

Caracterización de especies de *Candida* aisladas de pacientes adultos en Unidad de Cuidados Intensivos y sus factores asociados a la colonización.

María Carolina Gutiérrez Galvis

Trabajo de Grado para Optar al Título de Magíster en Microbiología

Director

Clara Inés Sánchez Suárez

Doctora en Microbiología y Genética Molecular

Codirector

Yeny Zulay Castellanos Domínguez

Magíster en Epidemiología

Universidad Industrial de Santander

Facultad de Salud

Escuela de Microbiología

Maestría en Microbiología

Bucaramanga

2025

Dedicatoria

A Dios, por estar siempre presente y hacerlo posible.

A mi familia, por apoyarme siempre, por su amor incondicional y confianza.

A Daniel, por su compañía, amor y apoyo constante.

A los pacientes en Unidad de Cuidados Intensivos, quiénes son la razón que soporta esta investigación, para quiénes espero con este trabajo contribuir a la mejora en su atención y tratamiento.

Agradecimientos

A mi mamá por siempre apoyarme, por sus consejos y palabras de aliento cuando siempre lo necesitaba. Gracias por no dejarme caer.

A mi directora Clara Inés Sánchez Suárez, por la oportunidad y la confianza para realizar mis estudios de maestría, por su colaboración y sus enseñanzas.

A mi codirectora Yeny Zulay Castellanos, por su apoyo y asesoría en el diseño metodológico, análisis estadístico y ajustes en el documento.

Al Ministerio de Ciencias, por los recursos y el apoyo económico para realizar mi posgrado a través del proyecto 86269 de la convocatoria 897-2021 para proyectos de CTEI.

Al Hospital Universitario de Santander, a los investigadores del proyecto *“Desarrollo de una estrategia de medicina personalizada para el manejo preventivo, diagnóstico y tratamiento de candidiasis en Unidades de Cuidados Intensivos de adultos en el área metropolitana de Bucaramanga”* y a mis compañeros de laboratorio 404, por toda la colaboración y contribución para el desarrollo del trabajo.

Al profesor Enrique Mejía e Ian, por su apoyo y asesoría en el montaje e identificación por espectrometría de masas MALDI-TOF.

Tabla de Contenido

	Pág.
Introducción	12
1. Descripción del proyecto.....	13
1.1 Planteamiento del problema y justificación	13
2. Objetivos	17
2.1 Objetivo General.....	17
2.2 Objetivos Específicos	17
3. Cuerpo del trabajo.....	18
3.1 Marco conceptual.....	18
3.1.1 Generalidades de <i>Candida spp.</i>	18
3.1.2 Unidad de Cuidados Intensivos y colonización por <i>Candida spp.</i>	19
3.1.3 Colonización e infección por <i>Candida spp.</i>	19
3.1.4 Factores de riesgo para colonización e infección por <i>Candida spp.</i>	21
3.1.5 Índices de predicción de colonización por <i>Candida spp.</i>	21
3.1.6 Métodos para la identificación de <i>Candida spp.</i>	23
3.1.6.1 Métodos para la identificación presuntiva de <i>Candida spp.</i>	23
3.1.6.2 Métodos para la identificación definitiva de <i>Candida spp.</i>	24
3.2 Antecedentes	25
3.3 Metodología	29
3.3.1 Diseño del estudio.....	29
3.3.2 Población y muestra.....	29
3.3.3 Criterios de selección.....	30

3.3.3.1	Criterios de inclusión:	30
3.3.3.2	Criterios de exclusión:	30
3.3.4	Variables de estudio.....	31
3.3.5	Instrumento de recolección de datos.....	31
3.3.6	Caracterización de los participantes del estudio	31
3.3.7	Procesamiento de muestras clínicas.....	32
3.3.8	Determinación de la colonización por Candida spp.....	33
3.3.9	Criopreservación de los aislamientos	36
3.3.10	Identificación de los aislamientos de Candida spp.....	36
3.3.10.1	Identificación por bioquímica y pruebas complementarias.....	36
3.3.10.1.1	Identificación por RapID Yeast Plus.	36
3.3.10.1.2	Crecimiento en CHROMagar Candida.....	37
3.3.10.1.3	Agar tabaco.....	37
3.3.10.2	Identificación por espectrometría de masas MALDI-TOF.....	37
3.3.10.3	Identificación molecular por secuenciación de región ITS	39
3.3.10.3.1	Extracción ADN de levaduras.....	39
3.3.10.3.2	Amplificación de región ITS por técnica de PCR.	39
3.3.10.3.3	Secuenciación de región ITS	41
3.3.10.3.4	Análisis de secuencias.	41
3.3.11	Análisis estadístico	42
3.4	Aspectos éticos.....	43
4.	Resultados	46
4.1	Descripción sociodemográfica y clínica de los participantes del estudio	46

4.2	Determinación de la colonización por <i>Candida</i> spp. en pacientes en Unidad de Cuidados intensivos.....	50
4.3	Distribución de especies de <i>Candida</i> colonizante	54
4.4	Asociación de los factores sociodemográficos y clínicos con la colonización por <i>Candida</i> spp. en los participantes del estudio	59
4.4.1	Análisis bivariado	59
4.4.2	Análisis multivariado.....	62
5.	Discusión de resultados	64
6.	Conclusiones	77
7.	Recomendaciones	78
	Referencias Bibliográficas	79
	Apéndices.....	94

Lista de Tablas

	Pág.
Tabla 1 <i>Estimación del tamaño de muestra del estudio</i>	30
Tabla 2 <i>Composición de la reacción de PCR</i>	40
Tabla 3 <i>Condiciones de la PCR</i>	41
Tabla 4 <i>Características sociodemográficas de los participantes del estudio</i>	46
Tabla 5 <i>Primera parte, características clínicas de los participantes del estudio</i>	47
Tabla 6 <i>Segunda parte, características clínicas de los participantes del estudio</i>	48
Tabla 7 <i>Colonización y tipo de colonización por Candida spp. en los participantes del estudio</i> ..	51
Tabla 8 <i>Colonización por Candida spp. según el sitio anatómico.</i>	53
Tabla 9 <i>Estimación del índice de colonización en pacientes con siete días de estancia en UCI</i> ..	54
Tabla 10 <i>Distribución de Candida spp. en general y por sitio anatómico</i>	55
Tabla 11 <i>Distribución de levaduras general y por sitio anatómico</i>	57
Tabla 12 <i>Concordancia de aislamientos identificados por RapID, MALDI-TOF y secuenciación ITS</i>	59
Tabla 13 <i>Análisis bivariado de variables sociodemográficas entre pacientes no colonizados y colonizados</i>	60
Tabla 14 <i>Análisis bivariado de variables clínicas entre pacientes no colonizados y colonizados</i>	61
Tabla 15 <i>Modelo de regresión propuesto</i>	63
Tabla 16 <i>Interpretación de las pruebas del sistema RapID Yeast Plus:</i>	122

Lista de Figuras

	Pág.
Figura 1 <i>Técnicas de siembra empleadas para el procesamiento de muestras clínicas</i>	33
Figura 2 <i>Sello replicador, placa primaria de SDAC con crecimiento (izquierda) y CHROMagarTM Candida (derecha)</i>	34
Figura 3 <i>Impronta del cultivo primario utilizando sello replicador</i>	35
Figura 4 <i>Colonización mixta por dos especies diferentes de Candida spp. usando el sello replicador</i>	51
Figura 5 <i>Colonización mixta por tres especies diferentes de Candida spp. usando el sello replicador</i>	52
Figura 6 <i>Colonización por única especie de Candida spp. usando el sello replicador</i>	52
Figura 7 <i>Dendrograma construido en MBT Compass Explorer utilizando componentes principales (PCA)</i>	58
Figura 8 <i>Formato de registro de resultados del sistema RapID Yeast Plus:</i>	122
Figura 9 <i>Crecimiento en agar tabaco de C. albicans ATCC 14053 (izquierda) y C. dubliniensis NCPF ATCC 3949 (derecha)</i>	123
Figura 10 <i>Observación del agar tabaco a 40x con azul de lactofenol: Ausencia de clamidoconidas (izquierda) y presencia de clamidoconidias (derecha)</i>	124
Figura 11 <i>Muestras en gradilla magnética para recolección de las perlas magnéticas.</i>	129

Lista de Apéndices

	pág.
Apéndice A. Consentimiento informado del macroproyecto.....	94
Apéndice B Tabla de operacionalización de variables.....	99
Apéndice C Instrumento de recolección de datos clínicos y sociodemográficos.	116
Apéndice D Instrumento de recolección de datos microbiológicos	117
Apéndice E Agar Sabouraud 2%. (SDA-Merck).....	118
Apéndice F CHROMagar™ Candida.....	119
Apéndice G. Procedimiento para el montaje del panel RapID Yeast Plus (ThermoFisher Scientific, 2004).....	120
Apéndice H Agar tabaco (Girish Kumar & Menon, 2005).....	123
Apéndice I Extracción total de proteínas y montaje para identificar por MALDI-TOF	125
Apéndice J Preparación y montaje del Bacterial Test Standard (BTS – Bruker Daltonik)	127
Apéndice K Protocolo de extracción de ADN utilizando el kit MagMax™ Viral Pathogen Nucleic Acid Isolation Kit	128
Apéndice L Aval del Comité de ética en investigación CEINCI.	131

Resumen

Título: Caracterización de especies de *Candida* aisladas de pacientes adultos en Unidad de Cuidados Intensivos y sus factores asociados a la colonización.*

Autor: María Carolina Gutiérrez Galvis **

Palabras Clave: Levaduras, *Candida*, Pacientes, Unidades de Cuidados Intensivos, Colombia.

