

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

## Resumen

*Este documento, contiene las directrices que se deben tener en cuenta, para enviar aislamientos bacterianos y de Candida spp., a la vigilancia por laboratorio de Infecciones Asociadas a la Atención en Salud, para confirmación de mecanismos de resistencia y estudio de brotes*

Carolina Duarte Valderrama  
cduarte@ins.gov.co

## CRÉDITOS

MARTHA LUCÍA OSPINA MARTÍNEZ  
Directora General

ASTRID CAROLINA FLÓREZ SÁNCHEZ  
Directora Técnica Redes en Salud Pública

## ELABORÓ

ANDREA MELISSA HIDALGO  
Profesional Grupo de Microbiología - Dirección de Redes en Salud Pública

MARÍA VICTORIA OVALLE  
Profesional Grupo de Microbiología - Dirección de Redes en Salud Pública

DIANA SUSANA LIZARAZO  
Profesional Grupo de Microbiología - Dirección de Redes en Salud Pública

SANDRA YAMILE SAAVEDRA  
Profesional Grupo de Microbiología - Dirección de Redes en Salud Pública

PATRICIA LUZ ESCANDON  
Coordinadora Grupo de Microbiología – Dirección de Investigación en Salud Pública

## REVISÓ

CAROLINA DUARTE VALDERRAMA  
Coordinadora Grupo de Microbiología- Dirección de Redes en Salud Pública

## APROBÓ

CLARA DEL PILAR ZAMBRANO HERNÁNDEZ  
Subdirectora Laboratorio Nacional de Referencia - Dirección de Redes en Salud Pública

El documento requirió revisión por la Oficina Asesora de Jurídica SI NO X  
El documento requirió revisión por una instancia externa asesora SI NO X ¿Cuál

©

Instituto Nacional de Salud

Bogotá, Colombia

Av. Calle 26 No. 51-20

## TABLA DE CONTENIDO

1. CRITERIOS DE ENVÍO DE AISLAMIENTOS CLÍNICOS BACTERIANOS Y LEVADURAS DEL GÉNERO <i>CANDIDA</i> RECUPERADOS EN INFECCIONES ASOCIADAS A LA ATENCIÓN EN SALUD (IAAS).....	4
1.1 Parámetros generales de envío de aislamientos bacterianos para la vigilancia por laboratorio de resistencia antimicrobiana en IAAS.....	4
1.2 Parámetros generales de envío de <i>C. auris</i> y otras levaduras tipo <i>Candida</i> spp para la vigilancia por laboratorio de resistencia en IAAS.....	5
2. CRITERIOS PARA EL ESTUDIO DE BROTES INFECCIONES ASOCIADAS A LA ATENCIÓN EN SALUD (IAAS).....	6
2.1 Brotes de Enterobacteriales, Gram negativos no fermentadores y Gram positivos.....	6
2.2 Brotes de <i>Candida auris</i> y otras levaduras tipo <i>Candida</i> .....	6
2.2.1 Criterios de no procesamiento de muestras.....	6
3. FLUJOGRAMA CARBAPENEMASAS ENTEROBACTERIALES.....	7
4. FLUJOGRAMA CARBAPENEMASAS GRAM NEGATIVOS NO FERMENTADORES.....	8
5. FLUJOGRAMA OTRAS METODOLOGÍAS PARA LA DETECCIÓN DE CARBAPENEMASA.....	9
6. FLUJOGRAMA: CONFIRMACIÓN DE RESISTENCIAS INUSUALES Y COLISTINA.....	10
7. FLUJOGRAMA GRAM POSITIVOS <i>Enterococcus</i> spp y <i>Staphylococcus</i> spp.....	11
8. FLUJOGRAMA: IDENTIFICACIÓN DE LEVADURAS: <i>Candida auris</i> .....	12
9. ANEXOS.....	13
Anexo 1. Preparación de discos de EDTA.....	13
Anexo 2. Preparación de discos de APB.....	14
Anexo 3. Confirmación de carbapenemasas en Enterobacteriales y Gram negativos no fermentadores: Pruebas de tamizaje.....	15
Anexo 4. Confirmación de carbapenemasas en Enterobacteriales y <i>Pseudomonas aeruginosa</i> : otras metodologías.....	16
10. BIBLIOGRAFÍA.....	17

## 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

**mCIM:** Método Modificado de Inactivación de carbapenémicos (del inglés Modified Carbapenem Inactivation Method)

**eCIM:** Método Modificado de Inactivación de carbapenémicos con adición de EDTA (del inglés EDTA-Modified Carbapenem Inactivation Method)

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

- Ficha completamente diligenciada con los resultados de las pruebas de tamizaje tanto del LDSP como de la UPGD, reporte de identificación y antibiograma de la institución (UPGD).
- 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 Enterobacterales 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, Rapidec Carba NP o mCIM y no cuenta con EDTA deberá enviar de acuerdo al flujograma establecido y el LSPD se encargará de realizar las pruebas de tamizaje

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

- Remitir aislamientos provenientes de **muestras invasoras (tomadas de sitios estériles)**.
- 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 de carbapenemasas para Enterobacterales y Gram negativos no fermentadores **no se recibirán las muestras de orina por micción espontánea u orina chorro medio**, solo se recibirán los aislamientos provenientes de **orina con sonda, orina por punción suprapúbica** lo cual deberá ser indicado en la casilla de muestra en ficha de envío.

