



DOCUMENTO TÉCNICO

Criterios para el envío de aislamientos bacterianos y levaduras del género *Candida* recuperados en Infecciones Asociadas a la Atención en Salud (IAAS) para confirmación de mecanismos de resistencia

DIRECCIÓN REDES EN SALUD PÚBLICA

SUBDIRECCIÓN LABORATORIO NACIONAL DE REFERENCIA

GRUPO DE MICROBIOLOGÍA

2020



Dirección

Martha Lucia Ospina Martínez
Directora General Instituto Nacional de Salud

Coordinación

Astrid Carolina Flórez Sánchez
Director Técnico Redes en Salud Pública

Clara del Pilar Zambrano Hernández
Subdirector Laboratorio Nacional de Referencia
Dirección de Redes en Salud Pública

Carolina Duarte Valderrama
Coordinadora Grupo de Microbiología
Laboratorio Nacional de Referencia
Dirección de Redes en Salud Pública

Elaborado por

Andrea Melissa Hidalgo
María Victoria Ovalle
Patricia Escandón
Sandra Yamile Saavedra
Grupo de Microbiología
Subdirección Laboratorio Nacional de Referencia (SLNR)
Dirección Redes en Salud Pública

1. Criterios de envío de aislamientos clínicos bacterianos y levaduras del género *Candida* recuperados en Infecciones Asociadas a la Atención en Salud (IAAS)

Siglas:

APB: Ácido fenil borónico
EDTA/SMA: ácido etilendiamino tetraacético/mercaptoacetato de sodio
INS: Instituto Nacional de Salud.
LDSP: Laboratorio Departamental de Salud Pública
UPGD: Unidad primaria generadora de datos

1.1 Parámetros generales de envío de aislamientos para la vigilancia por laboratorio de resistencia antimicrobiana en IAAS

- Ficha completamente diligenciada con los resultados de las pruebas de tamizaje, reporte de identificación y antibiograma de la institución
- Solo se debe enviar un aislamiento por paciente teniendo en cuenta que el diagnóstico sea coherente con el tipo de muestra.
- Se recibirán aislamientos con fecha de toma de muestra **no mayor a dos meses** de la fecha en que realice el envío de los aislamientos el LDSP.
- De acuerdo a la circular 1646 de 2018, los aislamientos de Enterobacterias y Gram negativos no fermentadores deben contar con las pruebas de tamizaje realizadas por el LDSP, que **deberá ser consignado en la casilla correspondiente de la ficha de envío.**
- Los aislamientos remitidos con las metodologías de GeneXpert, AMR Direct Flow Chip, BDMax, NG Test CARBA 5, HybriSpot entre otros, que permiten detectar el gen de resistencia, deberán ser remitidos al INS de acuerdo al flujograma establecido para estas metodologías. Para estos casos, el INS solo realizará la confirmación molecular del gen que confiere la resistencia y tendrá en cuenta la identificación realizada por la UPGD, por tanto, el Grupo de microbiología del INS no realizará identificación de género y especie. **El LDSP no requiere realizar pruebas de tamizaje.**
- Si la UPGD tiene la metodología de Carba NP, RapidecCarba NP o mCIM y no cuenta con EDTA deberá enviar al LDSP el 10% de los aislamientos con resultado positivo y el 10% de los aislamientos negativos para estas pruebas y el LDSP se encargará de realizar las pruebas de tamizaje y remitir al Grupo de microbiología del INS de acuerdo a los criterios de envío.
- En la vigilancia de *C. auris*, deberán ser remitidos los aislamientos al Grupo de Microbiología del INS, de acuerdo al flujograma establecido, quien realizará la identificación de género y especie. En la vigilancia de otras levaduras tipo *Candida*, deberán ser remitidos al Grupo de Microbiología del INS los aislamientos provenientes de casos especiales como mortalidad y brotes, para los cuales el Grupo de microbiología del INS realizará solamente la confirmación de género y especie.

a. **Parámetros de envío para la vigilancia de resistencia antimicrobiana en cocos Gram positivos y la vigilancia de carbapenemasas en enterobacterias y Gram negativos no fermentadores**

- Remitir aislamientos provenientes de **muestras invasoras**.
- En la ficha de envío deberá ser consignado correctamente el mecanismo de resistencia a inferir, a partir de esta variable se realizará la confirmación por parte del Grupo de microbiología del INS.
- En relación a las muestras de orina dentro de la vigilancia de rutina para enterobacterias y Gram negativos no fermentadores, solo se recibirán los aislamientos provenientes de **orina con sonda y orina por punción suprapúbica**, lo cual deberá ser indicados en la ficha de envío.

b. **Parámetro de envío para la vigilancia de resistencia a colistina y linezolid**

- Remitir aislamientos provenientes de **muestras invasoras y no invasoras**.
- En la vigilancia de resistencia a colistina y linezolid, el Grupo de microbiología del INS no realizará la identificación de género y especie, solamente la detección del gen de resistencia.

