

María Álvarez

## 10.1. Procesamiento de muestras oculares

### 10.1.1. Fundamento

El espectro clínico de las infecciones oculares fúngicas es tan variado como el de las infecciones bacterianas. Los hongos pueden afectar tanto a las estructuras oculares internas como a las externas o a sus anejos, produciendo cuadros de endoftalmitis, queratitis, conjuntivitis o blefaritis [1]. En todas ellas se pone de manifiesto la habilidad del clínico para la evaluación de las lesiones y su precisión en la recogida de la muestra adecuada para solicitar los estudios microbiológicos pertinentes [2].

#### Endoftalmitis

Una de las formas más frecuentes de micosis ocular es la endoftalmitis endógena producida por *C. albicans* asociada a diseminación hematógena. Hasta un 30% de pacientes con candidemia desarrollan endoftalmitis candidiásica produciendo numerosos microabscesos en coroides y retina. También está estrechamente relacionada con el uso prolongado de los catéteres venosos centrales así como con el uso de heroína marrón por drogadictos [3]. Los hongos filamentosos, sobre todo *Aspergillus*, pueden, a su vez, causar endoftalmitis endógena en pacientes inmunodeprimidos y los hongos dimórficos (*H. capsulatum*, *B. dermatitidis*, *S. schenckii*, *C. immitis*) y *C. neoformans*, en el curso de una infección diseminada. La endoftalmitis exógena, se origina por la inoculación directa del hongo (postraumática, postqueratitis, postquirúrgica) o en el curso de una mucormicosis.

#### Queratitis

Las queratitis fúngicas constituyen del 6 al 35% de todas las úlceras corneales. La mayoría son postraumáticas, se observan en trabajadores del campo o relacionadas con el uso de lentillas. Habitualmente, las lesiones son de evolución tórpida

[4], debido al crecimiento lento de los hongos, lo que suele retrasar su diagnóstico y el tratamiento específico. *Fusarium*, *Acremonium*, *Phialophora*, *Aspergillus*, *Arthrographis*, *Curvularia* y *Paecilomyces* son los géneros relacionados con la queratitis postraumática y *Candida* con el uso de lentes de contacto.

#### Conjuntivitis

La flora saprofita conjuntival está formada mayoritariamente por bacterias gram positivas aerobias; pero, en un 6-25% de la población sana también se aíslan levaduras (*C. parapsilosis*) de forma habitual, al parecer en relación con el uso de cosméticos contaminados, por lo que muchos autores recomiendan realizar la toma de muestras de ambos ojos, para comparar el crecimiento obtenido en el ojo sano con el afectado.

#### Blefaritis e infecciones del sistema lacrimal

Los párpados pueden ser asiento de infecciones fúngicas diversas. Los agentes causales más frecuentemente observados son *S. schenckii* y *B. dermatitidis* (lesiones ulceradas), *M. furfur* (dermatitis seborreica) y *C. albicans* (blefaritis ulcerativa). Los dermatofitos pueden aislarse en párpados y pestañas, pero como extensión de una dermatomycosis de la cara. Así mismo, la infección y obstrucción del canal lacrimal puede estar relacionada con levaduras, sobre todo en neonatos, donde *Candida* spp. y *Rhodotorula* spp. se aíslan en un 30% de las dacriocistitis congénitas.

#### Estructuras adyacentes

En los párpados y tejidos periorbitarios pueden observarse estructuras fúngicas a causa de una proptosis ocular, en el curso de una mucormicosis rino-orbita-cerebral o por extensión de una infección sinusal contigua. Las distintas especies de *Aspergillus* y mucorales tienen una marcada predilección por los senos paranasales y tejidos periorbitarios; la infección crónica por *Conidiobolus*

*coronatus* puede afectar tanto al ojo como a la órbita.

### 10.1.2. Recogida de muestras oculares

#### **Exudado conjuntival**

1. Emplear una torunda estéril, de algodón o de alginato cálcico, humedecida con medio de cultivo o suero salino estéril.
2. Frotar la zona lesionada suavemente e introducir la torunda en el medio de transporte.
3. Repetir la toma en el ojo contralateral con una torunda diferente. Si se dispone de medios de cultivo, es preferible inocularlos en el momento de la obtención de la muestra.