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

- Remitir aislamientos provenientes de **cualquier tipo de muestra**
- 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 Enterobacterales y Gram negativos no fermentadores. Se contemplarán 4 procedimientos: cesárea, herniorrafia, colecistectomía, revascularización cardiaca y endometritis puerperal.
  1. Para los eventos de ISO por herniorrafia, 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.
  2. 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.
  3. Para los eventos de endometritis se recibirán aislamientos provenientes de las siguientes muestras: líquido o tejido endometrial y secreción endometrio.

**1.2 Parámetros generales de envío de *C. auris* y otras levaduras tipo *Candida* spp para la vigilancia por laboratorio de resistencia en IAAS**

- Ficha completamente diligenciada con los resultados de las pruebas de tamizaje, reporte de identificación y antifungigrama de la institución (UPGD).
- 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.
- En relación a las muestras de orina dentro de la vigilancia de rutina de *C. auris* y *Candida* spp **no se recibirán las muestras de orina por micción espontánea u orina chorro medio**, solo se recibirán los aislamientos provenientes de **orina con sonda, orina por punción suprapúbica** lo cual deberá ser indicado en la casilla de muestra en ficha de envío.
- En la vigilancia de *C. auris*, deberán ser remitidos los aislamientos al Grupo de Microbiología del INS provenientes de muestras invasoras de acuerdo al flujograma establecido. El INS confirmará género y especie; realizará susceptibilidad antifúngica para *C. auris*.
- 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**.
- El Grupo de Microbiología recibirá aislamientos *C. auris* y tipo *Candida* proveniente de muestras no invasoras que presenten una susceptibilidad antifúngica inusual a Fluconazol  $\geq 32 \mu\text{g/ml}$ ; Anfotericina B  $\geq 2 \mu\text{g/ml}$ ; Anidulofungina  $\geq 4 \mu\text{g/ml}$ ; Micafungina  $\geq 4 \mu\text{g/ml}$ ; y Caspofungina  $\geq 4 \mu\text{g/ml}$ ; **con envío del reporte de susceptibilidad antifúngica**.

## 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 por el Departamento y el envío del **informe y matriz de caracterización de brote**, el INS seleccionara los aislamientos a procesar.

### 2.1 Brotes de Enterobacteriales, 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 en el protocolo “Brote de infecciones asociadas a la atención en salud” disponible en: <https://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 *C. auris* y otras levaduras tipo *Candida*, **solo deberá enviar un aislamiento por paciente.**
- Solo se tendrán en cuenta algunas muestras de colonización previo envío del **informe y matriz de caracterización de brote** por parte de la Secretaría de Salud Departamental/Distrital con el fin de garantizar el análisis de los aislamientos que realmente corresponden al brote.
- El INS realizará la identificación de los aislamientos, **no se realizará estudio de clonalidad.**

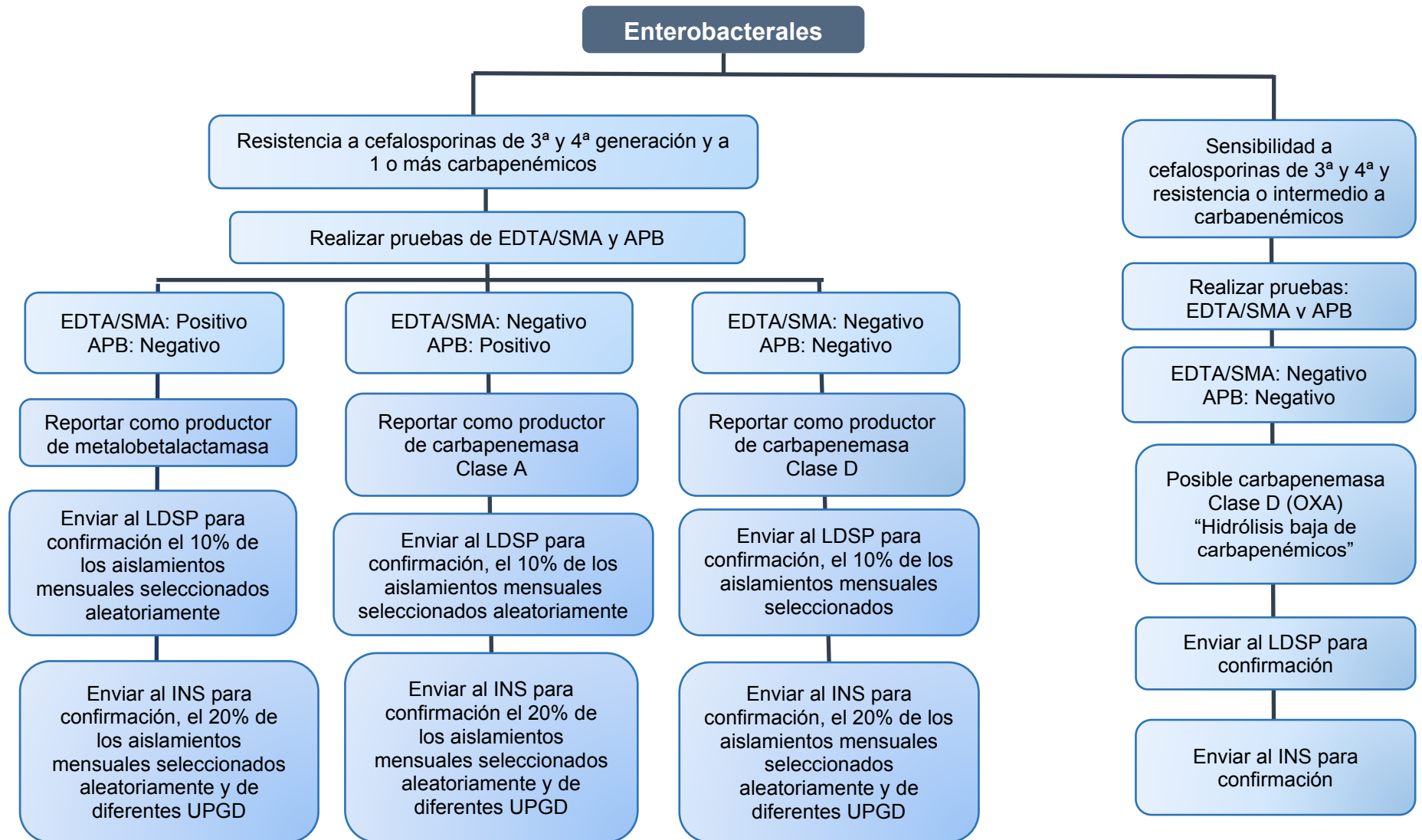
#### 2.2.1 Criterios de no procesamiento de muestras