c. **Parámetro de envío para la vigilancia de Infección de Sitio Operatorio (ISO) y endometritis puerperal**

- Para estos eventos se realizará la vigilancia de resistencia en cocos Gram positivos y la vigilancia de carbapenemasas en enterobacterias y Gram negativos no fermentadores Se contemplarán 4 procedimientos: cesárea, histerorrafia, colecistectomía, revascularización cardíaca y endometritis puerperal.
 - Para los eventos de ISO por histerorrafia, colecistectomía y cesárea se recibirán aislamientos provenientes de las siguientes muestras: secreción proveniente de herida del sitio quirúrgico abdominal (secreción o absceso abdominal), secreción o tejido de vagina, útero u ovario, drenaje abdominal, tejido abdominal, biopsia de tejido abdominal y líquido peritoneal.
 - Para los eventos de ISO por revascularización se recibirán aislamientos provenientes de las siguientes muestras: sangre, secreción mediastino, líquido pericárdico, tejido pericárdico, absceso intracardiaco, cultivo de venas o arterias, tejido de la región mediastinal y hueso.
 - Para los eventos de endometritis se recibirán aislamientos provenientes de las siguientes muestras: líquido o tejido endometrial y secreción endometrio.

d. **Parámetros de envío para la vigilancia de *C. auris* y otras levaduras tipo *Candida spp***

- Remitir aislamientos de *Candida auris* de muestras invasoras de acuerdo al flujograma

- Remitir otros tipos de levadura tipo *Candida* provenientes de muestras invasoras en casos de mortalidad, para los cuales el Grupo de microbiología del INS realizará solamente la confirmación de género y especie.

2. Criterios para el estudio de brotes Infecciones Asociadas a la Atención en Salud (IAAS)

Todo brote debe ser notificado a su respectivo LDSP y a vigilancia epidemiológica del departamento quienes se encargarán de notificar al INS (Grupo de Microbiología y Grupo IAAS). De acuerdo con la notificación realizada y el informe de caracterización de brote, se seleccionaran los aislamientos a procesar.

2.1 Brotes de enterobacterias, Gram negativos no fermentadores y Gram positivos

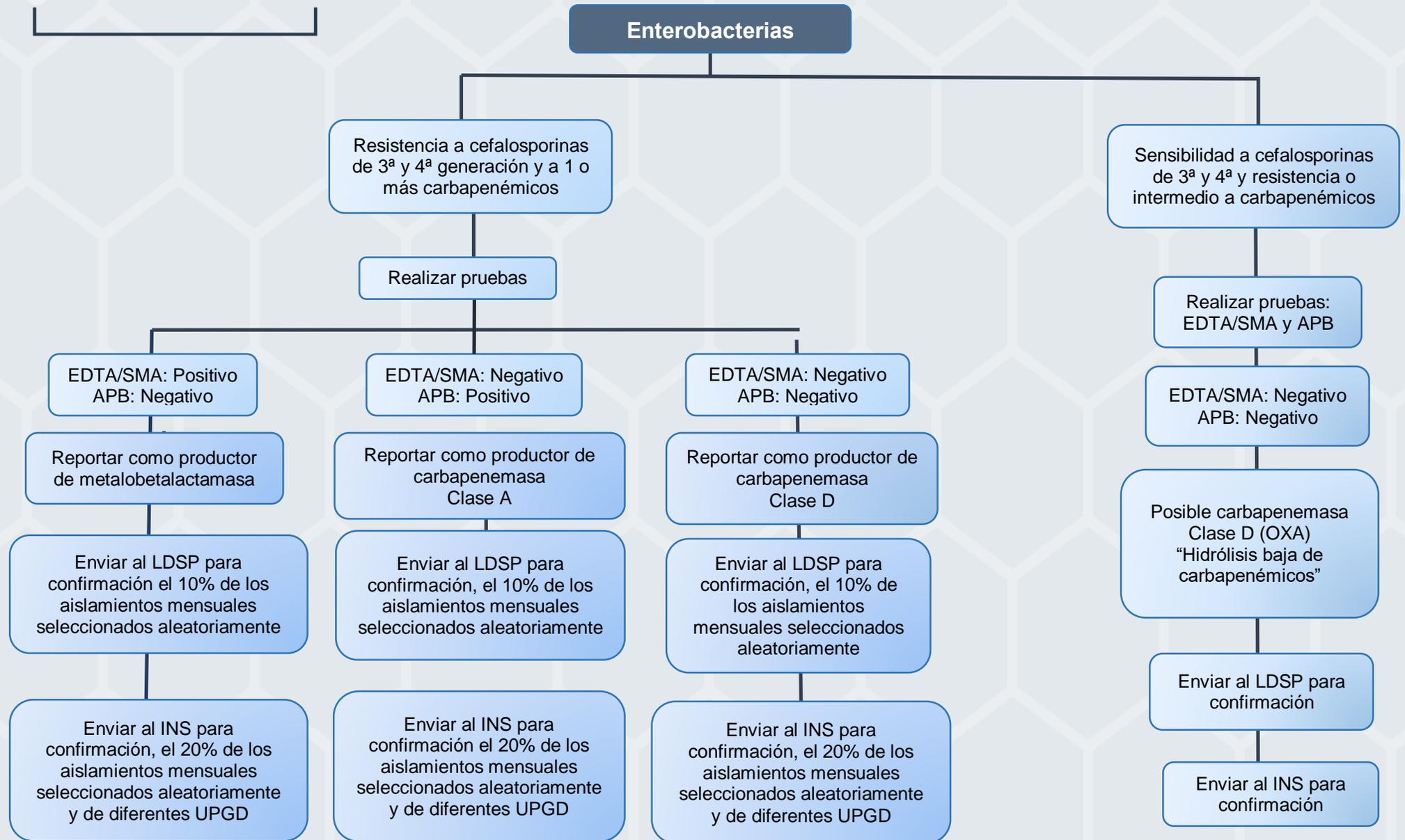
- Todos los brotes deben ser remitidos al Grupo de microbiología del INS para estudios de clonalidad, de acuerdo al flujo de información establecido protocolo “Brote de infecciones asociadas a la atención en salud” disponible en: http://www.ins.gov.co/buscador-eventos/Lineamientos/PRO%20INFECCIONES%20ASOCIADAS%20A%20LA%20ATENCIÓN%20EN%20SALUD_.pdf
- Se debe tener en cuenta que LDSP y Secretaría Departamental/Distrital tendrán que verificar la concordancia de los aislamientos que van a ser remitidos al Grupo de microbiología del INS con el fin de garantizar el análisis de los aislamientos que realmente corresponden al brote.
- Solo se debe enviar un aislamiento por paciente (ejemplo: si el paciente tiene 3 hemocultivos con el mismo patógeno solo se deberá enviar un aislamiento).
- **Todo brote debe ser remitido para estudios de clonalidad.**