#### **Raspado corneal**

1. Obtener un exudado conjuntival de cada ojo.
2. Aplicar unas gotas de colirio anestésico.
3. Raspar la superficie de la lesión con un asa de Kimura (asa de platino de punta roma, flexible, ultrafina de enfriamiento rápido, que se puede esterilizar a la llama) o con un bisturí (esta operación debe realizarla el oftalmólogo, controlando la toma con microscopio o con lámpara de hendidura).

#### **Unos consejos...**

- Si la lesión es muy purulenta se puede recoger la muestra con una torunda.
- Si la lesión es muy profunda puede hacerse una incisión con microbisturí.
- Si la lesión está mal definida se puede pasar un hilo quirúrgico por el área infectada y luego usarlo para inocular los medios.

4. Sembrar los medios de cultivo en el acto de la recogida, con el mismo instrumento con que se obtiene la muestra y realizando una serie de cortes en forma de C o de X en el medio de cultivo.
5. Preparar dos o más extensiones en porta para teñir y fijar con alcohol.

#### **Fluidos y aspirados oculares**

En los casos de endoftalmítis y celulitis orbitaria, las muestras deben ser recogidas por el oftal-

mólogo en el quirófano, mediante punción aspiración o vitrectomía y controladas por microscopía.

1. Recoger el material mediante punción y aspiración del fluido (si la muestra es muy densa, se recoge con el bisturí y se coloca en un contenedor estéril).
2. Se recomienda la inoculación directa en los medios de cultivo y la preparación de dos o más extensiones para tinción.

#### **Conductos lacrimales**

1. Mediante una torunda, previamente humedecida con suero salino estéril, recoger material purulento presionando los párpados y el saco lacrimal.
2. Introducirla en un contenedor, con medio de transporte tipo Amies.

#### **Lentes de contacto**

Siempre que sea posible, enviar la lente al laboratorio; si no es posible prescindir de la lente, frotar con una torunda la superficie de contacto corneal.

#### **Cuerpos extraños**

Después de la extracción del cuerpo extraño causante de una lesión ocular, debe enviarse al laboratorio para su cultivo.

#### **Hipopion**

Suele estar constituido por material de detritus celular estéril por lo que no es útil para su cultivo.

### 10.1.3. Transporte de muestras oculares

- Enviar de inmediato al laboratorio, avisando del envío de la muestra.
- Las muestras recogidas con torunda, se introducen en un contenedor con medio de transporte (no se precisan medios especiales).
- Las muestras recogidas con bisturí se pueden humedecer con unas gotas de agua destilada estéril o con caldo de cultivo para evitar la desecación. Enviarlas en contenedor estéril, preferiblemente con tapón de rosca.
- Las muestras recogidas por punción-aspiración, se pueden enviar en la misma jeringuilla, blo-

queando la aguja con una goma estéril, dentro de un contenedor de seguridad.

- Todas las muestras, para su traslado dentro del hospital, deben ir debidamente identificadas en su envase y acompañadas del formulario de petición correspondiente.

#### 10.1.4. Conservación de muestras oculares

Debido a sus peculiares características, este tipo de muestras debe procesarse de inmediato (mantener a temperatura ambiente como máximo 15 min); de lo contrario, deben conservarse refrigeradas a 4 °C hasta su procesamiento (máximo 24 h) intentando mantener las condiciones de humedad en su contenedor original.

#### 10.1.5. Examen directo de muestras oculares

Paralelamente a su siembra, y siempre que la cantidad de la muestra sea suficiente, deben prepararse extensiones para su examen microscópico directo. La observación de elementos fúngicos y sus características proporciona un diagnóstico inicial de infección que debe confirmarse con el cultivo.

Las técnicas de examen directo más aconsejadas son las siguientes:

- Examen en fresco (KOH, blanco de calcoflúor).
- Tinción con naranja de acridina (útil cuando hay pocos elementos en la lesión), plata-metenammina (diferencia nítidamente las estructuras fúngicas) o Giemsa (permite evaluar la respuesta inflamatoria y ver elementos fúngicos).

Todas ellas se encuentran detalladas en el Capítulo 14. La elección de las mismas dependerá de la experiencia particular, de la cantidad de la muestra y de la sospecha clínica.

#### 10.1.6. Cultivo de muestras oculares

Los medios en placa se utilizan habitualmente para el cultivo de muestras de fácil obtención, pero cuando la muestra es escasa o valiosa, es prefe-

rible emplear medios en tubo con tapón de rosca para evitar la desecación y las contaminaciones ambientales.

