica exposición al aire.

-Jeringas para la obtención de aspirados, que se emplean cuando hacemos la toma de muestra por punción aspiración y/o cuando la cantidad de muestra es mínima y son útiles también para el estudio de anaerobios si el procesamiento de la muestra se realiza de forma inmediata. Para ello hay que eliminar el aire y

cerrar con un tapón estéril desechando la aguja que hemos utilizado para la toma.

-Contenedores estériles de boca estrecha, que deben ser apropiados al tamaño de la muestra y que permitan mantenerla en condiciones adecuadas de humedad.

2.1.3 Conservación y transporte de las muestras hasta su procesamiento

- Es conveniente la toma junto a la cama del paciente.
- Efectuar la toma en el sitio exacto de la lesión, con las máximas condiciones de asepsia, que eviten la contaminación de microorganismos exógenos.
- Todas las muestras deberán ser enviadas lo más rápidamente al laboratorio.
- Dejarlas hasta su envío en medio ambiente. No obstante, si su envío se va a retrasar, se pueden introducir en nevera, por ejemplo, si se toma en una residencia o centro de salud y no se envían al hospital hasta el día siguiente. Ahora, las torundas que llevan medio de transporte para anaerobios, si permiten que se metan en nevera

2.2 TOMA DE MUESTRAS PARA IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS PLANCTÓNICOS, BASADOS EN EL CULTIVO Y/O INMUNOHISTOQUÍMICA

2.2.1 Toma de muestras con hisopo o torunda

Recordar que todas las lesiones abiertas están colonizadas por bacterias. Por tanto, no es la toma ideal para cultivo.

La muestra obtenida mediante frotis de la herida puede detectar sólo los contaminantes de superficie y no reflejar el verdadero microorganismo que provoca la infección tisular, teniendo un dudoso valor diagnóstico.

Permiten recoger una escasa cantidad de muestra que fácilmente se deseca por lo que hay que utilizar hisopos con medio, así pues, se recomienda que la torunda sea de alginato cálcico y el medio de transporte específico (por ejemplo, Amies/Stuart y/o medio de transporte para anaerobios).



Estado actual del conocimiento

No obstante, debe utilizarse este método cuando no se pueda recoger la muestra mediante los otros métodos que se exponen a continuación. Por otro lado, y dado lo habitual de esta práctica en los diferentes niveles asistenciales de nuestro entorno, recomendamos un escrupuloso respeto al procedimiento que se presenta, con el fin de mitigar al máximo esas aludidas falsas responsabilidades infectivas.

Material necesario:

- Gasas estériles
- Guantes, preferiblemente estériles
- Suero Fisiológico
- Jeringa estéril
- Aguja estéril 0.9x25
- 2 Torundas con medio de transporte tipo Stuart-Amies
- Cureta
- Bisturí nº 18
- Pinza de disección sin dientes.

Procedimiento:

- Retirar el apósito que recubre la lesión
- Si fuera preciso, proceda a realizar desbridamiento cortante de la lesión. Si la herida presenta sospecha de biofilm, al realizar la toma por este método, el resultado sería negativo. Por lo tanto, hay que proceder a la retirada del mismo, la mejor manera es con una cureta (Si se quiere proceder al diagnóstico de biofilm, véase el apartado 2.3).
- Aclare de forma meticulosa la herida con suero fisiológico estéril antes de proceder a la toma de la muestra. Foto 1



Foto 1

- Rechace el pus para el cultivo
- No frote la herida con fuerza para evitar sangrado
- Utilice dos hisopos estériles, uno se empleará para inocular los medios de cultivo y el otro para realizar la extensión para tinción de Gram.
- Utilice la **TÉCNICA DE LEVINE**: La técnica de hisopo de Levine consiste en la rotación de un hisopo sobre un área de 1 cm², con presión suficiente para extraer fluido desde dentro del tejido de la herida. Siga una toma de muestras seriadas según el movimiento de agujas del reloj (fotos 2-5) Realice la misma operación con los dos hisopos.



Fotos 2 y 3





Fotos 4 y 5

- Coloque los hisopos dentro de un tubo con medio de transporte (foto 6-7). Como se ha mencionado, existen en el mercado hisopos libres de oxígeno que facilitarían la detección de bacterias anaerobias



Fotos 6-7

Recomendaciones sobre la toma de muestras con hisopo

Recomendaciones para la práctica clínica	Nivel de Evidencia
<ul style="list-style-type: none"> • Aunque, en general, no se recomienda tomar muestras superficiales mediante torunda/hisopo, es un método sencillo, barato y no invasivo y conveniente para la mayoría de las heridas abiertas 	BAJA
<ul style="list-style-type: none"> • Utilice la Técnica de Levine para la toma de muestra con hisopo 	MODERADA
<ul style="list-style-type: none"> • Para un mejor resultado, la herida debe estar previamente limpia y desbridada 	ALTA
<ul style="list-style-type: none"> • La toma de muestra con hisopo no está indicada para el diagnóstico de biofilm 	ALTA

2.2.2. Toma de muestras por punción-aspiración

Es el mejor método por su sencillez y facilidad para obtener muestras de úlceras, abscesos y heridas superficiales, especialmente para la búsqueda de bacterias anaerobias.