2.2 Brotes de *Candida auris* y otras levaduras tipo *Candida*

- En relación a los brotes de otras levaduras tipo *Candida* solo deberá enviar un aislamiento por paciente y solo se tendrá en cuenta algunas muestras de colonización previo envío de la matriz de caracterización por parte de la Secretaría de Salud Departamental.
- **El INS realizará la identificación de los aislamientos, no se realizará estudio de clonalidad**

3 Criterios de no procesamiento de muestras

- Aislamientos que **no cumplan** los criterios de envío de muestras relacionados en el presente documento, por tipo de muestra, mecanismo a confirmar, tiempo de remisión al Grupo de microbiología del INS, entre otros.



CARBAPENEMASAS

NO FERMENDADORES

RESISTENCIA ANTIMICROBIANA EN IAAS - GRUPO MICROBIOLOGÍA

Gram Negativos no fermentadores

Pseudomonas spp

Resistencia a ceftazidima y 1 o más carbapenémicos

EDTA/SMA

Positivo

Reportar como productor de metalobetalactamasa

Enviar al LDSP para confirmación, el 10% de los aislamientos mensuales seleccionados aleatoriamente

Enviar al INS para confirmación, el 20% de los aislamientos mensuales seleccionados aleatoriamente y de diferentes UPGD

Negativo

Reportar como productor de Serincarbapenemasa

Enviar al LDSP para confirmación, el 10% de los aislamientos mensuales seleccionados aleatoriamente

Enviar al INS para confirmación, el 20% de los aislamientos mensuales seleccionados aleatoriamente y de diferentes UPGD

Acinetobacter spp.

Resistencia a ceftazidima y 1 o más carbapenémicos

EDTA/SMA

Positivo

Reportar como productor de metalobetalactamasa

Enviar al LDSP para confirmación, el 10% de los aislamientos mensuales seleccionados aleatoriamente

Enviar al INS para confirmación, el 20% de los aislamientos mensuales seleccionados aleatoriamente y de diferentes UPGD