- Aislamientos que no cumplan los criterios de envío de muestras relacionados en el presente documento como son: tipo de muestra, mecanismo a confirmar, tiempo de remisión al Grupo de Microbiología del INS, ficha de envío sin diligenciar en su totalidad y que no se adjunte el reporte del antibiograma o antifugigrama.
- Los aislamientos deben ser remitidos en medios de transporte comercial, no se recibirán medio de transporte en tubo de vidrio ni en caja para garantizar la bioseguridad recomendada de acuerdo a los criterios de envío de muestras del INS que puede consultar en: <https://www.ins.gov.co/BibliotecaDigital/Manual-toma-envio-muestras-ins.pdf>

#### NOTA:

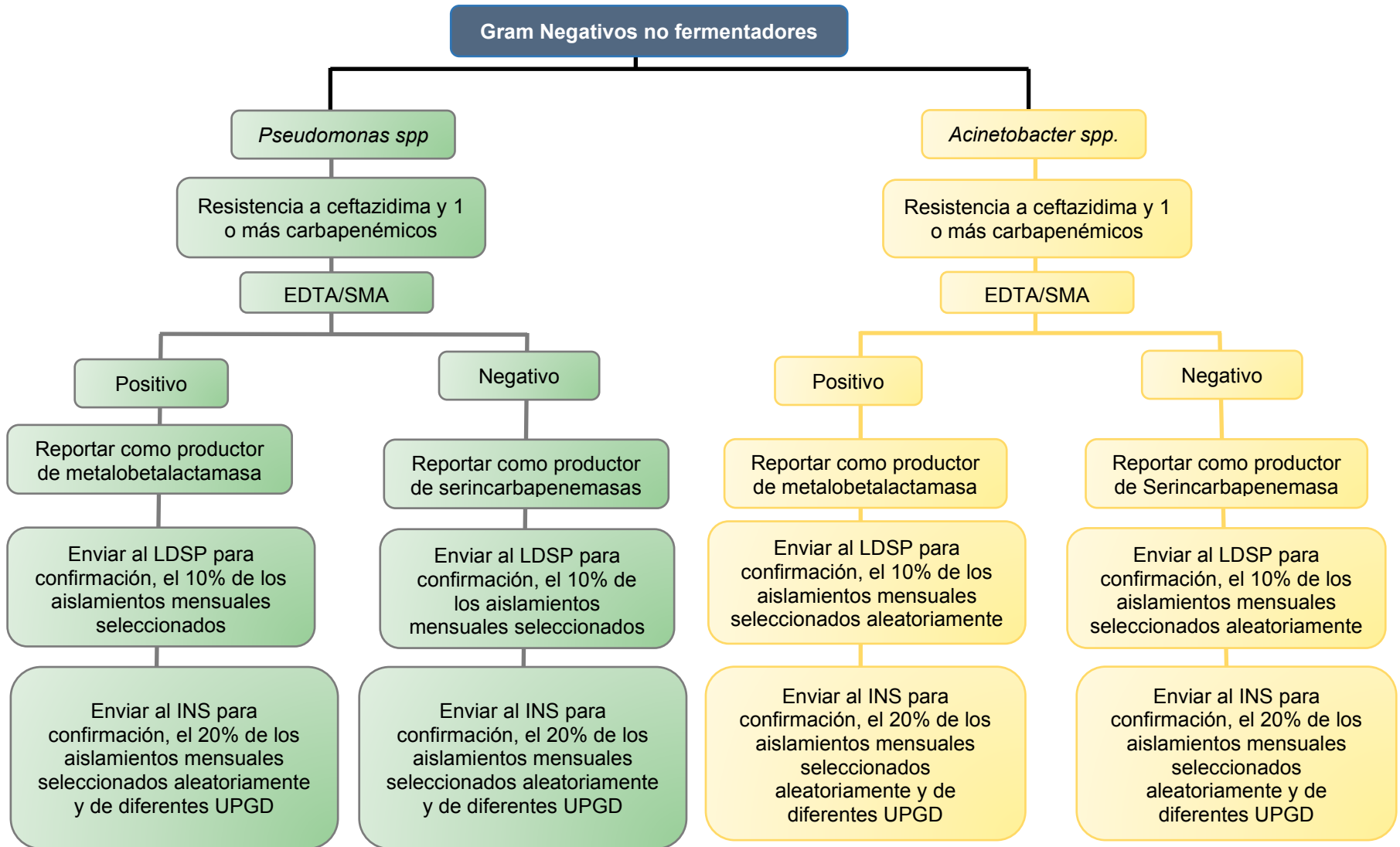
El INS adopta las normas CLSI vigente (M100 30th Edition 2021) la cual es de libre consulta en el link: [http://em100.edaptivedocs.net/Login.aspx?\\_ga=2.75464914.1700793617.1617903615-1100203756.1615497576](http://em100.edaptivedocs.net/Login.aspx?_ga=2.75464914.1700793617.1617903615-1100203756.1615497576)