La selección de medios, está en función de la cantidad de muestra disponible que se vaya a procesar, como mínimo se debe emplear un medio de agar glucosado de Sabouraud (SDA), otro medio base enriquecido con sangre y un medio líquido (Capítulo 3).

- **Exudado conjuntival, palpebral, dacriocistitis, canaliculitis:** SDA con antibióticos.
- **Raspado, exudado corneal:** SDA con antibióticos (30 y 37 °C) + Caldo infusión de cerebro-corazón (BHI) con antibióticos.
- **Exudado intraocular:** SDA con antibióticos (30 y 37 °C) + Caldo infusión de cerebro-corazón (BHI) con antibióticos.

Cuando la muestra obtenida es muy escasa, añadir un medio líquido sin antibióticos a la muestra, hasta completar 0,5 ml de volumen, mezclar suavemente y utilizarlo para inocular los diferentes medios de cultivo y realizar las extensiones para tinción.

#### 10.1.7. Incubación de muestras oculares

- SDA: a 30 °C y 37 °C (4 semanas).
- Caldo infusión de cerebro-corazón (BHI): a 37 °C (4 semanas).

Antes de descartar un cultivo, para detectar hongos de crecimiento lento (dimórficos), se recomienda ampliar la incubación hasta ocho semanas.

#### 10.1.8. Lectura e interpretación

- La inspección de los cultivos, se realiza diariamente la primera semana, luego se van espaciando las observaciones (en los casos con sospecha de infección fúngica grave, los cultivos se examinan cada 12 h).
- Se recomienda la inspección con lupa de pocos aumentos, o con microscopio estereoscópico, debiendo registrarse el número y tipo de colonias.
- El crecimiento de colonias, tiene que aparecer sobre las marcas realizadas durante la siembra de los medios sólidos. Cuando está situado fuera de estas marcas, puede considerarse contaminación.
- Si el número de colonias es muy escaso, debe

descartarse la posibilidad de contaminación, durante la siembra e incubación.

- El crecimiento debe observarse en más de un medio de cultivo. Si sólo hay crecimiento en un medio, tiene valor si hubo detección del microorganismo en el examen directo de la muestra.
- Todos los organismos recuperados de estas muestras deben ser identificados (Capítulos 11 y 13).

### 10.1.9. Dificultades

- Si la muestra es muy escasa se puede diluir hasta 0,5 ml; si es líquida se debe inocular en dos

botellas de hemocultivos pediátricos.

- Como la sensibilidad de las tinciones es muy baja, cuando exista escasa muestra es preferible realizar sólo la siembra.
- Alguna vez es difícil decidir si el crecimiento detectado es contaminación o flora habitual. Para ello es recomendable observar la relación con el área sembrada y puntos de aparición del crecimiento, número de colonias, aparición secuencial, tipo de colonias, la detección y el tipo de elementos fúngicos en el examen directo. Siempre que sea posible, en estos casos se debe solicitar nueva muestra.
- Cuando los elementos fúngicos observados en el

#### Unos consejos...

- Excepto el exudado conjuntival, el resto de muestras oculares debe ser recogido por el oftalmólogo y, por su difícil obtención, se recomienda la siembra en el momento de la recogida.
- Es deseable una estrecha colaboración con los oftalmólogos, para que se esmeren en la recogida y den tratamiento prioritario o urgente al envío de la muestra, acompañada de los datos clínicos precisos y la solicitud debidamente cumplimentada.
- El personal del laboratorio debe avisar al microbiólogo responsable de la llegada de este tipo de muestras, para realizar el seguimiento de su procesado desde el inicio.
- Nunca emitir un informe con el mensaje: "Probable contaminante". Si existe evidencia de contaminación, no debe informarse al clínico.
- Nunca emitir un informe con el mensaje: "Hongo oportunista", "Hongo saprofita", estas afirmaciones confunden al clínico. Cualquier microorganismo puede invadir las estructuras oculares si se dan las condiciones adecuadas.
- Se recomienda el uso de campanas de flujo laminar para todos los pasos: siembra, inspección, subcultivos, pruebas de identificación, pruebas de sensibilidad, etc.
- Identificar el género y la especie de todos los aislamientos; si no es posible, enviar la cepa a un laboratorio de referencia. Mantener una colección de cepas de referencia e ir ampliándola para estar familiarizado con los nuevos agentes patógenos.
- Tener presente siempre la posibilidad de un brote cuando aparezcan dos casos de infección fúngica relacionados ocasionados por el mismo microorganismo.

examen directo no crecen:

- Pensar en la posibilidad de *Malassezia* que precisa medios enriquecidos con lípidos para su crecimiento.
- Prolongar a seis semanas el periodo de incubación.
- Modificar la temperatura de incubación de alguno de los medios (*Rhodotorula glutinis* crece mejor a 30 °C).
- Valorar un posible tratamiento antifúngico previo.