Introducción: La colonización por *Candida* spp. es considerada uno de los principales factores de riesgo asociado al desarrollo de candidiasis invasiva en los pacientes críticos. Por lo tanto, es fundamental estudiar a nivel local la prevalencia de colonización, distribución de especies y factores asociados para orientar la toma de decisiones clínicas. **Objetivo:** Determinar las especies de *Candida* que colonizan a los pacientes adultos en Unidad de Cuidados Intensivos, así como su asociación con las características sociodemográficas y clínicas. **Metodología:** Estudio observacional, analítico de corte transversal. Se determinó la colonización por *Candida* spp. en adultos al momento de ingreso a UCI en muestras de orina, hisopado de piel en axila, ingle, frotis faríngeo y aspirado traqueal. Se sembraron en SDAC 2% y CHROMagar™ *Candida* para determinar colonización mixta. Los aislamientos fueron identificados mediante RapID Yeast Plus, MALDI TOF y pruebas complementarias. Se realizó un análisis estadístico univariado, bivariado y multivariado determinando la prevalencia de colonización y factores asociados. **Resultados:** Se estudiaron 114 pacientes, el 73,7% (n=84) presentó colonización por *Candida* spp., siendo colonización monofocal en el 51,2% (n=43). La zona inguinal correspondió al sitio más colonizado (34,04%, n=48). En total se obtuvieron 183 aislamientos de *Candida* con predominio de *C. albicans* (43,7%, n=80) y un 56% de especies no *albicans* (n=103). La presencia de sepsis (RP=1,34 IC 95% 1,11-1,61, $p= 0,020$), infección bacteriana localizada (RP=1,31 IC 95% 1,08-1,58, $p= 0,028$) y cirugía reciente (RP=0,69 IC 95% 0,51-0,93, $p= 0,004$) se asoció a la colonización por *Candida*. **Conclusiones:** Se generaron los primeros datos en Santander sobre la colonización por *Candida* en pacientes críticos, evidenciando una alta prevalencia de colonización al ingreso a la UCI, con presencia diferencial de especies de *Candida*, y encontrando como factores asociados de mayor probabilidad de colonización la presencia de sepsis e infección bacteriana y de menor probabilidad de colonización la cirugía reciente.

* Trabajo de Grado

** Facultad de Salud. Escuela de Microbiología. Maestría en Microbiología. Directora: Clara Inés Sánchez Suárez. Doctora en Microbiología y Genética Molecular. Codirectora: Yeny Zulay Castellanos Domínguez. Magíster en Epidemiología.

Abstract

Title: Characterization of Candida Species Isolated from Adult Patients admitted in Intensive Care Units and Their Factors Associated with Colonization*

Author(s): María Carolina Gutiérrez Galvis**

Key Words: Yeasts, Candida, Patients, Intensive Care Units, Colombia

Introduction: *Candida* spp. colonization is recognized as a major risk factor for the development of invasive candidiasis in critically ill patients. Therefore, it is crucial to assess the local prevalence of colonization, species distribution, and associated risk factors to guide clinical decision-making and improve patient outcomes. **Objective:** To identify the *Candida* species colonizing adult patients in the Intensive Care Unit (ICU) and to examine the association of colonization with sociodemographic and clinical characteristics. **Methodology:** This was an observational, analytical, cross-sectional study. Colonization by *Candida* spp. was assessed upon admission to adult ICU using urine samples, skin swabs from the axilla and groin, pharyngeal swabs, and tracheal aspirates. Samples were cultured on SDAC 2% and CHROMagar™ Candida to detect mixed colonization. Species identification was performed using RapID Yeast Plus, MALDI-TOF, and supplementary tests. Univariate, bivariate, and multivariate statistical analyses were conducted to determine colonization prevalence and associated factors. **Results:** A total of 114 patients were included, 73,7% (n=84) of whom exhibited *Candida* colonization at ICU admission, with monofocal colonization detected in 51,2%(n=43) of cases. The groin was the most frequently colonized site (34,04%, n=48), and 183 isolates were obtained in total, predominantly *C. albicans* (43,7%, n=80), with 56% isolates identified as non-*albicans* species n=103. Sepsis (PR=1,34 CI 95% 1,11-1,61, $p= 0,020$), localized bacterial infection (PR=1,31 CI 95% 1,08-1,58, $p= 0,028$), and recent surgery (PR=0,69 CI 95% 0,51-0,93, $p= 0,004$) were found to be significantly associated with *Candida* colonization. **Conclusions:** This study provides the first local data on *Candida* colonization in critically ill patients in Santander, revealing a high prevalence of colonization at ICU admission and highlighting species-specific patterns. The presence of sepsis and localized bacterial infection were associated with an increased likelihood of colonization, while recent surgery was identified as a protective factor.

* Degree Work

**Faculty of Health. School of Microbiology. Master's in Microbiology. Director: Clara Inés Sánchez Suárez. Ph.D. in Microbiology and Molecular Genetics. Co-director: Yeny Zulay Castellanos Domínguez. Master's Degree in Epidemiology.

Introducción

Las especies de *Candida* son levaduras comensales que forman parte integral de la microbiota por su capacidad de adaptación a cambios adversos en el hospedero, colonizando diferentes nichos como la piel, cavidad oral, tractos gastrointestinal, respiratorio y urogenital. Sin embargo, ante cambios en el ambiente promovidos por alteraciones en la microbiota o en el sistema inmune, *Candida* spp. tiene la capacidad de sobrecrecer, cruzar las barreras epiteliales y causar infección grave (Alves Id et al., 2020).

La candidiasis invasiva es una de las principales enfermedades causadas por el género en pacientes en Unidad de Cuidados Intensivos (UCI), se asocia con una alta mortalidad atribuible del 49%, pero puede aumentar hasta el 98% en pacientes con shock séptico con retraso en la instauración de terapia antimicótica (Liew et al., 2015; Thomas-Rüddel et al., 2022).

Se ha reconocido que la colonización por *Candida* spp. tiene un impacto significativo en el desarrollo de candidiasis invasiva, junto con factores clínicos relacionados a la condición crítica base del paciente y a procedimientos médicos invasivos a los cuales son sometidos (Cortes et al., 2020; Logan et al., 2020; Thomas-Rüddel et al., 2022).

En nuestro medio, no se han realizado estudios relacionados a la colonización por *Candida* spp. en pacientes adultos en UCI ni se conoce la distribución de especies implicadas y los factores sociodemográficos y clínicos asociados, por lo tanto, el presente estudio proporciona los primeros resultados en la región para aportar a la epidemiología local que sirva de guía a los clínicos para el manejo de la conducta clínica y terapéutica del paciente.

1. Descripción del proyecto

1.1 Planteamiento del problema y justificación

La UCI es un escenario clínico donde se presta el cuidado a pacientes que sufren enfermedades que amenazan la vida o corren el riesgo de desarrollarlas, ofreciendo provisión de soporte y monitoreo avanzado de órganos, con un abordaje médico multidisciplinar para minimizar la morbilidad y mortalidad de los pacientes (Jackson & Cairns, 2021).

La candidiasis invasiva es reconocida como la principal micosis asociada al cuidado crítico, con una mortalidad entre el 40 al 55%, asociada a factores que constituyen un riesgo para adquirir la infección como el uso de antibióticos de amplio espectro, el tratamiento inmunosupresor, la administración de nutrición parenteral total y la colonización por *Candida* spp., entre otros; con impactos en la morbilidad, mortalidad, prolongación de la estancia hospitalaria y aumento de los costos asociados a la atención en salud (Logan et al., 2020).

Considerando el impacto que la candidiasis invasiva genera en los pacientes críticamente enfermos, se han desarrollado estrategias encaminadas a la identificación de pacientes en alto riesgo que pueden beneficiarse de una terapia profiláctica para evitar la progresión a infección grave y mejorar la supervivencia de los pacientes.

El desarrollo de estas estrategias está basado en estudios de asociación entre las características sociodemográficas y clínicas de los pacientes con colonización e infección por *Candida* spp., así como asociación con la distribución de especies y los patrones de susceptibilidad a los antifúngicos, teniendo como objetivo el desarrollo de modelos predictivos que puedan aplicarse en los servicios de UCI. Sin embargo, dada la diversidad epidemiológica de la candidiasis y las diferencias inherentes de los grupos de pacientes críticos a nivel global, se imposibilita la

generalización de estas estrategias para implementar aplicaciones clínicas realmente eficaces (Lau et al., 2015).

El diagnóstico de infecciones fúngicas ha aumentado principalmente en los pacientes en la UCI por la presencia de factores de riesgo intrínsecos y extrínsecos. Entre ellos se destacan las condiciones críticas asociadas con estados severos y continuos de inmunosupresión, así como la práctica de procedimientos invasivos, lo cual permite la colonización por *Candida* spp., considerada el primer paso hacia una infección grave (Caggiano et al., 2011).

En los pacientes en la UCI, la colonización por *Candida* spp. se considera uno de los principales factores de riesgo para el desarrollo de candidiasis invasiva (Eggimann et al., 2014); con una estimación de colonización al ingreso a la UCI del 5% al 15%, aumentando esta proporción hasta al 50 - 80% de los pacientes conforme a la prolongación de su estancia en esta área hospitalaria, donde del 5 al 30% de ellos desarrollan candidiasis invasiva (León et al., 2014). Así, un estudio prospectivo multicéntrico realizado en Lisboa reportó un 27,3% de colonización al ingreso al servicio de UCI y aumenta al 42,9% y 52,7% al quinto y octavo día de estancia, respectivamente (Nascimento et al., 2024). La colonización en la mayoría de los casos es de origen endógeno por la presencia de *Candida* spp. como parte de la microbiota, aunque se sugiere una transmisión alternativa a partir de fuentes exógenas como el medio ambiente o los trabajadores de la salud (Jacobs et al., 2015).