Negativo

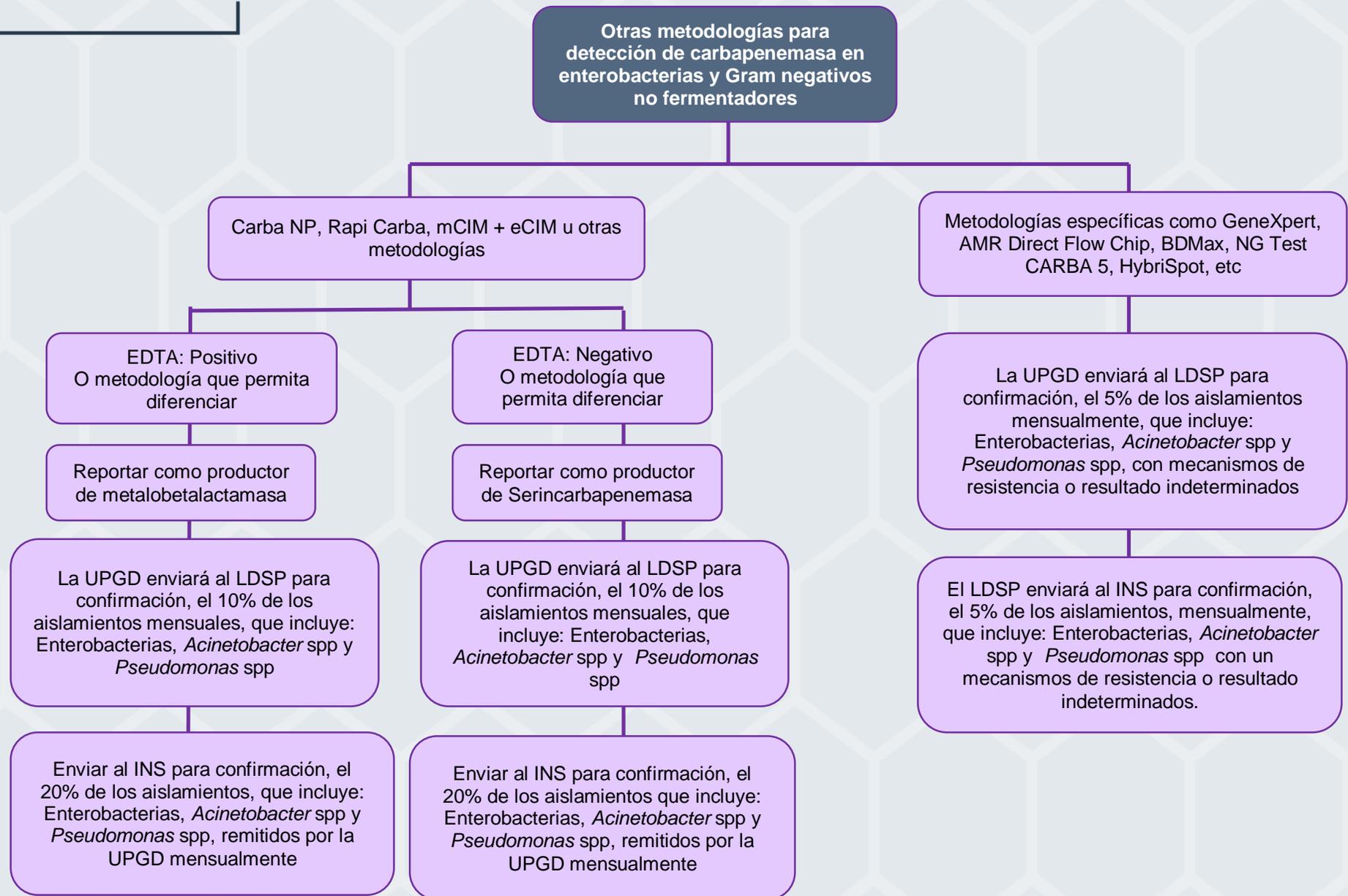
Reportar como productor de Serincarbapenemasa