## 10.2. Procesamiento de catéteres intravasculares

### 10.2.1. Fundamento

En las sepsis, uno de los principales focos de microorganismos (*Staphylococcus*, *Corynebacterium*, *Candida*, etc.) son los catéteres intravasculares. Actualmente, se considera que una de cada cuatro septicemias hospitalarias está causada por un dispositivo intravascular, calculándose que la incidencia actual de infección relacionada con un catéter intravascular (IRCI) es del 0,3% de los episodios de cateterización [5].

Aproximadamente, el 15% de todos los episodios de IRCI están causados por *C. albicans*, pero también otros patógenos fúngicos han sido reconocidos como agentes causales de IRCI: *C. parapsilosis*, *Candida* spp., *Malassezia* spp., *Trichosporon beigelii*, *Fusarium* spp. y mucorales, entre otros [6].

Ante la sospecha de una IRCI, debe retirarse el catéter siempre que sea posible. Además, deben realizarse cultivos del exudado cutáneo pericatóter, del segmento subcutáneo y del interior de las conexiones, extrayendo también sangre por el mismo catéter y de otra vena, para realizar hemocultivos cuantitativos [7].

### 10.2.2. Recogida y transporte

#### Catéteres intravasculares

1. Desinfectar con alcohol la zona cutánea alrededor de la inserción del catéter.
2. Retirar el catéter y, asépticamente, cortar 5 cm del extremo distal, que se introduce en un contenedor estéril con tapón de rosca.
3. Rotular y enviar al laboratorio.

#### Exudados pericatóter

1. Realizar un frotis con torunda en una zona de 2 cm alrededor de la inserción del catéter.
2. Introducir la torunda en un medio de transporte.
3. Rotular y enviar al laboratorio.

#### Frotis de la conexión

1. Empleando una torunda fina, realizar un frotis de la vía intraluminal del catéter.
2. Introducir la torunda en un medio de transporte.
3. Rotular y enviar al laboratorio.

#### Extensiones para tinción

Es aconsejable realizarlas a la cabecera del enfermo, marcando con un círculo de 1 cm<sup>2</sup> la zona de la extensión.

### 10.2.3. Conservación

Se recomienda el procesado inmediato de todas estas muestras, debiéndose conservar a temperatura ambiente un máximo de 15 min. De lo contrario, deben almacenarse a 4 °C hasta su procesamiento un máximo de 24 h. Si los catéteres no van a ser procesados inmediatamente, se recomienda refrigerarlos sumergidos en solución salina estéril.

### 10.2.4. Examen directo

La tinción de Gram del frotis pericatóter y de las conexiones tiene un alto valor diagnóstico (predictivo negativo >95%). La tinción con naranja de acridina es más sensible cuando el número de organismos es muy bajo.

### 10.2.5. Siembra

#### Catéteres vasculares

Las técnicas más aconsejadas por su simplicidad de procesado, son:

1. **Técnica semicuantitativa de Maki.** Se realiza rodando 5 cm del segmento distal del catéter,

sobre placas de agar sangre y SDA cuatro veces, con la ayuda de una pinza estéril.

2. **Técnica cuantitativa de Brum-Buisson.** El extremo distal del catéter, se introduce en un medio de cultivo líquido, se agita en un Vórtex durante 1 min y se siembran 50 µl en placas de agar sangre y SDA.

Ante la sospecha de infección por *Malassezia*, utilizar el medio específico de cultivo de Dixon, SDA con ácido palmítico al 3% o aceite de oliva (Capítulo 3).

### Exudado cutáneo y de la conexión

Sembrar en placas de agar sangre y SDA.