La alta proporción de pacientes colonizados por *Candida* spp. y la distribución de especies en UCI se ha asociado a factores clínicos y sociodemográficos de los pacientes (Eggimann et al., 2003; Eggimann & Pittet, 2014; Gloeckner & Abel, 2010; Van Bang et al., 2020). A nivel mundial, el 90% de los aislamientos corresponden a especies de *Candida albicans*, *Nakaseomyces glabratus* (anteriormente *Candida glabrata*), *Candida tropicalis*, *Candida parapsilosis* y *Pichia kudriavzevii*

(anteriormente *Candida krusei*), siendo *Candida albicans* la especie más común (abarcando del 38 al 70% de los casos) a pesar de que su incidencia ha disminuido con el tiempo mientras se ha evidenciado un aumento en la detección de especies de *Candida no albicans* (Colombo et al., 2006, 2017; Oñate et al., 2019; Quindós, 2014).

Resulta importante evaluar la colonización y distribución de especies de *Candida* en estos pacientes con el fin de guiar un tratamiento oportuno, reduciendo el riesgo de candidiasis invasiva, la cual es considerada la principal causa de micosis intrahospitalaria, con la candidemia como la forma clínica que ocurre con mayor frecuencia. Según Nucci et al. 2013 y Cortés et al, 2020 en Colombia se presenta hasta en el 88% de las infecciones fúngicas en pacientes hospitalizados, con una mortalidad que oscila entre el 36% y el 40% (Cortes et al., 2020; Nucci et al., 2013).

Considerando lo anterior, es necesario determinar los factores asociados a la colonización por *Candida spp.* en este ambiente hospitalario en el Hospital Universitario de Santander. Esta necesidad también se justifica dada la escasa información disponible de la epidemiología de candidiasis en Colombia y en específico en el departamento de Santander, teniendo en cuenta que no se han realizado estudios previos en la región que documenten el estado de colonización por *Candida spp.* de los pacientes críticamente enfermos.

La identificación de estos factores aportará a la epidemiología regional que orienta a la toma de decisiones clínicas en torno al manejo de los pacientes. Finalmente, la ejecución del proyecto aporta al desarrollo del trabajo de los profesionales de la salud al mejorar el cuidado de los pacientes, teniendo en cuenta la generación de datos específicos sobre prevalencia y factores asociados a la colonización por *Candida* a nivel local, contribuyendo también al conocimiento científico permitiendo el desarrollo profesional y la formación de habilidades de investigación.

En el contexto planteado, surge la pregunta de investigación: ¿Cuáles son las características sociodemográficas y clínicas de pacientes adultos en Unidad de Cuidados Intensivos asociadas a la colonización por *Candida* spp?, generando como hipótesis de investigación que la colonización por *Candida* spp. en pacientes adultos en Unidad de Cuidados Intensivos está asociada a la edad, el sexo, y la presencia de infección bacteriana concurrente.

2. Objetivos

2.1 Objetivo General

Determinar las especies de *Candida* que colonizan a los pacientes adultos en Unidad de Cuidados Intensivos, así como su asociación con las características sociodemográficas y clínicas.

2.2 Objetivos Específicos

Caracterizar sociodemográfica y clínicamente pacientes adultos que ingresan al servicio de Unidad de Cuidados Intensivos en el Hospital Universitario de Santander.

Determinar la frecuencia y el tipo de colonización por *Candida* en la población de estudio.

Establecer el perfil de distribución de especies de *Candida* en la población de estudio, mediante la identificación a nivel de especie con métodos convencionales y MALDI-TOF.

Determinar los factores sociodemográficos y clínicos asociados a la colonización por *Candida* spp. en la población de estudio.

3. Cuerpo del trabajo

3.1 Marco conceptual

3.1.1 Generalidades de *Candida spp.*

Las levaduras son organismos unicelulares, ubicuos, que en su mayoría se reproducen por gemación formando blastoconidias y otras estructuras como pseudohifas, hifas verdaderas y clamidoconidias las cuales permiten orientar su identificación presuntiva a nivel de género y especie a través de microscopía y pruebas bioquímicas. Los géneros *Candida* y *Cryptococcus* son considerados los de mayor importancia clínica (Walsh et al., 2018).

Las levaduras del género *Candida* pertenecen a la familia *Saccharomycetaceae* de las cuales se han identificado cerca de 200 especies. Sin embargo, en los últimos años los avances en los estudios moleculares han provocado re-arreglos taxonómicos separando especies del género *Candida* en géneros diferentes tales como *Nakaseomyces glabratus* (antes *C. glabrata*), *Pichia kudriavzevii* (antes *C. krusei*), *Meyerozyma guilliermondii* (antes *C. guilliermondii*), *Clavispora lusitaniae* (antes *C. lusitaniae*) y *Kluyveromyces marxianus* (antes *C. kefir*), entre otros (Kidd et al., 2021; Takashima & Sugita, 2022). Se reconoce a *Candida albicans*, *Nakaseomyces glabratus*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* y *Pichia kudriavzevii* como las especies más comúnmente asociadas a enfermedad infecciosa y otras como *C. auris*, *Meyerozyma guilliermondii*, *Clavispora lusitaniae* y *C. metapsilosis* son consideradas especies emergentes de interés particular por su rápida expansión a nivel global, con reporte de brotes (Alves Id et al., 2020). En los humanos, se han identificado diversas especies como comensales y colonizadoras del tracto gastrointestinal, tracto respiratorio superior, piel, boca y mucosa vaginal. Sin embargo, se consideran los patógenos oportunistas más comunes en humanos causando morbilidad y mortalidad en los hospederos,

representando aproximadamente el 80% de todas las infecciones nosocomiales por hongos las cuales son de rápida progresión, frecuentemente graves y difíciles de diagnosticar (Campos Junqueira et al., 2020; Magalhães et al., 2015).

3.1.2 Unidad de Cuidados Intensivos y colonización por *Candida spp.*

La Unidad de Cuidados Intensivos se define como un servicio interdisciplinario especializado, los cuáles prestan atención a pacientes críticamente enfermos con mayor capacidad de seguimiento y múltiples estrategias de soporte para mantener la vida durante un período crítico de salud que puede ser potencialmente mortal (Asociación Colombiana de Medicina Critica y Cuidado Intensivo. AMCI, 2022). En particular, el Hospital Universitario de Santander (HUS) es una institución pública de salud de orden departamental de tercer nivel de atención que cuenta con tres pisos de UCI adultos polivalente con 53 camas plenas, ubicados en el tercer, cuarto y noveno piso, con una relación de atención de tres pacientes para una enfermera y auxiliar de enfermería y en total cuenta con 64 enfermeras y 64 auxiliares de enfermería. Teniendo en cuenta el estado crítico de salud de este grupo de pacientes, junto con el uso extendido de antibióticos de amplio espectro y la práctica de procedimientos invasivos, la colonización por *Candida* ha adquirido relevancia como un predictor del desarrollo de candidiasis invasiva, considerada la enfermedad fúngica más prevalente en las Unidades de Cuidados Intensivos (Alenazy et al., 2021), debido a que el estado de colonización antecede la infección, siendo incorporada este factor dentro de herramientas predictivas para la candidiasis invasiva.

3.1.3 Colonización e infección por *Candida spp.*

Las especies de *Candida* son colonizadoras tempranas formando parte del microbioma del hospedero. Principalmente, colonizan el tracto gastrointestinal, dada la capacidad de adherirse a las células epiteliales y mucosas, de resistir e interactuar con la respuesta inmune y de competir y

cooperar con otros miembros de la microbiota. Además, el polimorfismo de algunas especies, que permite cambiar de la forma levaduriforme a filamentosa, considerada patogénica, le otorga la posibilidad de invadir tejidos y favorecer la formación de biopelículas en el hospedero y en dispositivos médicos (Romo & Kumamoto, 2020).

La distinción entre colonización e infección por *Candida* spp. es compleja. Según el proyecto EPCAN (Estudio de prevalencia de Candidiasis) (León et al., 2009), la colonización por *Candida* spp. es definida como la presencia de la levadura en muestras control de vigilancia como las obtenidas de orina, aspirados traqueales, orofaringe, tracto gastrointestinal o heces. Se puede considerar monofocal cuando se aísla de un solo sitio corporal y multifocal cuando es aislada simultáneamente de varios focos. Otros autores definen la colonización por *Candida* spp. como el crecimiento repetido de la levadura en al menos dos sitios diferentes (Caggiano et al., 2011). En contraste, la infección por *Candida* spp. es definida como el aislamiento de la levadura de acuerdo con los siguientes criterios (León et al., 2009):

- Crecimiento de la levadura en muestras estériles como hemocultivos, líquidos intraoculares, pleural o pericárdico, muestras obtenidas de la cavidad abdominal durante procedimiento quirúrgico u otro tipo de muestra no considerada de vigilancia.
- Fondoscopia compatible con endoftalmitis por *Candida* spp. en paciente con sepsis clínica.
- Candidiasis histológicamente documentada.

El panel de expertos del proyecto FUNDICU (Invasive Fungal Diseases in Adult Patients in Intensive Care Unit) (Bassetti et al., 2024) presentó las definiciones consenso de diagnóstico comprobado de Candidemia y Candidiasis Invasiva en pacientes no neutropénicos en UCI:

Candidemia comprobada: Aislamiento de *Candida* spp. de al menos un hemocultivo obtenido por venopunción (No de un catéter).