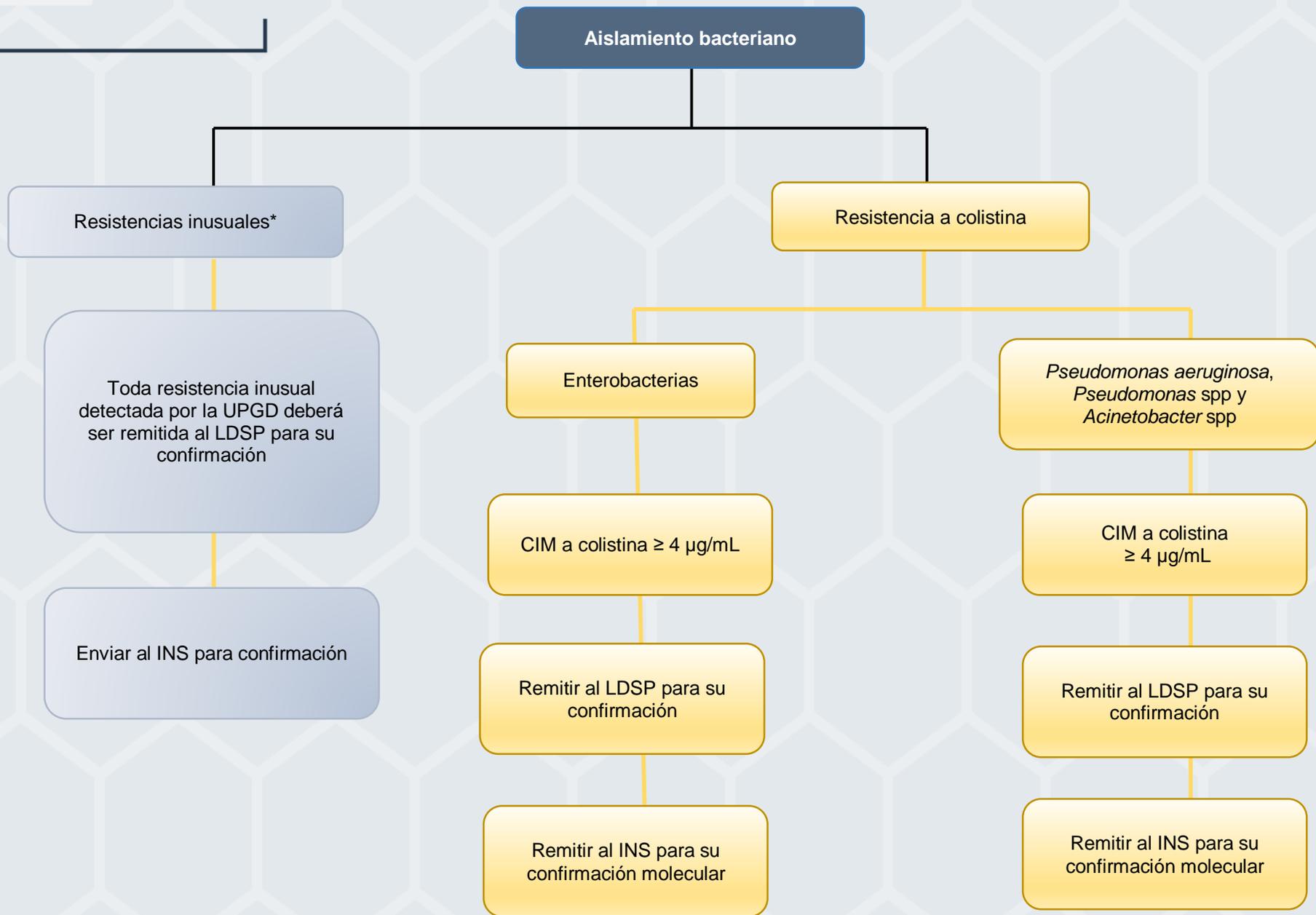
Enviar al LDSP para confirmación, el 10% de los aislamientos mensuales seleccionados aleatoriamente

Enviar al INS para confirmación, el 20% de los aislamientos mensuales seleccionados aleatoriamente y de diferentes UPGD