Material necesario:

- Gasas estériles
- Guantes, preferiblemente estériles
- Alcohol etílico o isopropílico de 70°
- Antiséptico (Povidona iodada al 10 % o Clorhidrato de Clorhexidina al 2%) *
- Jeringa estéril de 5 ml
- 2 agujas IM (0.8 x 40)
- Suero Fisiológico 0,9%
- Medio de transporte para bacterias aerobias-anaerobias

* Según el antiséptico empleado, hay que tener en cuenta el tiempo de espera para realizar la punción: Povidona iodada 3 minutos, Clorhidrato de Clorhexidina 30 segundos

Procedimiento:

- Retirar apósito que cubre la herida
- La punción se realiza a través de la piel integra de la piel periulceral, seleccionando el lado de la lesión con mayor presencia de tejido de granulación, ausencia de necrosis o esfacelos.
- Limpiar de forma concéntrica esa zona de punción con alcohol etílico o isopropílico al 70%. Foto 8





Foto 8

- A continuación, aplicar el antiséptico, dejándolo actuar el tiempo indicado para que ejerza su acción.
- Realizar una punción-aspiración con la jeringa y aguja manteniendo una inclinación aproximada de 45° y aproximándose al nivel de la pared de la lesión (foto 9). El volumen óptimo de aspirado se establece entre 1 y 5 ml.



Foto 9

- En procesos no supurativos, completar la aspiración con 0,5ml o 1 ml de suero fisiológico.
- Una vez realizada la aspiración, se debe expulsar el aire de la jeringa, tapando la aguja con una gasa estéril impregnada en alcohol para eliminar el riesgo de aerosoles.

- A continuación, se debe cambiar la aguja por otra estéril e inocular el contenido, previa desinfección del tapón de goma, en un vial de transporte para anaerobios. Si se carece de este medio de transporte, alternativamente, se puede tapar el cono de la jeringa con un tapón utilizar una aguja, sin utilizar, con su capuchón correspondiente, asegurarlo bien y enviar así la muestra al laboratorio lo antes posible. Foto 10.



Foto 10

- Resguardar los viales de transporte para anaerobios de la luz (se aconseja tapar con papel de aluminio) y mantener a una temperatura entre 2 y 25°, no poner en nevera.
- Es importante anotar en la petición y en el frasco de transporte la cantidad de suero añadido en la extracción para facilitar el contaje posterior.

Recomendaciones sobre la toma de muestras por punción-aspiración

Recomendaciones para la práctica clínica	Nivel de Evidencia
• Es el mejor método para la búsqueda de bacterias anaerobias planctónicas	ALTA
• Se recomienda su uso frente a la toma de muestras con hisopo	ALTA



2.2.3. Toma de muestras por biopsia de los tejidos

Es un procedimiento de elección y alta efectividad diagnóstica, pero generalmente restringido su uso a la atención especializada. Se debe tener en cuenta que es un método cruento, que daña el lecho de la herida y puede provocar sangrado.

Material necesario:

- Gasas estériles
- Guantes, preferiblemente estériles
- Suero fisiológico
- Antiséptico (Povidona iodada al 10 % o Clorhidrato de Clorhexidina al 2%)
- Contenedor estéril de plástico con tapón de rosca
- Pinza de disección sin dientes
- Bisturí nº 18
- Punch de 5 mm.
-

Procedimiento:

- Retirar apósito que cubre la herida
- Limpieza de la herida con suero fisiológico.
- Antisepsia (Povidona iodada al 10 % o Clorhidrato de Clorhexidina al 2%)
- Desbridamiento cortante de restos necróticos y esfacelos, si fuese necesario
- Si se desbrida, volver a aplicar suero fisiológico y secar con gasas (foto 11)



Foto 11

- Tomar dos muestras de distinto sitio de la herida con el punch.(foto 12)



Foto 12

- Introducir las muestras en el contenedor estéril, añadir unas gotas de suero fisiológico para evitar la desecación, asegurarse que queda bien cerrado.