Candidiasis invasiva: La identificación de *Candida* spp. proveniente de sitios estériles mediante técnicas de microscopía directa, cultivo o histología define la candidiasis invasiva (ya sea candidemia o candidiasis profunda). La evidencia histológica de células en gemación compatibles con *Candida* spp. define directamente la candidiasis invasiva comprobada. Sin embargo, la observación de hifas o pseudohifas requiere la identificación de especies mediante PCR o cultivo, teniendo en cuenta que pueden observarse estas estructuras en otras levaduras.

3.1.4 Factores de riesgo para colonización e infección por *Candida* spp.

Los factores de riesgo o determinantes se definen como una característica, condición o variable que está asociada con el incremento del riesgo de una enfermedad o infección (Definition of Microorganism - NCI Dictionary of Cancer Terms - NCI). Pueden considerarse intrínsecos cuando están presentes durante el tiempo de estancia hospitalaria y estén relacionados con la condición clínica del paciente o enfermedad previa, tales como el tiempo de hospitalización, la microbiota colonizadora, inmunosupresión, falla renal y hepática y, extrínsecos cuando son debidos a intervenciones realizadas para el control o tratamiento de enfermedades agudas o crónicas como la realización de procedimientos médicos invasivos entre los que se incluyen las cirugías, la nutrición parenteral, el uso de catéter intravascular, entre otros (León et al., 2009). Con respecto a los factores asociados a infección y colonización por *Candida* spp., el principal factor de riesgo es la gravedad de la condición base del paciente que conlleva a factores adicionales de riesgo descritos previamente (Cortés et al., 2020; Logan et al., 2020).

3.1.5 Índices de predicción de colonización por *Candida* spp.

Teniendo en cuenta que la colonización por *Candida* spp. es el primer paso para el desarrollo de infección invasiva se han establecido reglas de predicción clínica que incorporan

factores del hospedero junto con la colonización para identificar a los pacientes críticos en riesgo de desarrollar candidiasis invasiva.

La colonización por *Candida* puede ser estimada a través de índices de predicción:

Índice de Colonización (Colonization index CI): Propuesto por Pittet (Pittet et al., 1994) como una herramienta clínica de uso periódico para evaluar el riesgo temprano de desarrollar candidiasis invasiva en pacientes de riesgo y que puedan beneficiarse de un tratamiento antifúngico temprano. Se define como la proporción entre el número de sitios, diferentes a sangre, colonizados por *Candida* spp. con respecto al total de sitios cultivados. Su punto de corte es 0,5, dado que se encontró que este valor permite la identificación de todos los pacientes infectados días antes del diagnóstico propio de infección.

$$CI = \frac{\text{Número de sitios colonizados por } Candida \text{ spp.}}{\text{Total de sitios cultivados}}$$

Candida Score: Es una herramienta clínica basada en un sistema de puntuación propuesto por León et al. (2006) para identificar pacientes con estancia en UCI no neutropénicos en riesgo de desarrollar candidiasis invasiva, basada en la combinación de varios factores de riesgo clínicos y microbiológicos probados mediante análisis de regresión logística: Cirugía previa, colonización multifocal, nutrición parenteral total y sepsis severa, asignando un punto a cada uno de los tres primeros factores si están presentes y dos puntos a sepsis severa si está presente. Un Candida score mayor o igual a 3 se asocia con un riesgo elevado de candidiasis invasiva, sugiriendo que el paciente podría beneficiarse de una terapia antifúngica empírica (León et al., 2006, 2009).

3.1.6 Métodos para la identificación de *Candida spp.*

Es necesario el uso de métodos que permitan la identificación precisa de la levadura para garantizar un tratamiento efectivo, prever el pronóstico de la enfermedad, comprender la epidemiología de las infecciones fúngicas y prevenir recurrencias. Dentro de los métodos de identificación, se describen los siguientes:

3.1.6.1 Métodos para la identificación presuntiva de *Candida spp.* Basados en la observación y descripción de las características macroscópicas y microscópicas en medios de cultivo sólidos o líquidos enriquecidos como el agar Sabouraud Dextrosa, agar harina de maíz, y en el uso de agares cromogénicos para la detección cualitativa de las especies de *Candida* de mayor importancia clínica y de ciertas pruebas como prueba del tubo germinal, prueba de agar tabaco, ureasa y crecimiento a 37°C (*Identificación y Sensibilidad a Los Antifúngicos En Levaduras Del Género Candida - 2021 | Campus Virtual de Salud Pública (CVSP/OPS)*, n.d.).

CHROMagar™ *Candida*: Es un medio cromogénico selectivo para la detección cualitativa, diferenciación e identificación presuntiva de especies de *C. albicans*, *C. tropicalis*, *P. kudriavzevii* y *N. glabrata* mediante la coloración diferencial que adquieren las colonias en el medio de cultivo (CHROMagar™, 2022). Resulta útil en la determinación de colonización e infección mixta. Existen diferentes marcas que producen medios de cultivo cromogénico para la identificación y diferenciación de especies de *Candida* tales como HiCrome™ *Candida* Differential Agar (HiMedia, n.d.), Brilliance™ *Candida* Agar (ThermoFisher Scientific, n.d.) que permite la identificación de *C. albicans* y *C. tropicalis* de otras especies de *Candida* y otros medios que permiten la identificación presuntiva de *C. auris* como el CHROMagar™ *Candida* Plus (CHROMagar™, n.d.) y el HardyCHROM™ *Candida* + *auris* (Hardy Diagnostics, n.d.) que permite la diferenciación por la morfología de las colonias, el color y la fluorescencia con luz UV.

3.1.6.2 Métodos para la identificación definitiva de *Candida* spp. Basados en las características fisiológicas y bioquímicas de las levaduras tales como la fermentación de azúcares, asimilación de compuestos carbonados, nitrogenados o, la acción enzimática sobre diferentes sustratos. Corresponden a kits comerciales manuales (API 20C AUX, RapID Yeast Plus, entre otros) o automatizados (Vitek, Phoenix o Microscan) de uso en la rutina del laboratorio de microbiología al identificar las especies de *Candida* más comunes en la clínica. Sin embargo, su habilidad de identificar especies muy relacionadas filogenéticamente (complejo de especies crípticas) puede ser limitado, siendo necesario confirmar la identificación con métodos como MALDI-TOF o técnicas basadas en biología molecular (Ceballos-Garzón et al., 2019.; Marklein et al., 2009).

Sistema RapID™ Yeast Plus (Remel): Es un micro método cualitativo que utiliza 18 sustratos convencionales y cromogénicos para la identificación de levaduras, microorganismos levaduriformes y relacionados aislados a partir de muestras clínicas humanas. El sistema de identificación se basa en la degradación de sustratos específicos por parte de los microorganismos detectados por sistemas indicadores (Remel, 2019).

MALDI-TOF: Es una técnica basada en la espectrometría de masas de determinación estructural que permite estudiar la distribución de las moléculas de una muestra en función de su masa. La introducción de la ionización suave permitió el análisis de biomoléculas de gran tamaño utilizando un láser como fuente de ionización y una matriz orgánica. Las siglas de MALDI-TOF MS significan “*Espectrometría de masas con ionización-desorción asistida por matriz con tiempo de vuelo*”. Es actualmente utilizada para la identificación de microorganismos al permitir el análisis de macromoléculas (proteínas ribosómicas) entre los 2.000 Da y los 20.000 Da, constituyendo el espectro de un microorganismo considerado como una huella peptídica, propia

de cada especie microbiana. Este perfil espectral es comparado mediante un programa informático con una base de datos de espectros construida a partir de cepas de referencia, permitiendo la identificación del microorganismo (Maldonado et al., 2018). Es una técnica de alto rendimiento, bajo coste de reactivos, rapidez de resultados (minutos) y fácil de usar (Marina Oviaño García et al., 2019). En particular, la identificación de levaduras se lleva a cabo posterior a un proceso de extracción con ácido fórmico directo o a un proceso de extracción total de proteínas con etanol absoluto, ácido fórmico al 70% y acetonitrilo, utilizando como matriz un compuesto orgánico de bajo peso (HCCA ácido alfa-ciano-4-hidroxicinámico). Uno de los sistemas más utilizados para la identificación, MALDI Biotyper® (Bruker) presenta una sensibilidad del 98,7% para las especies prevalentes de *Candida* y del 96,7% para las especies menos frecuentes (Teke et al., 2021).

Identificación molecular: Basada en la amplificación por PCR y secuenciación convencional de regiones genómicas, ha demostrado ser una alternativa robusta a la identificación convencional de levaduras y de vital importancia para establecer relaciones filogenéticas. Se logra a través de la secuenciación de las regiones de espaciadores transcritos internos (ITS) del ribosoma nuclear o el análisis de la región D1/D2 del rRNA 26s (Posteraro et al., 2015). La longitud promedio de la región ITS es de 550 pares de bases (pb) en los hongos, aunque varía entre géneros y especies (Nilsson et al., 2015). Sin embargo, es una metodología que requiere una infraestructura, equipos especializados y personal altamente capacitado (Zuluaga et al., 2018).

3.2 Antecedentes

El perfil epidemiológico de *Candida* ha cambiado con el tiempo entre regiones y países, con variación en la distribución de especies implicadas en colonización e infección (candidiasis y candidemia) por área geográfica, factores epidemiológicos locales, condiciones clínicas del paciente y exposición previa a tratamientos antibióticos (Ahmed et al., 2018; Pappas et al., 2018).

Cortés et al., (2011), reportaron en Colombia a *C. albicans* como la especie predominante (38% - 70%). Sin embargo, como indicó Colombo et al., (2006), en los últimos años la etiología de la colonización e infección por *Candida* ha estado representada por la presencia de otras especies no *albicans*, que constituyen entre el 35% y 55% de los aislamientos clínicos.