OTRAS METODOLOGÍAS

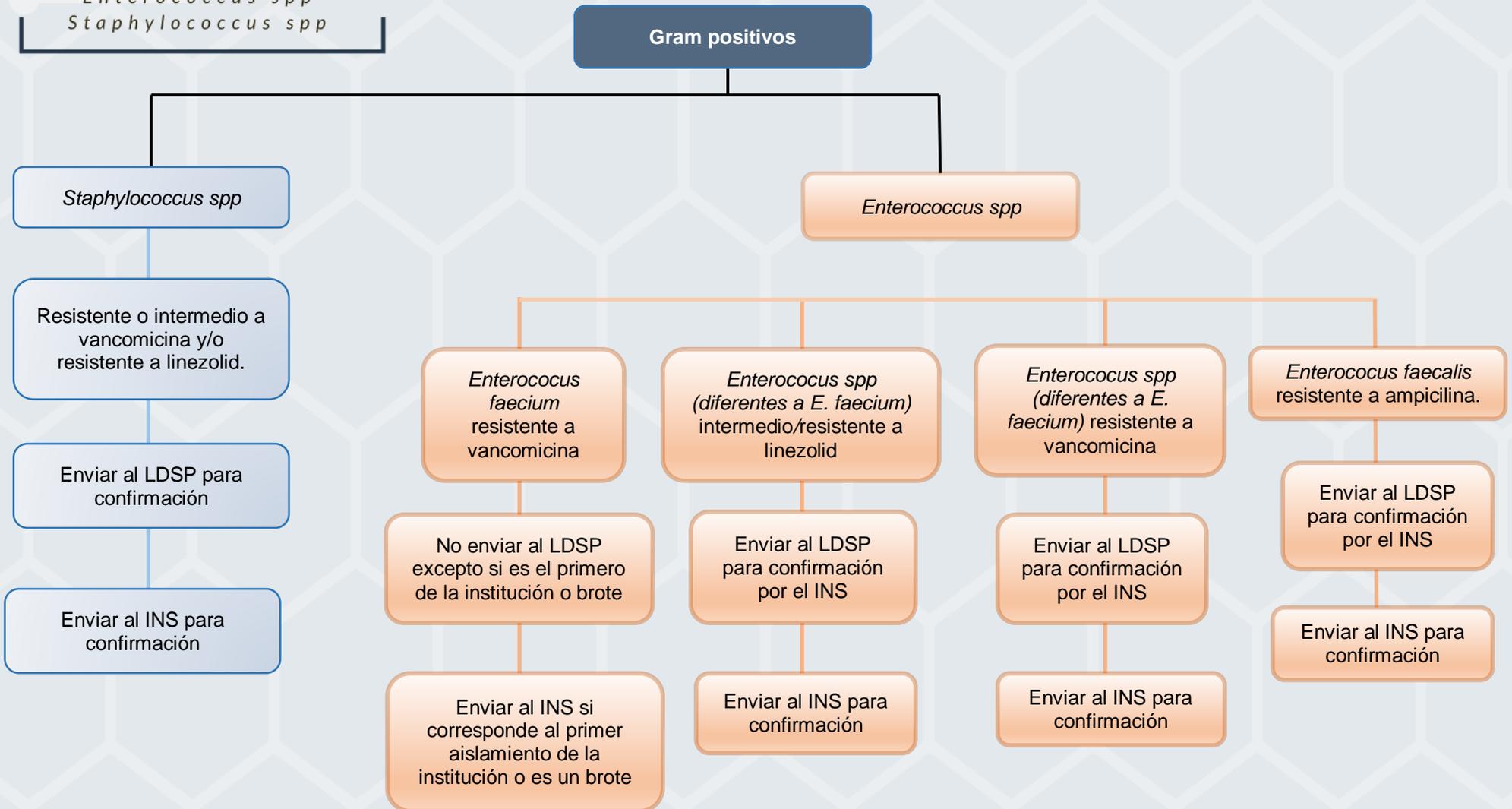
DETECCIÓN DE CARBAPENEMASAS





GRAM POSITIVOS

Enterococcus spp
Staphylococcus spp



Aislamiento de levadura del género *Candida*

Paciente hospitalizado: aislamientos recuperados de hemocultivo o líquidos estériles
Paciente en Unidad de cuidados intensivos: aislamientos recuperados de muestras invasoras

Cuando haya presencia de levaduras en muestras clínicas:

1. Realice examen directo en fresco o coloración de Gram de las colonias blancas cremosas
2. Siembre en Agar Saboreaud u otro agar nutritivo
3. Puede utilizar CHROMagar *Candida* para identificar colonias blancas o púrpura

Vitek y Phoenix:
C. haemulonii o *Candida*
spp, *Candida albicans*, *C.*
tropicalis, *C. famata*, *C.*
guilliermondii, *C. glabrata*,
independiente del patrón de
resistencia
Enviar para confirmación

Microscan:
C. guilliermondii, *C. famata*, *C.*
sake, *Candida spp*, *Rodothorula*
spp, y *Sacharomyces spp*,
independiente de patrón de
resistencia
Enviar para confirmación

Cualquier metodología (API, Cristal)
Rodothorula glutinis
Sin pigmento rosado en agar sabouraud
C. albicans que presenten: CHROMagar
Candida No verde o tubo germinal
negativo independiente del patrón de
resistencia.
Enviar para confirmación

C. auris identificada por
métodos moleculares:
MALDI-TOF,
secuenciación de
productos de PCR o PCR
específica para *C. auris*.
Enviar para confirmación

Deben presentar alguna de las siguientes
características:

1. Discordancias entre la morfología
macroscópica (color, textura de las
colonias) e identificación del método.
2. CHROMagar *Candida*: colonias blancas o
púrpura
3. Agar selectivo para *C. auris* con
crecimiento positivo.
4. *C. albicans* con resultado tubo germinal
negativo
Enviar para confirmación