Recomendaciones sobre la toma por biopsia de los tejidos

Recomendaciones para la práctica clínica	Nivel de Evidencia
<ul style="list-style-type: none"> • La biopsia se considera el “goldstandard” para la toma de muestras, pero su coste, riesgo-beneficio y concordancia con los otros métodos aconsejan usarlo solo en casos asilados y en ambiente especializado 	ALTA



2.3 TOMA DE MUESTRAS PARA IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS FORMANDO BIOFILM

Además de las recomendaciones del documento: *1b Recogida, transporte y procesamiento general de las muestras en el laboratorio de Microbiología en: "Procedimientos de Microbiología Clínica. Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC, 2017)",* en este caso, también se ha tenido en cuenta la evidencia generada en el documento de la European Society for Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID, 2014): *"Høiby N, Bjarnsholt T, Moser C et al. ESCMID guideline for the diagnosis and treatment of biofilm infections 2014. Clin Microbiol Infect 2015; 21: S1–S25".*

2.3.1 Toma de muestras por biopsia (ver 2.2.3)

2.3.2 Toma de muestras por desbridamiento de tejidos

Material necesario:

- Gasas estériles
- Guantes, preferiblemente estériles
- Suero fisiológico
- Antiséptico (Povidona iodada al 10 % o Clorhidrato de Clorhexidina al 2%)
- Contenedor estéril de plástico con tapón de rosca
- Pinza de disección sin dientes
- Preferiblemente, curéter o cureta. Si no es posible, bisturí o tijeras.

Procedimiento:

- Retirar apósito que cubre la herida
- Limpieza de la herida con suero fisiológico. Foto 13



Foto 13

- Antisepsia (Povidona iodada al 10 % o Clorhidrato de Clorhexidina al 2%)
- Desbridamiento cortante de la zona con sospecha de biofilm
- Posteriormente, volver a limpiar con SSF y realizar antisepsia
- Introducir las muestras en el contenedor estéril, añadir unas gotas de suero fisiológico para evitar la desecación, asegurarse que queda bien cerrado.

Recomendaciones sobre la toma de muestras para identificación de microorganismos formando biofilm

Recomendaciones para la práctica clínica	Nivel de Evidencia
• La biopsia de tejidos es el método más fiable para la identificación de biofilms en heridas	ALTA
• El uso de toma de muestras con hisopo no está recomendado, salvo que no se pueda utilizar ningún otro método, y solo para la elección de la terapia antibiótica	ALTA
• Si se sospecha una infección de moderada a severa de los tejidos blandos, se debería tomar una muestra por desbridamiento de los mismos, mediante curetaje	ALTA



3. RECOMENDACIONES PARA LOS INVESTIGADORES.

- A pesar de que hay cierto nivel de evidencia, se deberían llevar a cabo investigaciones sobre la concordancia de la toma de muestras tanto para microorganismos planctónicos como para aquellos que se sospecha que están formando biofilm.
- Se debe investigar si estos procedimientos son igual de eficaces/efectivos tanto para bacterias como para hongos.

4. BIBLIOGRAFÍA.

Dowd, S.E., Wolcott, R.D., Kennedy, J., Jones, C. & Cox, S.B. (2011). Molecular diagnosis and personalised medicine in wound care: assessment of outcomes. *Journal Wound Care*, 20(5), 232-9

García-LechuzMoya JM, González López JJ, Orta Mira N, Sánchez Romero MI. Recogida, transporte y procesamiento general de lasmuestras en el Laboratorio de Microbiología (2017). 1b. Sánchez Romero MI (coordinadora). Procedimientos en MicrobiologíaClínica.CercenadoMansilla E, Cantón Moreno R (editores). Sociedad Española de EnfermedadesInfecciosas y MicrobiologíaClínica (SEIMC). 2017.

Haalboom M, Blokhuis-Arkes MHE, Beuk RJ (2018). Wound swab and wound biopsy yield similar culture results. *Wound Repair Regen*; 26(2), 192-199. doi: 10.1111/wrr.12629.

Han A, Zenilman JM, Melendez JH et al (2011). The importance of a multi-faceted approach to characterizing the microbial flora of chronicwounds.Wound Repair Regen, 19(5), 532–541. doi:10.1111/j.1524-475X.2011.00720.x.

Høiby N, Bjarnsholt T, Moser C et al. ESCMID guidelineforthe diagnosis and treatment of biofilm infections 2014 (2015). *ClinMicrobiolInfect*, 21, S1–S25 <http://dx.doi.org/10.1016/j.cmi.2014.10.024>

Honaker J, Ammons C, Kelechi T (2016). IncorporatingCutaneous and WoundBacterialBioburdenBiomarkersintoClinicalResearch: A Review of BestPractices.*AdvSkinWoundCare*,29(9), 422-30. doi: 10.1097/01.ASW.0000489561.52393.0e.