Con respecto a la distribución de especies de *Candida* en colonización, en un estudio retrospectivo en Vietnam, Truong Sinh et al., (2017) reportaron a *C. tropicalis* (45,7%) como la especie más aislada de diversos sitios anatómicos de pacientes en UCI, seguido por *C. albicans* (42,6%), encontrada principalmente de boca y heces y por *C. parapsilosis*, de boca y tráquea (7,53%). En España, León et al., (2009) en el Estudio de Prevalencia de Candidiasis (EPCAN) realizado en pacientes no neutropénicos críticamente enfermos de diferentes centros hospitalarios españoles determinaron que el 52,2% de los pacientes se encontraban colonizados, siendo monofocal en el 43% y multifocal en el 56% de los casos con *C. albicans* como la especie más prevalente en colonización (72,1%), seguida por *N. glabratus* (9,1%) y *C. tropicalis* (4,2%). Sin embargo, en un 13% de los aislamientos no se logró la identificación de la especie de *Candida*, lo que refleja la importancia del uso de métodos de identificación precisos.

En Chile, Alburquenque et al., (2013) realizaron un estudio de vigilancia de especies de *Candida* aisladas de diversos sitios anatómicos en pacientes hospitalizados y ambulatorios, encontrando mayor aislamiento en las muestras respiratorias, incluyendo lavados bronco-alveolares y aspirado traqueal y, en muestras de orina, siendo la especie más frecuentemente aislada *C. albicans* (84,8%), tanto en pacientes hospitalizados como ambulatorios, seguida por *N. glabratus* (7,6%), *C. tropicalis* (2,7%), *C. parapsilosis* (2,2%), *C. kefyr* (0,9%) y otras como *M. guilliermondi*, *P. kudriavzevii*, *C. intermedia* y *C. lusitaniae* (1,8%).

En Colombia, pocos estudios se han realizado respecto a las especies implicadas en procesos de colonización dado que los existentes a la fecha describen la distribución de especies causando infección invasiva; Méndez-Fandiño et al., (2017) realizaron un estudio retrospectivo de casos y controles con el fin de evaluar la influencia de la colonización de vía aérea por *Candida* spp. en pacientes con EPOC en una UCI en Colombia, encontrando en mayor proporción aislamientos de *C. albicans* (75-76%), seguido de *P. kudriavzevii*, *N. glabratus* y *C. tropicalis*, sin encontrar diferencias significativas entre los pacientes control y con EPOC respecto a la distribución de especies de *Candida* spp.

Respecto al estudio de factores de riesgo asociados con la colonización e infección invasiva por *Candida*. Singla et al., (2012) encontró asociación estadísticamente significativa entre el uso de antibióticos de amplio espectro y el aumento en la colonización por *Candida* debido a la alteración en el microbioma intestinal, así como el uso de catéter urinario. Por otra parte, Logan et al., (2020) refieren que la administración de una terapia antifúngica temprana profiláctica o empírica puede resultar contraproducente al seleccionar las especies resistentes, transformando el patrón de distribución de especies colonizantes de *Candida*, principalmente por especies no *albicans* como *C. parapsilosis*, *P. kudriavzevii* y *N. glabratus*. Es así como en Estados Unidos, se han reportado aislamientos de *N. glabratus* resistentes a equinocandinas asociados con la exposición previa a estos medicamentos y a una estancia de hospitalización prolongada. En China, Xia et al., (2022) realizaron un estudio prospectivo reportando a *C. albicans* como la especie predominante en la colonización en un 55% de los casos y encontrando asociación entre factores de riesgo como intervenciones invasivas, cáncer e infecciones bacterianas y fúngicas concurrentes.

En Alemania, un estudio prospectivo realizado por Gloeckner & Abel, (2010) reportó colonización en el 43% de los pacientes del servicio de UCI, con una distribución de especies de

C. albicans (69%), *N. glabratus* (35%) y *C. tropicalis* (8%) evidenciando un índice de colonización (IC) más alto en mujeres con respecto a los hombres, un aumento en la colonización por especies no *albicans* conforme la edad aumenta y una mayor tasa de colonización en pacientes con estancia prolongada en el hospital.

En Colombia, los estudios realizados de factores asociados con procesos infecciosos y de colonización por *Candida* son limitados. Un estudio respecto a la epidemiología de candidemia en Latinoamérica realizado por Nucci et al., (2013) reportó que aproximadamente del 37 al 45% de los pacientes con candidemia estaban hospitalizados en UCI, con cáncer como factor de riesgo predominante. Cortés et al., (2014) en un estudio prospectivo en hospitales de Bogotá no encontraron asociación entre las características de los pacientes con la distribución de especies y la mortalidad. Por su parte Orozco y colaboradores en un estudio en UCI neonatal determinaron un 38% de colonización en neonatos con predominio de *C. albicans* (superior al 60%), identificando la estancia en el servicio como un factor de riesgo para la colonización (Orozco et al., 2009). Por otra parte, Escandón y colaboradores documentaron brotes de *C. auris*, reportando un 41% de colonización de pacientes, trabajadores de la salud y el ambiente (Escandón et al., 2019). *C. auris* es considerada una especie de levadura de vigilancia en Colombia dado su potencial de transmisión nosocomial y el reporte de casos a nivel global de resistencia a múltiples antifúngicos como el fluconazol, la anfotericina B y en menor proporción a las equinocandinas, consideradas los antifúngicos de elección para la candidemia (Escandón et al., 2022; Friedman & Schwartz, 2019).

3.3 Metodología

3.3.1 *Diseño del estudio*

Estudio observacional, analítico de corte transversal (Hernández & Velasco-Mondragón, 2000).

Para el desarrollo del trabajo de grado, las muestras clínicas fueron proporcionadas por el macroproyecto “*Desarrollo de una estrategia de medicina personalizada para el manejo preventivo, diagnóstico y tratamiento de candidiasis en Unidades de Cuidados Intensivos de adultos en el área metropolitana de Bucaramanga*” código 86269 de la convocatoria 897-2021 para proyectos de CTEI, dentro del cual se enmarca el presente estudio. Las muestras fueron tomadas de los participantes que firmaron el consentimiento informado del macroproyecto (Ver Apéndice A) autorizando previamente el uso de las muestras para estudios relacionados de *Candida* spp. y determinación de factores asociados a la colonización.

Se determinó la colonización por *Candida* spp. en pacientes adultos que ingresaron al servicio de UCI del Hospital Universitario de Santander durante un período de reclutamiento de 8 meses y que cumplían con los criterios de selección establecidos.

3.3.2 *Población y muestra*

La población del estudio corresponde a pacientes mayores de 18 años, de ambos sexos que ingresaron a los servicios de UCI del Hospital Universitario de Santander. Para la muestra del estudio se incluyeron de manera secuencial a los pacientes que cumplieron con los criterios de selección en un marco de tiempo de 8 meses y que firmaron el consentimiento informado estipulado para el macroproyecto.

La estimación del tamaño de muestra se realizó a partir de factores asociados a la colonización por *Candida* spp. previamente reportados en la literatura. Se consideraron factores

como: la edad, el sexo, y la presencia de coinfección bacteriana, presentando el tamaño de muestra estimado para identificar asociación con estos factores. La estimación fue realizada con el software Epidat 4.2 (Tabla 1).

Tabla 1

Estimación del tamaño de muestra del estudio

Variable	%Casos Expuestos	%Controles expuestos	OR	Referencia	n estimado
Sexo (masculino)	70,69	45	2,948	(Xia et al., 2022)	114
Edad>65 años	60,34	16,67	7,605		38
Infección bacteriana concurrente	72,41	46,67	2,999		112

Para la selección de la muestra se utilizó la técnica de muestreo no probabilístico por conveniencia, donde los participantes fueron seleccionados por la disponibilidad y voluntad de participar, teniendo en cuenta los criterios de selección.

3.3.3 Criterios de selección

3.3.3.1 Criterios de inclusión:

Pacientes de ambos sexos, mayores de 18 años que ingresen al servicio de UCI del Hospital Universitario de Santander.

3.3.3.2 Criterios de exclusión:

Pacientes con diagnóstico de infección por *Candida* spp. comprobada o con sospecha un mes antes del ingreso al servicio de UCI.

Pacientes que hayan recibido tratamiento antifúngico un mes previo al ingreso a UCI.

Mujeres embarazadas.

Pacientes con neutropenia severa.

3.3.4 Variables de estudio

Para la caracterización de los pacientes y la determinación de factores asociados, se analizaron las variables sociodemográficas y clínicas a partir de los datos clínicos de los participantes debidamente anonimizados y proporcionados por el Hospital Universitario de Santander, así como variables relacionadas a las muestras y con los aislamientos de la levadura, todas estas corresponden a las variables independientes. Se describen en el apéndice B: Tabla de operacionalización de variables. La variable dependiente corresponde a la colonización por *Candida* spp., definida como el crecimiento de la levadura en agar Sabouraud al 2% (SDA) dentro de los 5 días de incubación, en alguna de las muestras no estériles (Hisopado de piel en zona axilar, inguinal, orina, frotis faríngeo y/o aspirado traqueal) colectadas para el estudio.

3.3.5 Instrumento de recolección de datos

Los datos de los registros clínicos debidamente anonimizados de los participantes del estudio fueron consignados en un instrumento digital diseñado (Ver apéndice C), asignando un código consecutivo a cada participante y teniendo en cuenta la definición operativa de cada variable. La información se tomó de las historias clínicas con fecha de la toma de muestra (entre las 48 y 72 horas de ingreso al servicio de UCI).

Por otra parte, las variables microbiológicas relacionadas con la colonización por *Candida* spp. y la identificación de los aislamientos fueron registradas en otro formato digital en línea (Ver apéndice D), consignando en código consecutivo a cada participante.