### 3. FLUJOGRAMA CARBAPENEMASAS ENTEROBACTERIALES



Fuente: Grupo de Microbiología – Red Nacional de Laboratorios – INS

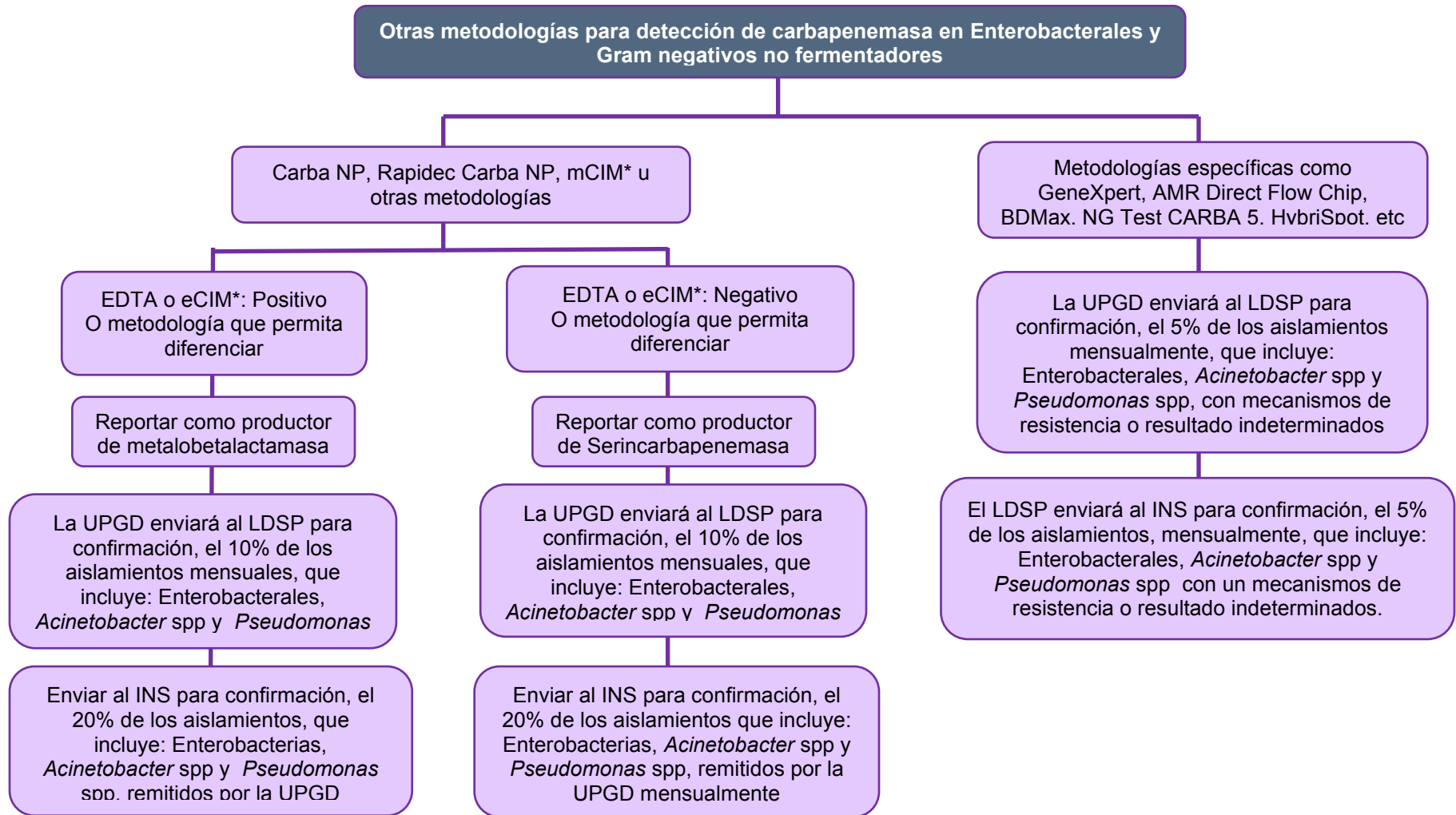
4. FLUJOGRAMAS CARBAPENEMASAS GRAM NEGATIVOS NO FERMENTADORES.