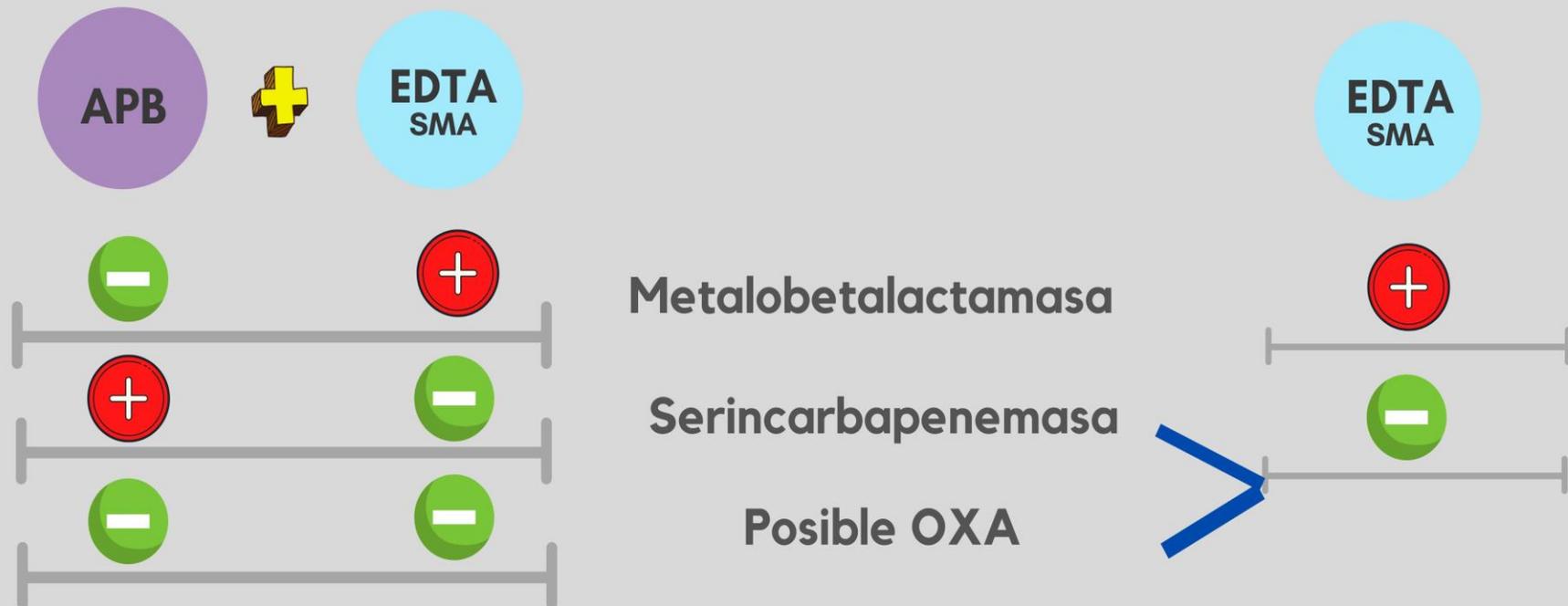
Confirmación de carbapenemasas

Enterobacterias y Gram negativos no fermentadores

PRUEBAS DE TAMIZAJE - PRUEBAS ESPECÍFICAS

Enterobacterias

Gram negativos no fermentadores



PRUEBAS ESPECÍFICAS*

No requiere confirmación**

APB: Ácido fenil borónico
EDTA: ácido etilendiamino tetraacético/mercaptoacetato de sodio

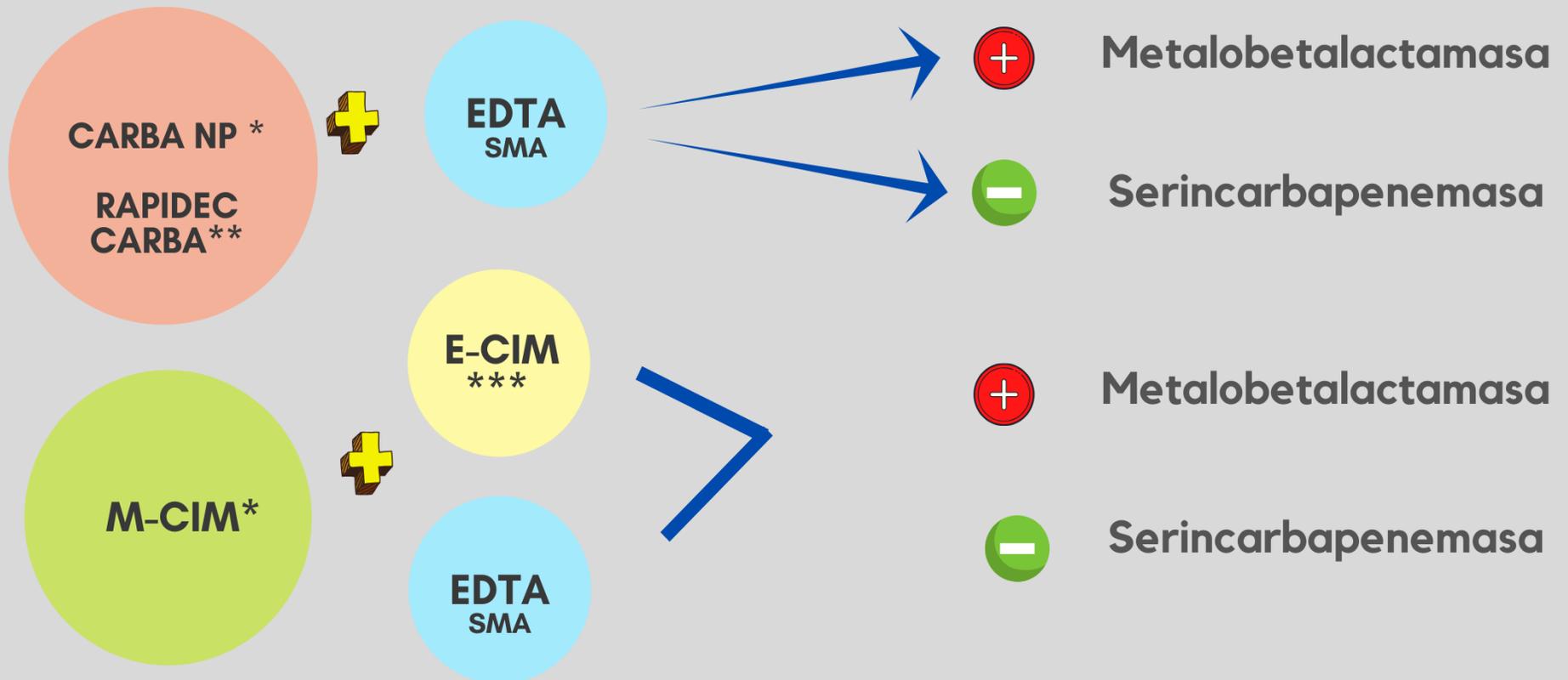
* GeneXpert, AMR Direct Flow Chip, BDMax, NG Test CARBA 5, HybriSpot, etc
** Según alcance de la prueba