3.3.6 Caracterización de los participantes del estudio

Se caracterizaron en términos sociodemográficos y clínicos los pacientes adultos que ingresaron al servicio de UCI, previo cumplimiento de los criterios de selección para participar en

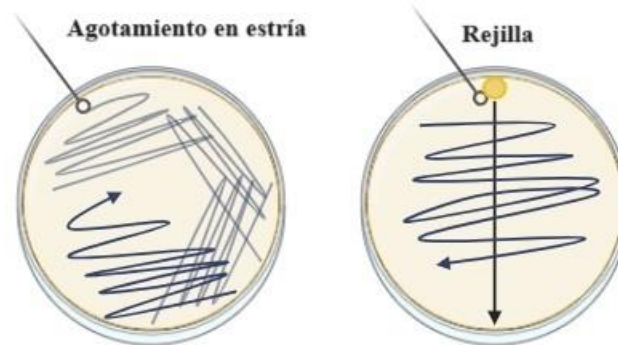
el estudio y teniendo en cuenta las variables definidas (Apéndice B). Los datos de los registros clínicos debidamente anonimizados de los participantes que se analizaron fueron proporcionados por el Hospital Universitario de Santander a la investigadora principal del macroproyecto al cual se encuentra anidado el presente trabajo de maestría. Los registros clínicos analizados corresponden a la última actualización de la historia clínica de la fecha de toma de muestra y fueron proporcionados en formato PDF. Se realizó extracción manual de las variables, registrando la información de cada una en el instrumento de recolección diseñado (Apéndice C) y se realizó verificación por tres personas para identificar errores de digitación. Posteriormente, se realizó la codificación de las variables y, una vez validada, se exportó al paquete estadístico STATA versión 14.0 para los respectivos análisis.

3.3.7 Procesamiento de muestras clínicas

Para la determinación de la colonización por *Candida* en la muestra de estudio, se procesaron muestras de vigilancia tales como orina por sonda o por micción espontánea, hisopado de piel en zona de axila y zona inguinal, frotis faríngeo para los pacientes no intubados y aspirado traqueal para los pacientes intubados. Las muestras fueron sembradas en agar Sabouraud al 2% (SDA – Merck) con adición de cloranfenicol (50 mg/L) (SDAC 2%) preparado según las especificaciones del fabricante (Apéndice E) (Merck Millipore, n.d.). Se realizó siembra por agotamiento en estría (Figura 1) para las muestras de frotis faríngeo, aspirado traqueal e hisopado de piel en zona de axila e ingle y, siembra por rejilla de 10 µL de muestra de orina (Figura 1). Se incubaron los cultivos a 37°C por 5 días, revisando diariamente el crecimiento.

Figura 1

Técnicas de siembra empleadas para el procesamiento de muestras clínicas



Las muestras fueron recolectadas bajo el desarrollo del macroproyecto siguiendo los protocolos de bioseguridad institucionales después de las 48 a 72 horas de ingreso al servicio de UCI por el personal del HUS a los participantes que firmaron el consentimiento informado.

3.3.8 Determinación de la colonización por *Candida* spp.

La determinación de la colonización se realizó en las muestras de vigilancia descritas anteriormente tomadas en las 48 a 72 horas de ingreso al servicio de UCI, con el fin de estimar la frecuencia y el tipo de colonización (monofocal o multifocal). Se definió la colonización por *Candida* spp. como la presencia de la levadura en muestras control de vigilancia o muestras no estériles (orina, aspirados traqueales, hisopado de piel, faringe).

Se realizó lectura diaria de los cultivos primarios en SDAC 2% y cualquier crecimiento compatible con levaduras sugestivas de *Candida* spp. fue considerado como resultado positivo de colonización. Los cultivos negativos se incubaron hasta el quinto día antes de descartarlos.

Una vez se obtuvo crecimiento de levaduras en el medio primario SDAC al 2%, se evaluó la presencia de colonización mixta utilizando el medio cromogénico CHROMagar™ *Candida*,

preparado según las especificaciones del fabricante (Apéndice F) (CHROMagar, n.d.) para distinguir el crecimiento de diferentes especies mediante dos técnicas:

Para los cultivos primarios con menos de 10 UFC, se realizó pase directo de cada colonia inoculando por estría directamente en el medio, numerando cada colonia para diferenciarlas entre ellas.

Para los cultivos primarios con más de 10 UFC, se utilizó la técnica de réplica en placa utilizando el sello replicador (Figura 2). Se realizó a partir de la placa primaria de SDAC 2% en CHROMagar™ Candida utilizando cuadrados de tela de terciopelo estéril fijada con el anillo de aluminio al sello, se presionó suavemente la placa primaria de SDAC sobre la tela estéril (Figura 3), se retiró la placa original y se colocó en contacto la placa de CHROMagar™ Candida con la tela que contiene la réplica del cultivo. Se incubó por 37°C a 24-48 horas antes de la lectura.

Figura 2

Sello replicador, placa primaria de SDAC con crecimiento (izquierda) y CHROMagar™ Candida (derecha).

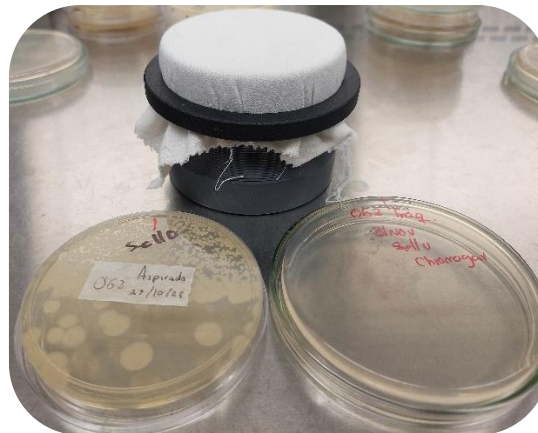


Figura 3

Impronta del cultivo primario utilizando sello replicador



La colonización mixta se definió como el crecimiento presuntivo de más de una especie diferente de *Candida* spp. en la muestra, teniendo en cuenta la coloración diferencial de las colonias en el medio cromogénico.

Las colonias de diferente color que se obtuvieron en el CHROMagar™ *Candida*, fueron numeradas y posteriormente aisladas en SDAC 2% por estría a partir de una colonia para obtener cultivo axénico y proceder con la identificación y criopreservación. Se incubaron a 30°C por 48 horas para el montaje de Rapid y extracción de proteínas con etanol absoluto, ácido fórmico al 70% y acetonitrilo para la identificación por espectrometría de masas MALDI-TOF.

Los aislamientos de levaduras fueron codificados con el código del paciente, seguido del tipo de muestra, siendo 1 orina, 2 axila, 3 ingle, 4 faringe y 5 aspirado traqueal y finalizando con el número de aislamiento (-1,-2,-3 etc.)

Por otra parte, se estimó el índice de colonización según Pittet (Pittet et al., 1994) y el *Candida* Score (León et al., 2006) en los pacientes del estudio con estancia de 7 días en el servicio

de UCI a quienes se les realizó la toma de muestras de seguimiento de los mismos sitios anatómicos de la toma inicial.

3.3.9 Criopreservación de los aislamientos

Para estudios posteriores, se realizó criopreservación por duplicado de cada aislamiento de levadura utilizando crioviales de 2 mL tomando inóculo considerable de la levadura en cultivo axénico y suspendiéndolo en 500 uL de caldo Sabouraud y 500 uL de glicerol al 30%. Se congelaron a -80°C en cajas de criopreservación.

Adicionalmente, los aislamientos se conservaron en refrigeración de 2-8°C en un eppendorf de 1.5 mL tomando inóculo considerable de la levadura en cultivo axénico y suspendiéndolo en 500 uL de agua destilada estéril.

3.3.10 Identificación de los aislamientos de Candida spp.

3.3.10.1 Identificación por bioquímica y pruebas complementarias.

3.3.10.1.1 Identificación por RAPID Yeast Plus. A partir del cultivo puro de la levadura en SDAC al 2%, con 48 horas de incubación a 30°C se realizó el montaje del panel RAPID Yeast Plus (Remel) para la identificación bioquímica de los aislamientos, siguiendo el procedimiento establecido por el fabricante (Apéndice G) (ThermoFisher Scientific, 2004). Posterior a las cuatro horas de incubación de los paneles inoculados, se procedió a realizar la lectura de la prueba, obteniendo un microcódigo ingresado a la base de datos ERIC (<http://www.remel.com/eric/>) para obtener la identificación del aislamiento. Se aceptó un porcentaje de probabilidad de identificación de los aislamientos igual o superior al 95%. Se realizó control de calidad de cada lote nuevo realizando montaje de la cepa de referencia *C. albicans* ATCC 14053.

3.3.10.1.2 Crecimiento en CHROMagar Candida. Se realizó registro en el formato de resultados (Apéndice D) del color obtenido de las colonias en CHROMagar™ Candida (Apéndice F) con 24 a 48 horas de crecimiento a 37°C durante el proceso de determinación de colonización mixta descrito en el apartado 3.3.8. Se realizó control de calidad de esterilidad y crecimiento con la preparación de cada lote de medio de cultivo. El control de calidad de crecimiento fue realizado utilizando las cepas de referencia de *C. albicans* ATCC 14053, *I. orientalis* ATCC 6258, *C. tropicalis* ATCC 66029 y *C. glabrata* ATCC 15126.