Fuente: Grupo de Microbiología – Red Nacional de Laboratorios - INS



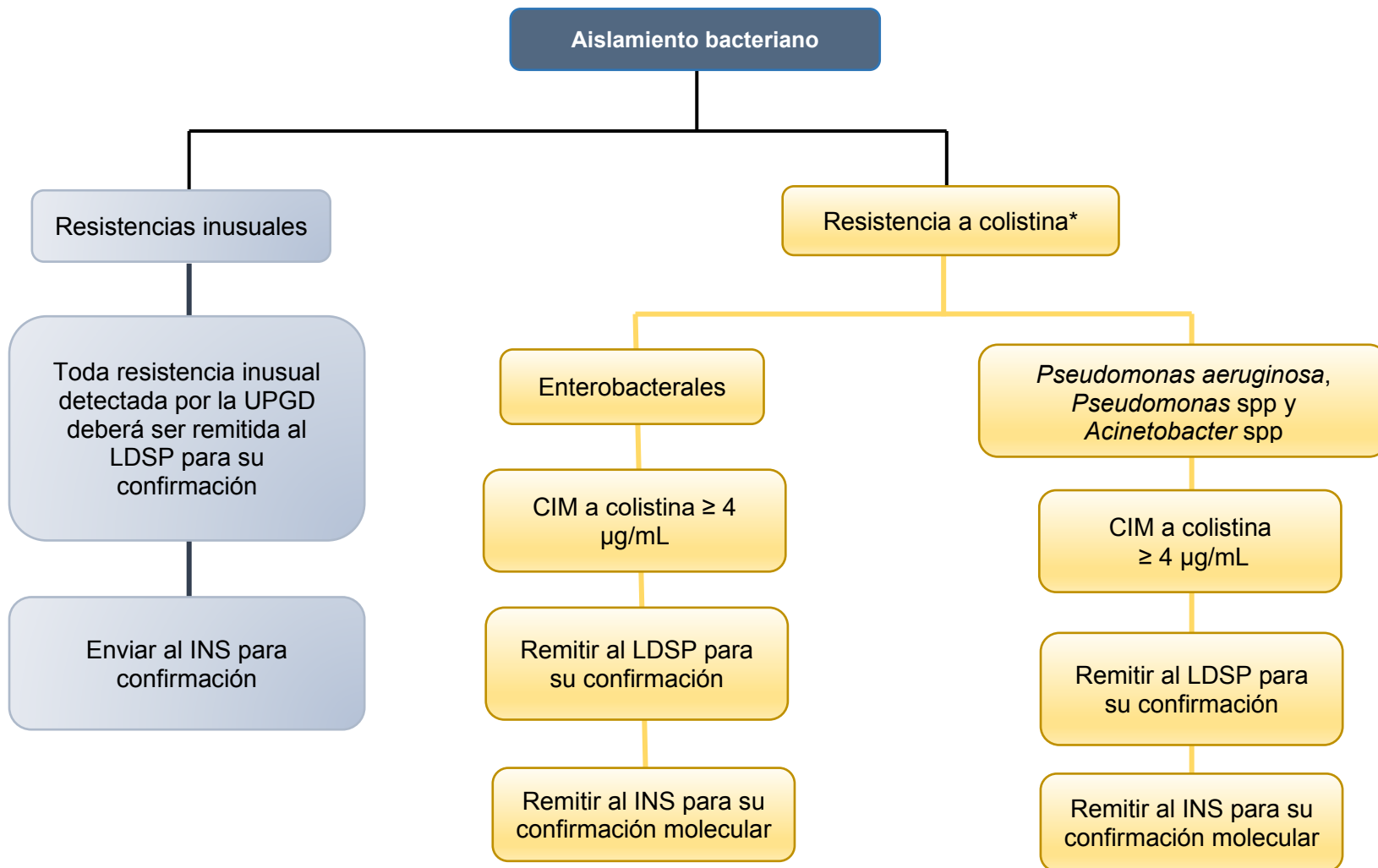
## 5. FLUJOGRAMA OTRAS METODOLOGÍAS PARA LA DETECCIÓN DE CARBAPENEMASAS



\*CLSI recomienda realizar las pruebas mCIM y eCIM únicamente en Enterobacteriales y *P. aeruginosa*.