Kalan L, Grice EA (2018). Fungi in theWoundMicrobiome.*AdvWoundCare (New Rochelle)*, 7(7), 247-255. doi: 10.1089/wound.2017.0756.

Kallstrom G (2014). Are QuantitativeBacterialWound Cultures Useful?*J ClinMicrobiol*, 52(8), 2753-6. doi: 10.1128/JCM.00522-14

Metcalf DG, Bowler PG, Hurlow J (2014). A clinical algorithm for wound biofilm identification. *Journal of Wound Care*, 23(3), 137–42

Misic AM, Gardner SE, Grice EA (2014). The Wound Microbiome: Modern Approaches to Examining the Role of Microorganisms in Impaired Chronic Wound Healing.*Adv Wound Care (New Rochelle)*, 3(7), 502-510.DOI: 10.1089/wound.2012.0397

Nelson A, Wright-Hughes A, Backhouse MR et al (2018). CODIFI (Concordance in Diabetic Foot Ulcer Infection): a cross-sectional study of woundswab versus tissue samplingin infected diabetic footulcers in England. *BMJ Open*, 8:e019437.doi:10.1136/bmjopen-2017-019437



Bibliografía

Nelson EA, Wright-Hughes A, Brown S, Lipsky BA, Backhouse M, Bhogal M, et al (2016). Concordance in diabetic foot ulceration: a cross-sectional study of agreement between wound swabbing and tissue sampling in infected ulcers. *Health Technol Assess*, 20(82). DOI: 10.3310/hta20820

Nelson EA, O'Meara S, Craig D, Iglesias C, Golder S, Dalton J, et al (2006). A series of systematic reviews to inform a decision analysis for sampling and treating infected diabetic foot ulcers. *Health Technol Assess*, 10(12).

Parikh AR, Hamilton S, Sivarajan V, Withey S, Butler PE (2007). Diagnostic fine-needle aspiration in postoperative wound infections is more accurate at predicting causative organisms than wound swabs. *Ann R Coll Surg Engl*, 89(2), 166-7. doi: 10.1308/003588407X155761

Ramsay S, Cowan L, Davidson JM, Nanney L, Schultz G (2016). Wound samples: moving towards a standardised method of collection and analysis. *Int Wound J*, 13, 880-891

Schmohl M, Beckert S, Joos TO, Königsrainer A, Schneiderhan-Marra N, Löffler MW (2012). Superficial wound swabbing: a novel method of sampling and processing wound fluid for subsequent immunoassay analysis in diabetic foot ulcerations. *Diabetes Care*, 35(11), 2113-20. doi: 10.2337/dc11-2547

Torregrosa Jerez L. (2015). Métodos de diagnóstico para la identificación de Biofilm en heridas crónicas. Revisión sistemática. Retrieved from <http://rua.ua.es/dspace/handle/10045/47746>

Vyas KS, Wong LK (2016). Detection of Biofilm in Wounds as an Early Indicator for Risk for Tissue Infection and Wound Chronicity. *Ann Plast Surg*, 76(1), 127-31. doi: 10.1097/SAP.0000000000000440.

Wolcott, R.D., Cox, S.B. & Dowd, S.E. (2010). Healing and healing rates of chronic wounds in the age of molecular pathogen diagnostics. *Journal of Wound Care*, 19(7), 272-81.