3.3.10.1.3 Agar tabaco. Para diferenciar presuntivamente entre las especies del complejo *C. albicans*: *C. albicans* y *C. dubliniensis*, los aislamientos identificados como *C. dubliniensis* por la técnica de MALDI-TOF con puntaje superior a 1,70, se realizó siembra por estría y spot en agar tabaco, preparado según Kumar y colaboradores (Girish Kumar & Menon, 2005) (Apéndice H). Se incubó a 30°C por 72h a 5 días. Se revisó el color y la apariencia de las colonias (blanco o amarillo, cremosas o con bordes festoneados) y se realizó montaje entre lámina y laminilla con azul de lactofenol, tomando inóculo raspando un poco del medio de cultivo y observando en objetivo de 40x para evidenciar la formación de clamidoconidias. Se determinó como resultado positivo la presencia de clamidoconidias con crecimiento de colonias de color amarillo, bordes festoneados y, resultado negativo la ausencia de clamidoconidias y crecimiento de colonias de color blanco y cremosas (Apéndice H). Se realizó control de la productividad del medio utilizando las cepas de referencia de *C. albicans* ATCC 14053 y *C. dubliniensis* NCPF 3949 (apéndice H: Figura 9 y 10).

3.3.10.2 Identificación por espectrometría de masas MALDI-TOF. La identificación por espectrometría de masas MALDI-TOF se realizó a partir de aislamientos puros de levaduras en SDA al 2% con cloranfenicol, incubados a 24-48 horas a 30°C. Para la identificación, se realizó

extracción total de proteínas según el protocolo estipulado en el manual MBT Compass (Bruker) (Apéndice I) (Bruker Daltonik, 2019). Para la medición, se depositó 1 μ L del extracto proteico, se dejó secar y se añadió 1 μ L de la matriz HCCA (Ácido alfa-ciano-4-hidroxicinámico- Bruker Daltonic) en concentración 10 mg/mL, en una placa reutilizable de acero pulido de 96 pocillos (MSP 96 target polished Steel BC – Bruker Daltonik) acoplada a un adaptador para medir en el equipo ultrafleXtreme (Bruker Daltonik). Se realizó la medición por duplicado para cada aislamiento y el montaje del calibrador BTS (Bacterial Test Standard – Bruker Daltonik) (Apéndice J) como control de calidad y validación de la corrida. Se realizó captura manual de espectros utilizando el software flexControl – ultraflex TOF/TOF empleando el método MBT-lev, capturando los espectros en modo linear positivo, en un rango de masas que comprendía de 2.320 a 20.000 Da y realizando sumatoria de espectros e identificación por el método automático utilizando el software Maldi Biotyper® Compass RUO V. 4.1.100.

Para la identificación de los espectros capturados manualmente, se ingresaron al software Maldi Biotyper® Compass Explorer versión 4.1.100 para ser comparados con la librería de referencia BDAL (Bruker Daltonik), que contiene 11.897 MSPs (Perfiles de espectros de masas). Los puntajes de identificación iguales o superiores a 2.0 indicaron identificación a nivel de especie, puntajes entre 1.70 a 1.99 indicaron identificación a nivel de género y puntajes inferiores a 1.70 no se identificaron.

Aquellos aislamientos que no fueron posible identificar por MALDI-TOF o que se identificaron a nivel de género (puntajes de 1.70 a 1.99) se les realizó identificación molecular por secuenciación de región ITS.

Por otra parte, se realizó análisis filogenético de los espectros de masas de los aislamientos de *Candida* spp. incluyendo aquellos obtenidos manualmente con una puntuación de identificación

mayor a 2,0, realizando el análisis de componentes principales (PCA) para la construcción de un dendrograma en el módulo offline MALDI Biotyper® Compass Explorer V.4.1.100. utilizando el método estándar del software para su creación.

3.3.10.3 Identificación molecular por secuenciación de región ITS. Se realizó identificación molecular por secuenciación de región ITS a los aislamientos en los que se obtuvo discrepancia en la identificación entre los métodos de identificación RapID Yeast Plus (Remel) y MALDI-TOF, a aquellos aislamientos que no fueron posible identificar por RapID Yeast Plus o por MALDI-TOF o aquellos que presentaron un puntaje de identificación por MALDI-TOF entre 1.70 y 1.99.

3.3.10.3.1 Extracción ADN de levaduras. Para realizar la extracción de ADN, las levaduras candidatas, procedentes de la criopreservación en agua estéril o glicerol, fueron inoculadas en SDAC 2% e incubadas durante 48 horas a 28°C. Posteriormente, se inoculó una colonia de la levadura en 600 µL de caldo YPD en eppendorf estériles de 1.5 mL y se colocó en agitación a 28°C a 180 rpm por toda la noche. Al día siguiente, se centrifugó el cultivo líquido a 13.000 rpm por 2 minutos y se descartó el sobrenadante. Se añadieron 200 µL de agua estéril tipo 1 y se procedió a la extracción de ADN utilizando el kit MagMax™ Viral Pathogen Nucleic Acid Isolation Kit (Applied Biosystems - ThermoFisher Scientific) aplicando el protocolo descrito por el fabricante (Apéndice K) (AppliedBiosystems, 2020).

Se cuantificó por duplicado el ADN de los eluidos en el equipo espectrofotómetro Nanodrop One (Thermo Scientific) utilizando como blanco la solución de eluido sin ADN, se usaron 2 µL del eluido en la columna del equipo.

3.3.10.3.2 Amplificación de región ITS por técnica de PCR. Para la amplificación de la región ITS, se utilizaron los primers ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') e ITS4 (5'-

TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') diseñados por Macrogen y las reacciones de amplificación se llevaron a cabo en 40 μL de volumen total que contiene:

Tabla 2

Composición de la reacción de PCR

Reactivo (concentración)	Concentración final	Volumen en μL (1 muestra)
Agua grado molecular	-	15.5
Buffer Taq (10X) (KCl)	1X	4
MgCL₂ (25 mM)	2 mM	3.2
dNTPs (10 mM)	200 μM	0.8
ITS1 (10 μM)	1 μM	4
ITS4 (10 μM)	1 μM	4
Taq Polimerasa (5 U/μL) (Taq DNA Polymerase recombinant – ThermoFisher)	0.0625 U/ μL	0.5
gDNA (100 ng/μL)	20 ng	8
Volumen final		40

La PCR fue realizada en el termociclador MiniAmpTM Plus (Applied BiosystemsTM - ThermoFisher Scientific) utilizando las siguientes condiciones:

Tabla 3*Condiciones de la PCR*

Temperatura	Tiempo	# Ciclos
94°C	4 minutos	1
94°C	30 segundos	30
58°C	30 segundos	
72°C	1 minuto	
72°C	4 minutos	1
4°C	∞	

Para comprobar la obtención de los productos de amplificación, se realizó electroforesis en gel de agarosa al 0,8% con buffer TAE 1X y adición de HydraGreen™ (HydraGene Co.), usando 1 µL de buffer de carga y 5 µL del producto de PCR, junto con 5 µL de marcador de peso molecular (FastGene DNA Marker Plus – NIPPON Genetics Europe) a 90V por 50 minutos.

3.3.10.3.3 Secuenciación de región ITS. Los productos de PCR obtenidos fueron ajustados a un rango de concentración de 50 a 100 ng/µL y se enviaron a purificar y secuenciar mediante electroforesis capilar por ambos sentidos (ITS1 forward e ITS4 reverse). Los resultados de secuenciación se recibieron en formato. ab1.

3.3.10.3.4 Análisis de secuencias. Las secuencias Sanger en formato. ab1 fueron editadas en el programa CodonCode Aligner y posteriormente, en el programa Bioedit se generaron las secuencias consenso a partir de las secuencias forward y reverse. La secuencia consenso se copió en formato FASTA y se realizó identificación comparando las secuencias con la base de datos de referencia de GenBank a través de la herramienta BLAST utilizando la base de datos standard (core_nt) y la base de datos ITS (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>), base de datos MycoBank

(https://www.mycobank.org/Pairwise_alignment) y del Instituto Westerdijk de Biodiversidad fúngica CBS-KNAW (https://wi.knaw.nl/Pairwise_alignment). Se tuvo en cuenta el porcentaje de identidad con límite superior a 98,41% para discriminar entre especies de levadura y de 96,3% para discriminar entre género de levadura ((Vu et al., 2016).

3.3.11 Análisis estadístico

Se utilizó el software STATA versión 14,0 para el procesamiento y análisis univariado, bivariado y multivariado de los datos.

Para el análisis univariado y descriptivo, se caracterizaron a los participantes del estudio y la distribución de los aislamientos de *Candida* spp. y se determinó la prevalencia puntual de colonización por *Candida* spp. después de las 48-72 horas de ingreso al servicio de UCI. Para las variables cualitativas categóricas se presentaron con frecuencia absoluta y frecuencia relativa (%) y, para las variables cuantitativas se realizó la prueba de Kolmogorov-Smirnov para evaluar la normalidad de los datos. De acuerdo con esto, se presentaron en términos de media como medida de tendencia central y desviación estándar como medida de dispersión para datos normalizados o, con mediana y rangos intercuartílicos para datos no normalizados.

Para el análisis bivariado, para la determinación de factores asociados se evaluó si las variables independientes sociodemográficas como el sexo, la edad, y el régimen de salud, y las variables clínicas independientes como la escala APACHE, la cirugía reciente, el consumo de antibióticos, la terapia inmunosupresora, el tipo de nutrición, el uso de dispositivos médicos invasivos, el padecimiento de morbilidades como sepsis, infección bacteriana localizada, diabetes, entre otras, se encontraban asociadas con la variable de salida, colonización por *Candida* spp. Para evaluar la asociación entre la variable dependiente (colonización) y las variables independientes cualitativas se aplicaron la prueba Chi-cuadrado (χ^2) o test exacto de Fisher y, para las variables

independientes cuantitativas se generaron categorías. Adicionalmente, se utilizó la razón de prevalencias con su respectivo intervalo de confianza del 95% y se consideró un valor $p \leq 0,05$ como estadísticamente significativo.