Fuente: Grupo de Microbiología – Red Nacional de Laboratorios - INS

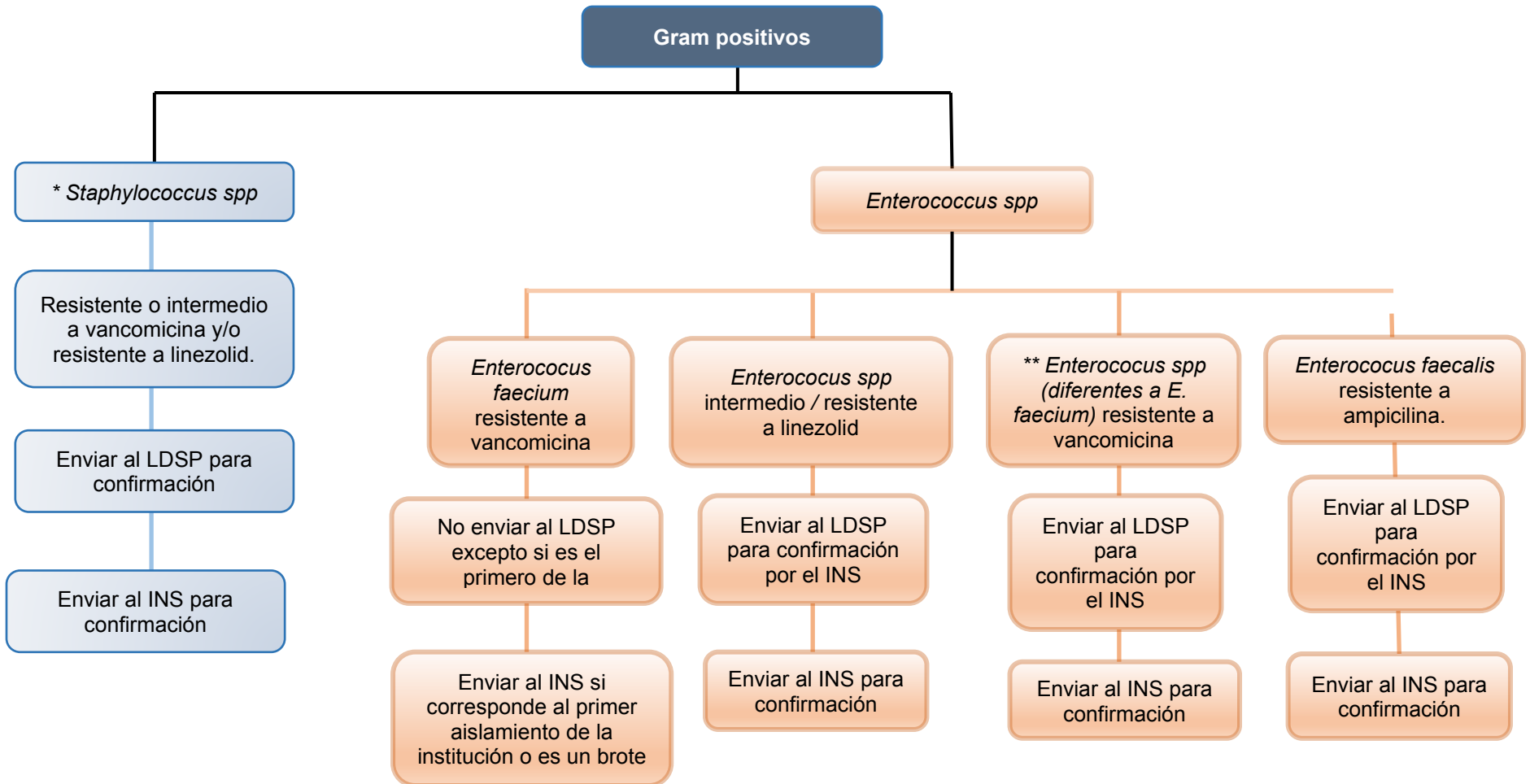
## 6. FLUJOGRAMA CONFIRMACIÓN DE RESISTENCIAS INUSUALES Y COLISTINA



\*No enviar aislamientos con resistencia intrínseca a colistina: *Proteus* spp, *Providencia* spp, *Serratia marcescens* y *Burkholderia cepacia* complex

Fuente: Grupo de Microbiología – Red Nacional de Laboratorios - INS

7. FLUJOGRAMA GRAM POSITIVOS *Enterococcus* spp., y *Staphylococcus* spp.



\* Independiente del servicio donde está ubicado el paciente, todos los aislamientos de *S. aureus* con resistencia a vancomicina deben ser enviados para confirmación al INS

\*\* Tener en cuenta que las especies de *Enterococcus* spp., que presentan resistencia intrínseca a vancomicina no deben ser enviadas al INS

\*\*\* Los aislamientos de *S. aureus* con resistencia a vancomicina deben ser remitidos al INS independiente del tipo de muestra

Fuente: Grupo de Microbiología – Red Nacional de Laboratorios - INS

## 8. FLUJOGRAMA IDENTIFICACIÓN DE LEVADURAS *Candida auris*

### 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 2YST y Phoenix

*C. haemulonii*,  
*C. duobushaemulonii*  
*Candida spp.*,  
*C. albicans*,  
*C. tropicalis*,  
*C. famata*,  
*C. guilliermondii*,  
*C. glabrata*,  
*C. catenulata*

Independiente del patrón de resistencia

Enviar para confirmación

#### Microscan

*C. guilliermondii*, *C. famata*, *C. lusitaniae*,  
*C. parapsilosis*, *C. sake*, *Candida spp.*, *Rodothorula spp.*, y  
*Sacharomyces spp.*, independiente de patrón de resistencia  
 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

#### 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.

*C. sake*, *C.intermedia*

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

Fuente: Grupo de Microbiología – Red Nacional de Laboratorios - INS

**9. ANEXOS****Anexo 1. Preparación de discos de EDTA-SMA**

**EDTA-SMA concentración de un disco (750µg EDTA + 2mg SMA).**

**Solución de trabajo: prepararla colocando 4 volúmenes de EDTA 0.5M pH 8.0 y 6 volúmenes SMA 300mg/mL de acuerdo a los discos que vaya a preparar.**

**Nota:** La solución de EDTA almacenarla a temperatura ambiente mientras la solución de SMA almacénela entre de 4 – 8 °C hasta por seis meses.