#### 10.2.6. Incubación

1. Agar sangre: a 35-37 °C, 72 h.
2. Medios líquidos: a 35-37 °C, 72 h.
3. SDA: a 30 °C, para detectar el crecimiento de *Rhodotorula* spp., 15 días.
4. SDA-palmítico 3%: a 35-37 °C, para permitir el crecimiento de *Malassezia* spp., 15 días.
5. Si se sospecha la infección por hongos filamentosos, prolongar la incubación 30 días.

#### 10.2.7. Lectura e interpretación

Las placas deben leerse cada 24 h durante la primera semana de incubación; posteriormente, cada 48 h. Con la técnica de Maki, más de 15 UFC de levaduras por placa debe valorarse como catéter infectado; recuentos inferiores tienen un valor más relativo para relacionar los catéteres intravasculares con el origen de la fungemia [8].

La adición de una placa de SDA tiene como objetivo evitar que las colonias de levaduras pasen desapercibidas cuando hay abundante crecimiento de estafilococos.

Ante la aparición de colonias de hongos filamentosos, hay que descartar una posible contaminación durante su procesado. Una vez descartada se debe informar al clínico para valorar la situación del paciente.

#### 10.2.8. Validación e informe

El informe de hallazgos positivos en el examen directo debe realizarse sin demora, igual que debe emitirse un informe previo del crecimiento fúngico observado, sin esperar a completar la identificación de los aislamientos.

Cuando no se retira el catéter, la tinción de Gram del frotis de piel pericatóter, del segmento subcutáneo inmediato o del frotis endoluminal de las conexiones tiene un alto valor predictivo negativo.

### 10.2.9. Dificultades

#### Unos consejos...

- La metodología del procesado de catéteres debe ser minuciosamente realizada por el personal del laboratorio, por lo que se debe supervisar regularmente el procedimiento con el personal auxiliar.
- Cuando en las tinciones se observen levaduras que no crezcan en agar sangre ni en SDA, debe informarse al clínico y realizar nuevos cultivos añadiendo medios especiales para la recuperación de *Malassezia* spp.

Las técnicas cuantitativas son laboriosas, por eso la más empleada es la técnica de Maki.

Cuando el recuento de colonias fúngicas, en la placa de agar sangre, es menor de 15 UFC debe informarse igualmente y realizar un subcultivo más tinción de Gram del medio líquido, así como del segmento distal del catéter, para verificar los aislamientos.

Es frecuente la colonización cutánea por *Malassezia* spp. en los prematuros de alto riesgo y, secundariamente, la colonización del catéter intravascular. El diagnóstico de sepsis asociada a catéter por *Malassezia* spp. no es sencillo y requiere la detección del organismo (en las tinciones de sangre total o en la tinción del *buffy coat* de la sangre extraída por el catéter infectado), o su aislamiento en sangre periférica o en el cultivo del extremo distal del catéter (Capítulo 6).

### 10.3. Catéteres de diálisis peritoneal

## continua ambulatoria

### 10.3.1. Fundamento

La diálisis peritoneal continua ambulatoria (DPCA) permite una mejor calidad de vida al paciente con insuficiencia renal crónica y, actualmente, es una alternativa a la hemodiálisis en muchas situaciones. El número de pacientes sometidos a DPCA en España supone un 11,4% de todos los dializados. Estos pacientes son portadores permanentes de un catéter de Tenckhoff, de implantación subcutánea abdominal, que se conecta a un sistema de doble bolsa en "Y" para permitir la entrada y salida del fluido de diálisis [9].

La peritonitis es la principal complicación de la DPCA; su incidencia estimada es de 0,5-0,6 episodios por paciente y año, aunque más de la mitad de los casos se observa en un 25% de los pacientes. Las peritonitis están causadas por estafilococos coagulasa negativos (40-60%), *Staphylococcus aureus* (10-20%), enterobacterias (5-20%) y un 5% por hongos, micobacterias y anaerobios [10,11].

La peritonitis fúngica afecta a pacientes con factores de riesgo de infección fúngica diseminada: antibióticos previos, inmunosupresión, hospitalización, etc. Está causada fundamentalmente por *C. albicans*, seguida por *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* y *Candida* spp. Las peritonitis fúngicas son difíciles de tratar y presentan más complicaciones que las bacterianas, siendo necesaria la retirada del catéter en >50% de los casos.

### 10.3.2. Recogida de muestras

#### **Líquido de diálisis peritoneal**

En condiciones de máxima asepsia, recoger por punción de la bolsa de diálisis 100 ml e introducir 10 ml en sendos frascos de hemocultivos. El resto de la muestra se introduce en un contenedor estéril con tapón de rosca, para recuento celular, cultivo y tinción de Gram.