Confirmación de carbapenemasas

Enterobacterias y *Pseudomonas aeruginosa*

OTRAS METODOLOGÍAS



* Recomendado para enterobacterias y *Pseudomonas aeruginosa*

** Recomendado para enterobacterias, *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter baumannii*

*** Recomendado solo para Enterobacterias



Anexo 1. Preparación de discos de EDTA

EDTA-SMA (750µg EDTA + 2mg SMA disco).

Realizar todo el procedimiento en cabina de flujo

1. Colocar los discos en una caja de petri nueva o estéril, separándolos con una pinza estéril.
2. Agregar en cada disco de papel filtro 10 µL de la ST.
3. Los discos quedaran a una concentración final de 750µg EDTA + 2mg SMA.
4. Dejar secar por media hora en cabina de flujo laminar.
5. Guardar los discos listos en tubos de criopreservación a -20°C, máximo 20 en cada tubo utilizando pinzas. Hasta su uso.

Nota: la solución de trabajo sobrante se puede almacenar en refrigeración de 4 a 8°C, hasta nuevo uso.

**El almacenamiento de los discos preparado
es de máximo 6 meses a -20 °C ± 5 °C**

Anexo 2. Preparación de discos de APB

Discos de Ácido borónico (“APB-3-aminofenil borónico marca Sigma Aldrich catálogo A71751)

1. Preparación de la Solución Madre (SM) de APB 300 mg/ml
Adicionar 900 uL de agua destilada estéril al recipiente de vidrio ámbar con ácido borónico (300mg). Es importante disolver el polvo en el recipiente de vidrio ya que en plástico no disuelve. (Este reactivo se demora para disolver por lo cual lo puede colocar a temperatura de 37 °C donde se almacene material para secado por máximo 10 minutos NO lo coloque en la incubadora donde están las muestras o aislamientos ya que se puede contaminar), el volumen final obtenido de la SM es de 1mL.

Después de tener la solución puede:

- Distribuir está en proporciones pequeñas máximo de 1mL en tubos de criopreservación, de microcentrifuga o frascos de vidrio para liofilización y almacenar a -20°C.
- Preparar la solución de trabajo

2. Preparación de disco de APB (300 µg disco). Preparar en cabina de flujo laminar.

- Preparar la solución de trabajo “ST” en un recipiente estéril o nuevo (como tubo falcón o de microcentrifuga).
- Realizar una dilución de la SM 1/10 en agua destilada estéril. De acuerdo al número de discos que desee preparar escoja la cantidad de ST que va a preparar:
 - Para aproximadamente 1000 discos (1 ml de SM y 9 ml de agua destilada estéril)
 - Para aproximadamente 500 discos (500 µL de SM y 4500 µL “4.5 mL” de agua destilada estéril)
 - Para aproximadamente 100 discos (100 µL de SM y 900 µL de agua destilada estéril).
 - Para aproximadamente 50 discos (50 µL de SM y 450 µL de agua destilada estéril)

La solución de trabajo “ST” quedará a una concentración final de 30mg/ml = 30µg/mg.

- Colocar los discos en una caja de petri nueva o estéril, separándolos con una pinza estéril.
- Agregar en cada disco de papel filtro 10 µL de la ST.
- Dejar secar los discos por 30 minutos en la cabina de flujo laminar.
- Guardar los discos listos en tubos de criopreservación a -20°C, máximo 20 en cada tubo utilizando pinzas. Mantener almacenados hasta su uso.

Nota: si le sobra solución de trabajo esta se debe descartar, ya que no se puede volver a reutilizar.