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 Solución de trabajo.
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.

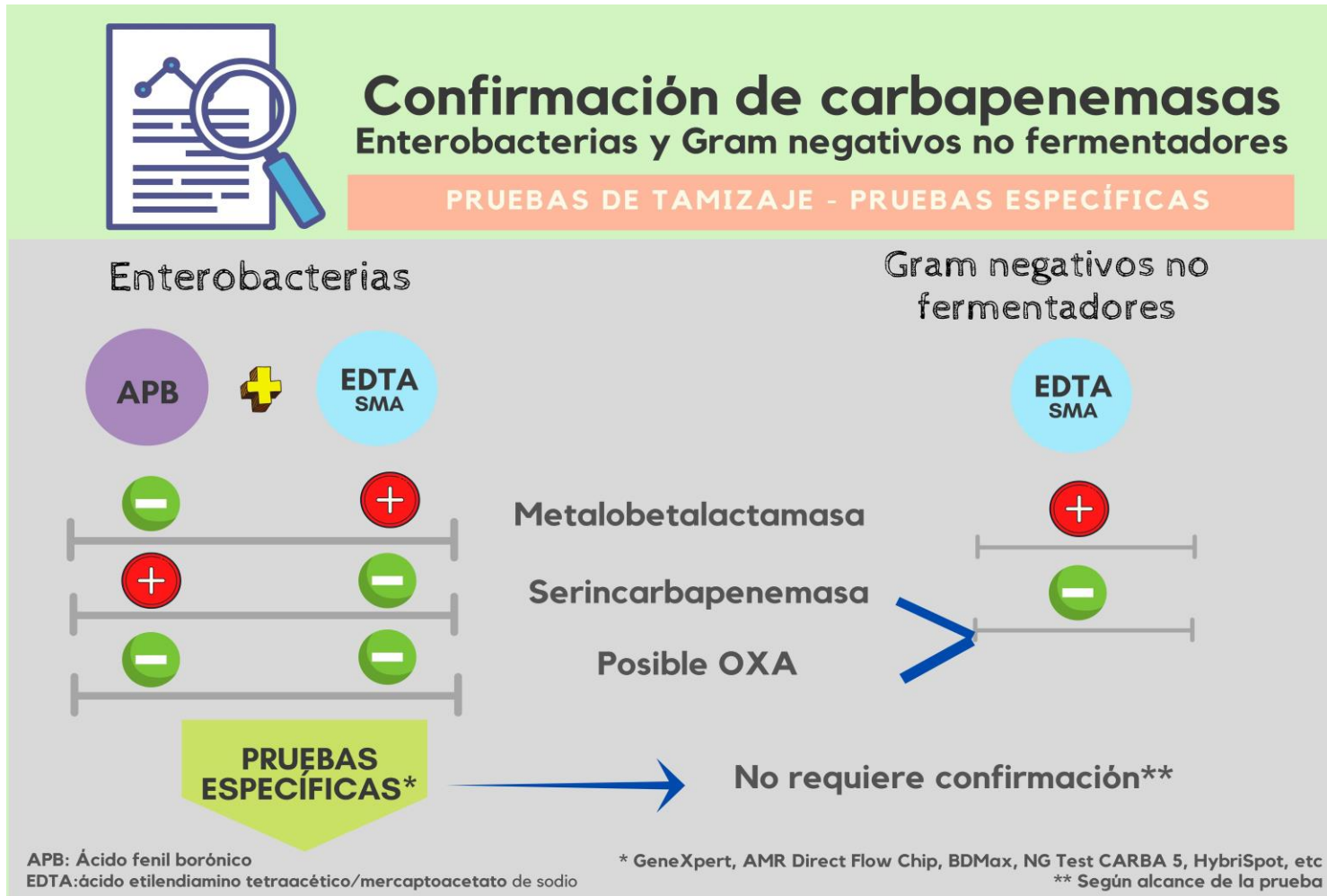
Después de tener la solución puede:

- a. 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.
  - b. Preparar la solución de trabajo
- #### 2. Preparación de disco de APB (300 µg disco). Preparar en cabina de flujo laminar.
- a. Preparar la solución de trabajo “ST” en un recipiente estéril o nuevo (como tubo falcón o de microcentrifuga).
  - b. 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.