#### **Catéter de diálisis**

Extraer el catéter, seleccionar y cortar el segmento subcutáneo y el extremo distal e introducirlos en sendos contenedores estériles.

### 10.3.3. Transporte y conservación

No precisa medio de transporte.

Se recomienda el procesado de inmediato, de lo contrario, conservar la muestra refrigerada a 4 °C (24 h máximo).

### 10.3.4. Examen directo

#### **Líquido de diálisis**

Tinción de Gram o con naranja de acridina.

#### **Catéter**

Hacer improntas sobre un porta-objetos estéril y realizar tinción de Gram o con naranja de acridina.

### 10.3.5. Siembra

#### **Líquido de diálisis**

Si no se ha inoculado en frascos de hemocultivo a la cabecera del enfermo, la muestra (mínimo 15 ml) debe concentrarse antes de su siembra mediante centrifugación (2.500 rpm, 15 min) o mediante el empleo de la técnica de lisis-centrifugación (Capítulo 6). Posteriormente, sembrar el sedimento en agar sangre, agar chocolate, SDA y caldo de tioglicolato (Capítulo 3).

#### **Catéter peritoneal**

Rodar el segmento subcutáneo del catéter tres veces sobre placas de agar sangre, agar chocolate y SDA, introducirlo en caldo de tioglicolato y agitar con Vórtex. Repetir con el segmento distal.

### 10.3.6. Incubación

Si se dispone de dos placas de SDA, incubar una a 25-30 °C y otra a 35-37 °C, durante 15 días.

Los frascos de hemocultivo se incuban durante ocho días.

### 10.3.7. Lectura e interpretación de los resultados

Leer los cultivos diariamente durante la primera semana de incubación teniendo en cuenta que *Candida* spp., *Aspergillus* spp., *Rhodotorula* spp., y *Trichosporon* spp. son los patógenos fúngicos más

#### Unos consejos...

- Además del cultivo, es recomendable realizar un recuento celular; si se observan más de 100 células/mm<sup>3</sup>, con un 50% de PMN, se interpreta como infección.
- La siembra en frascos de hemocultivo optimiza la recuperación de organismos.
- Nunca limitar el cultivo sólo a los líquidos de aspecto turbio.
- Los organismos aislados de los diferentes segmentos del catéter documentan si el origen de la infección es intraluminal, pericatéter, peritoneal o de otros focos.

frecuentemente relacionados con las infecciones por catéter en la DPCA.

### 10.3.8. Validación e informe

Los gérmenes habitualmente recuperados en el cultivo forman parte de la microflora cutánea, por lo tanto debe siempre valorarse su posible papel patógeno.

Los aislamientos deben identificarse completamente y realizar el correspondiente antibiograma.

### 10.3.9. Dificultades

Cuando se procesan líquidos de DPCA es importante establecer el volumen apropiado que se

debe procesar. Los estudios comparativos realizados indican que se obtienen mejores resultados procesando 20 ml de líquido peritoneal, repartido en una pareja de frascos de hemocultivo (aerobio y anaerobio), siguiendo el proceso habitual del laboratorio. Pese a todo, los cultivos son negativos en un 10% de las peritonitis infecciosas.

## 10.4. Material protético

### 10.4.1. Fundamento

En el contexto global, las infecciones por hongos del material protético son muy infrecuentes. Entre todas, las prótesis de válvulas cardíacas y las mallas de refuerzo de la pared abdominal son las más relacionadas con la infección fúngica. Hay que tener presente que la colonización de las prótesis por hongos está muy condicionada a su composición, ya que éstos se adhieren mejor a los materiales plásticos y orgánicos que a los metálicos.

#### Prótesis valvular

La endocarditis infecciosa (EI) es una de las complicaciones más graves de los pacientes portadores de válvula protética cardíaca. De todas ellas, un 0,1% tiene una etiología fúngica; la mayoría son secundarias a una fungemia, pero también las válvulas protéticas pueden infectarse durante el acto quirúrgico por conidios ambientales [12].

#### Prótesis articular

Globalmente, la infección de prótesis de cadera (1%) y de rodilla (2,5%) es baja. El diagnóstico clínico de infección es a veces la única evidencia de artritis ya que la radiología sólo presenta alteraciones después de varios meses de evolución y la gammagrafía ósea no es definitiva. La infección fúngica puede desarrollarse a partir de la flora endógena (piel, úlceras de presión, etc.) o por contaminación exógena intraoperatoria, mediante conidios fúngicos aerotransportados [13].