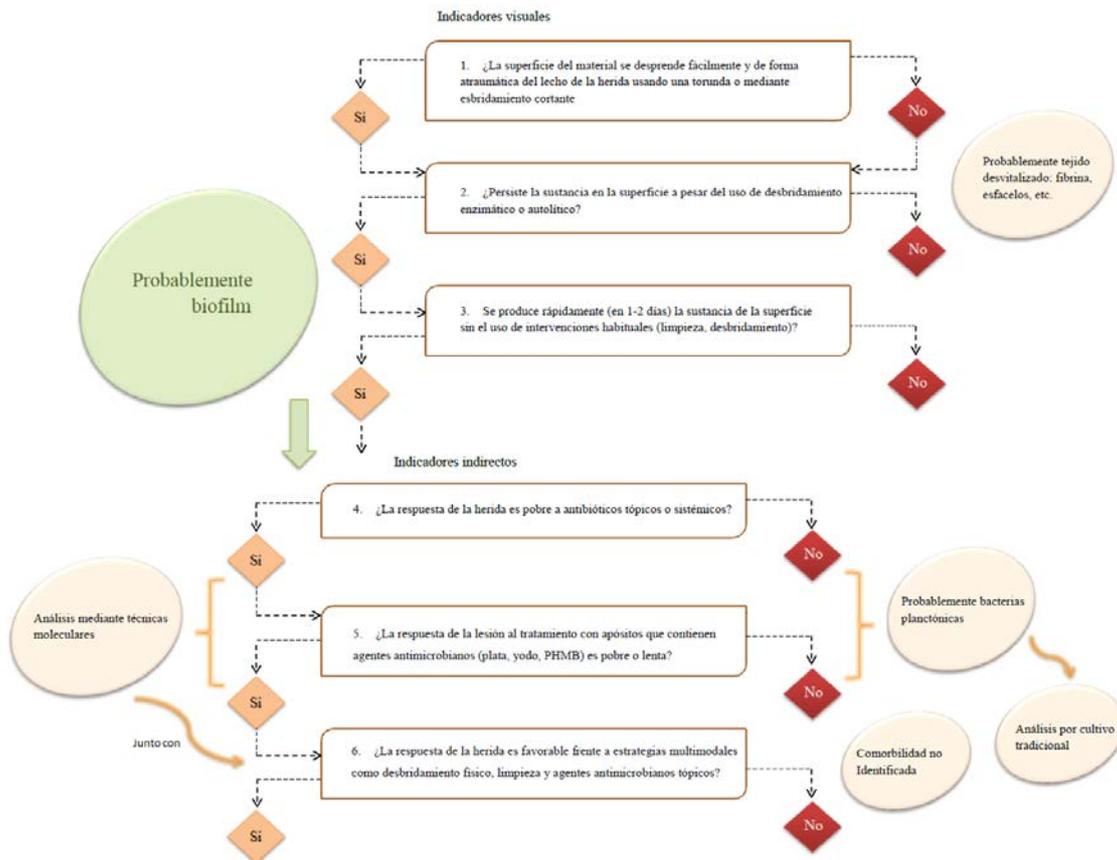
Wolcott, R.D. & Dowd, S.E. (2011). The role of biofilms: are we hitting the right target? *Plastic and Reconstructive Surgery*, 127, 1, 28-35.

Wolcott, R.D., Gontcharova, V., Sun, Y. & Dowd, S.E. (2009). Evaluation of the bacterial diversity among and within individual venous leg ulcers using bacterial tag-encoded FLX and titanium amplicon pyrosequencing and metagenomic approaches. *BMC Microbiol*, 27(9), 226. doi:10.1186/1471-2180-9-226

Wolcott, R.D., Rhoads, D.D., Bennet, M.E., Wolcott, B.M., Gogokhia, L., Costerton, J.M., et al. (2010). Chronic wounds and the medical biofilm paradigm. *Journal of Wound Care*, 19(2), 48-53.

5. ANEXOS

5.1. ALGORITMO CLÍNICO PARA LA IDENTIFICACIÓN DE BIOFILM EN HERIDAS CRÓNICAS.



Adaptado de Metcalf et al. (2014). Basado en Metcalf (2014), Wolcott et al. (2011), Dowd et al. (2011).



Como citar este documento:

Verdú Soriano, J; López- Casanova, P; Sánchez Romero. I; Segovia Gómez, T. Toma de muestras para el laboratorio de microbiología. Procedimientos y recomendaciones. Serie Documentos Técnicos GNEAUPP nº IV. Grupo Nacional para el Estudio y Asesoramiento en Úlceras por Presión y Heridas Crónicas. Logroño. 2018.

© 1995 GNEAUPP – 1ª edición

© 2018 GNEAUPP – 2ª edición

ISBN-13: 978-84-09-06690-2

Edición y producción: GNEAUPP

Imprime: GNEAUPP

Fotografías: Gloria Segura Jordá.

Los autores del documento y el Grupo Nacional para el Estudio y Asesoramiento en Úlceras por Presión y Heridas Crónicas, firmemente convencidos de que el conocimiento debe circular libremente, autorizan el uso del presente documento para fines científicos y/o educativos sin ánimo de lucro, siempre que sea citado el mismo de manera adecuada.

Queda prohibida la reproducción total o parcial del mismo sin la expresa autorización de los propietarios intelectuales del documento cuando sea utilizado para fines en los que las personas que los utilicen obtengan algún tipo de remuneración, económica o en especie

Reconocimiento – NoComercial – CompartirIgual (by-nc-sa): No se permite un uso comercial de la obra original ni de las posibles obras derivadas, la distribución de las cuales se debe hacer con una licencia igual a la que regula la obra original.