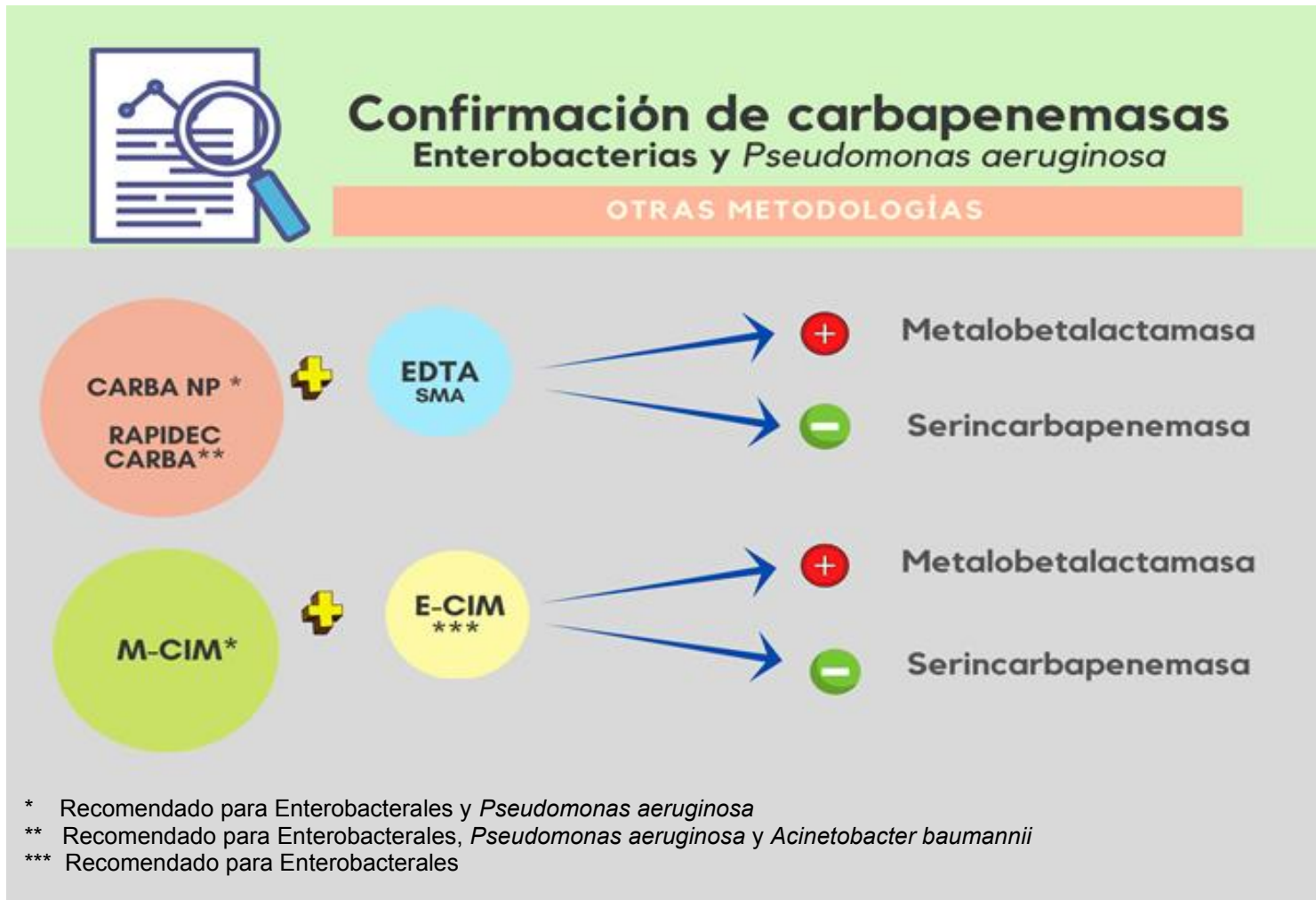
3. Colocar los discos en una caja de petri nueva o estéril, separándolos con una pinza estéril.
4. Agregar en cada disco de papel filtro 10 µL de la ST.
5. Dejar secar los discos por 30 minutos en la cabina de flujo laminar.
6. Guardar los discos listos en tubos de criopreservación a -20°C, máximo 20 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.



Fuente: Grupo de Microbiología – Red Nacional de Laboratorios - INS

Anexo 4. Confirmación de carbapenemasas en Enterobacterales y *Pseudomonas aeruginosa*: otras metodologías



Fuente: Grupo de Microbiología – Red Nacional de Laboratorios - INS



## 10. BIBLIOGRAFÍA

1. Clinical and Laboratory Standar Institute (CLSI). Performance Standars for Antimicrobial Susceptibility Testing; 30<sup>th</sup> edition. M100-2020.
2. Protocolo “Brote de infecciones asociadas a la atención en salud” disponible en: [https://www.ins.gov.co/buscador-eventos/Lineamientos/PRO%20INFECCIONES%20ASOCIADAS%20A%20LA%20ATENCION%20EN%20SALUD\\_.pdf](https://www.ins.gov.co/buscador-eventos/Lineamientos/PRO%20INFECCIONES%20ASOCIADAS%20A%20LA%20ATENCION%20EN%20SALUD_.pdf)
3. Centers for Disease control and Prevention (CDC). Global Emergence of Invasive Infections Caused by the Multidrug-Resistant Yeast Candida auris. <https://www.cdc.gov/fungal/candida-auris/candida-auris-alert.html>
4. Instituto Nacional de Salud. Circular Externa. [https://www.ins.gov.co/ buscador-eventos/Informacin de laboratorio/Circular-0025-2017- Fortalecimiento-Acciones-Vigilanca-Candia-auris.pdf](https://www.ins.gov.co/buscador-eventos/Informacin%20de%20laboratorio/Circular-0025-2017-Fortalecimiento-Acciones-Vigilanca-Candia-auris.pdf)