### 10.4.2. Recogida

Si el material lo permite (mallas, prótesis vasculares, material de donantes, etc.) es aconsejable que el troceado lo realice el mismo facultativo, en condiciones asépticas y en el momento de su extracción, para facilitar la siembra en los diferentes medios [14].

En contenedor estéril y a temperatura ambiente.

### 10.4.4. Examen directo

Cuando la pieza es grande, es posible realizar un frotis de la misma mediante torunda estéril, humedecida con agua, y hacer una extensión en un porta para tinción de Gram.

### 10.4.3. Transporte y conservación

### 10.4.5. Siembra

#### Referencias

1. Klotz SA, Penn CC, Negvesky GJ, Butrus SI. Fungal and parasitic infections of the eye. *Clin Microbiol Rev* 2000; 13: 662-685.
2. Wilhelmus KR, Liesegang TJ, Oato MS, Jones DB. Cumitech 13 A, Laboratory diagnosis of ocular infections. Specter SC (Co-ordinating Ed). Washington D.C., American Society for Microbiology Press, 1994.
3. Martínez-Vázquez C, Fernández Ulloa J, Bordón J, et al. *Candida albicans* endophthalmitis in brown heroin addicts: response to early vitrectomy preceded and followed by anti-fungal therapy. *Clin Infect Dis* 1998; 27: 1130-1133.
4. Sridhar MS, Garg P, Bansal AK, Gopinathan U. *Aspergillus flavus* keratitis after laser in situ keratomileusis. *Am J Ophthalmol* 2000; 129: 802-804.
5. León M, García M, Herranz MA, et al. Rentabilidad de la tinción de Gram de la piel pericatéter y conexión en la predicción de bacteriemia relacionada con el catéter intravascular. *Enferm Infec Microbiol Clin* 1998; 16: 214-218.
6. Marcom MJ, Poweell DA. Human infection due to *Malassezia* spp. *Clin Microbiol Rev* 1992; 5: 101-109.
7. Liñares J, Sitges-Serra A, Garau J, Perez JL, Martín R. Pathogenesis of catheter sepsis: prospective study with quantitative and semiquantitative cultures of catheter hub and segments. *J Clin Microbiol* 1985; 21: 357-360.
8. Khabit R, Clark JA, Briski LE, Wilson FM. Relevance of culturing *Candida* species from intravascular catheters. *J Clin Microbiol* 1995; 33: 1635-1637.
9. Montenegro J, Aguirre R, Ocharan J. Peritonitis fúngica. En: Montenegro J, Olivares J (Eds.) La diálisis peritoneal (2ª ed), Madrid, Impresiones DIBE S.L., 1999.
10. Von Graevenitz A, Amsterdam D. Microbial aspects of peritonitis associated with continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Clin Microbiol Rev* 1992; 5: 36-48.
11. Peterson PK, Matzke G, Keane WF. Current concepts in the management of peritonitis in patients undergoing continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Rev Infect Dis* 1987; 9: 604-609.
12. Almirante B, Pahissa A. Preguntas y respuestas sobre la endocarditis infecciosa. *Enferm Infec Microbiol Clin* 1999; 17: 202-205.
13. Barberán J, Garroquino G, Gomis M. Preguntas y respuestas sobre infecciones de prótesis articulares. *Enferm Infec Microbiol Clin* 2000; 18: 370-375.
14. Doscher W, Krihnasastry KV, Deckoff SI. Fungal graft infections: case report and review of the literature. *J Vasc Surg* 1987; 6: 398-402.

Si la pieza es muy pequeña se introduce en un caldo de tioglicolato.

Si es de tamaño pequeño se pueden realizar improntas sobre las placas de agar sangre y agar chocolate y luego introducirlas en un contenedor estéril con tapón de rosca y añadir caldo de tioglicolato hasta que esté cubierta.

Si el tamaño de la pieza es muy grande se realizan frotis con torundas en las zonas seleccionadas y se siembran en placas de agar sangre, agar chocolate y caldo de tioglicolato.

Las prótesis metálicas o no troceables, se ruedan o se hacen improntas en las placas y luego se introducen en un contenedor estéril con medio de