Para el análisis multivariado, se realizó un modelo de regresión de Poisson con varianza robusta considerando la prevalencia del evento en estudio y la naturaleza de los datos, donde se incluyeron las variables cuyo valor p en el modelo bivariado fuese menor o igual a 0,2. La evaluación del modelo de regresión se realizó con la prueba de bondad de ajuste presentando el valor p . Se incluyó en el modelo las variables con un valor $p \leq 0,05$ y el valor de razón de prevalencia (RP) con su respectivo intervalo de confianza del 95%.

3.4 Aspectos éticos

El presente trabajo de grado cuenta con aprobación del Comité de Ética en Investigación de la Universidad Industrial de Santander (CEINCI) como consta en el acta no. 7 del día 12 de mayo de 2023 (Apéndice L).

El presente proyecto de investigación se enmarcó en la Resolución 008430 de 1993 del Ministerio de Salud, por la cual se establecen las normas científicas, técnicas y administrativas para la investigación en salud. Según esta resolución, este proyecto es considerado de riesgo mínimo por ser un estudio observacional, analítico de corte transversal, vinculado a un macroproyecto del cuál se proporcionarán las muestras y los datos clínicos de los participantes debidamente anonimizados entregados por el Hospital Universitario de Santander para el desarrollo del presente trabajo de investigación. Para lograr el cumplimiento de los objetivos del proyecto no se tuvo contacto directo con los participantes ni se llevaron a cabo ensayos clínicos bajo el desarrollo del presente trabajo de investigación dado que el manejo de los participantes

estuvo a cargo del médico tratante de la institución. Sin embargo, fue necesario la inclusión de muestras clínicas tomadas de los participantes del estudio que corresponde a una fuente primaria, las cuales fueron manipuladas para evaluar la colonización por *Candida* spp. y, una fuente secundaria referente a la información de los datos clínicos de los participantes para realizar un análisis descriptivo e identificar factores asociados a la colonización. Las muestras clínicas y los datos clínicos debidamente anonimizados de los participantes correspondieron a la recolección realizada en el macroproyecto “*Desarrollo de una estrategia de medicina personalizada para el manejo preventivo, diagnóstico y tratamiento de candidiasis en Unidades de Cuidados Intensivos de adultos en el área metropolitana de Bucaramanga*” código 86269 de la convocatoria 897-2021 para proyectos de CTEI en salud, medicina personalizada e investigación traslacional, del cual se anida el presente trabajo de investigación para el desarrollo del objetivo específico dos y tres del proyecto macro; y que cuenta con la aprobación del comité de ética de la Universidad Industrial de Santander CEINCI, del Hospital Universitario de Santander y de la Universidad Santo Tomas para el desarrollo de sus actividades. En el presente estudio se garantizaron los principios básicos de bioética a los participantes: beneficencia, no-maleficencia y justicia (National Commission for the Protection of Human Subjects of Biomedical and Behavioral Research, 1979).

Tratamiento de datos personales y análisis de datos clínicos: Se cumplió con lo estipulado en la Ley 23 de 1981, la Resolución 13437 de 1991, la Resolución 1995 de 1999 y, la Ley 1751 de 2015, así como la Ley 1581 de 2012 donde se dictan disposiciones generales para el tratamiento de datos personales, el Decreto 1377 de 2013 y la Resolución de Rectoría 1227 de la Universidad industrial de Santander, que tienen por objeto el tratamiento y la protección de datos personales en Colombia. La autorización para el uso y tratamiento de los datos clínicos anonimizados de los participantes fue solicitada al Hospital Universitario de Santander por la investigadora principal

del macroproyecto, teniendo en cuenta lo descrito en la resolución 8430, artículo 15, “*La seguridad que no se identificará al sujeto y que se mantendrá la confidencialidad de la información relacionada con su privacidad*”. La revisión de los datos clínicos de los participantes se realizó respetando el anonimato donde se generó un número de identificación único para su identificación bajo el desarrollo del trabajo de investigación.

De acuerdo con la Resolución 008430 de 1993 del Ministerio de Salud, título 4, referente a la bioseguridad de las investigaciones y a la manipulación de microorganismos patógenos o material biológico que pueda contenerlos se contempla:

Instalaciones: El procesamiento de las muestras para el trabajo de investigación se desarrolló en el laboratorio 404 ubicado en el Parque Tecnológico Guatiguará de la Universidad Industrial de Santander, el cual cuenta con las normas técnicas para el trabajo en un laboratorio de Microbiología y con la capacidad para el manejo de microorganismos como levaduras, del grupo de riesgo II en cabina de seguridad biológica clase II.

Manejo y contención de residuos: Se contempló durante la ejecución del proyecto la generación de residuos químicos y biológicos, los cuales fueron procesados según los procedimientos indicados en el Programa de Gestión Integral de Residuos (PGIR) del Sistema de Gestión Ambiental (SGA) de la UIS disponible en: <https://uis.edu.co/uis-sistema-gestion-ambiental-es/>

Normas y pólizas de riesgo. Se contó con servicio médico y la ARL vigente durante el desarrollo del proyecto y se cumplieron con las normas de riesgos profesionales y con la normatividad nacional e internacional.

4. Resultados

4.1 Descripción sociodemográfica y clínica de los participantes del estudio

Un total de 114 pacientes fueron incluidos en el estudio, los cuales eran provenientes de los tres servicios de UCI del Hospital Universitario de Santander entre el 31 de agosto del 2023 y el 10 de febrero del 2024. De éstos, el 64,91% (n=74) eran hombres, la mediana de edad fue de 59 años (rango intercuartílico 43-70 años). Respecto al régimen de salud, el 73,68% (n=84) de los participantes se encontraban vinculados al régimen subsidiado y el 14,91% (n=17) se encontraban vinculados a otros regímenes de salud, donde se incluyen extranjeros que no están afiliados al sistema, personas que reciben atención bajo modalidades específicas como urgencias o transitorias o beneficiarios de planes adicionales de salud (como los regímenes especiales o de excepción). El detalle de las características sociodemográficas se presenta en la tabla 4.

Tabla 4

Características sociodemográficas de los participantes del estudio

Variable	n (%)
Sexo	
Masculino	74 (64,91)
Femenino	40 (35,09)
Edad	
19 a 59 años	58 (50,88)
60 o más años	56 (49,12)
Mediana 59 años; RIC 43-70 años	
Régimen de salud	
Subsidiado	84 (73,68)
Contributivo	9 (7,89)
Vinculado/ninguno	4 (3,51)
Otro	17 (14,91)

En cuanto a las características clínicas, los datos aquí presentados fueron tomados entre las 48 a 72 horas de ingreso a la unidad. Así, el choque (19,30%; n=22), el politraumatismo (15,79%; n=18) y la insuficiencia respiratoria (12,28%; n=14) fueron los principales motivos de ingreso a la UCI, representando cerca del 50% de los participantes en el estudio. De los 114 participantes, 58 de ellos registraban en su historia clínica el puntaje APACHE, siendo el puntaje más frecuente de 0-4 que predice una mortalidad del 4% (n=17;29,31%) (Tabla 5).

En lo que respecta al tiempo de estancia en la UCI, la mediana fue de cero días (RIC= 0-0 días), siendo el tiempo mínimo de cero días (78,95%; n= 90) y el máximo 39 días (1,75%; n=2). Clínicamente, el 64,91% (n=74) de los participantes requirieron soporte ventilatorio, el 98,25% (n=112) tenía algún tipo de catéter y el 69,30% (n=79) de los pacientes estaban bajo tratamiento antibiótico, siendo la Piperacilina Tazobactam el antibiótico más frecuente administrado en ellos (n=33; 41,77%). El 32,46% (n=37) de los pacientes presentaban cirugía reciente, siendo la laparotomía la cirugía más practicada (n=8; 21,62%). Con relación a la presencia de morbilidades, el 41,23% (n=47) de los participantes presentaba hipertensión arterial, el 25,44% (n=29) de los participantes tenían infección bacteriana localizada y el 21,93% (n=25) tenían diagnóstico de sepsis (Tabla 5 y Tabla 6).

Tabla 5

Primera parte, características clínicas de los participantes del estudio

Variable	n (%)
Motivo de ingreso a UCI	
Choque	22 (19,30)
Politraumatismo	18 (15,79)
Insuficiencia respiratoria	14 (12,28)
Sepsis	7 (6,14)
Posoperatorio	6 (5,26)
Hemorragia	5 (4,39)

Falla cardiaca	5 (4,39)
Crisis hipertensiva	4 (3,51)
ACV	4 (3,51)
Infección localizada	3 (2,63)
Falla renal	3 (2,63)
Otras	23 (20,18)
Tiempo de estancia previo ingreso a UCI	
0 a 1 día	102 (89,47)
2 o más días	12 (10,53)
Mediana 0 días; RIC 0	
APACHE	
0-4 Mortalidad 4%	17 (29,31)
5-9 Mortalidad 8%	9 (15,52)
10-14 Mortalidad 15%	9 (15,52)
15-19 Mortalidad 25%	7 (12,07)
20-24 Mortalidad 40%	3 (5,17)
25-29 Mortalidad 55%	3 (5,17)
30-34 Mortalidad 75%	4 (6,90)
Más 34 Mortalidad 85%	6 (10,34)
Total pacientes con APACHE	58 (100)
Cirugía reciente	37 (32,46%)
Tipo de cirugía	
Laparotomía	8 (21,62)
Trombectomía	6 (16,22)
Toracotomía	5 (13,51)
Angioplastia	2 (5,41)
Craneotomía	2 (5,41)
Desbridamiento	2 (5,41)
Drenaje	2 (5,41)
Otras cirugías	10 (27,03)

Tabla 6

Segunda parte, características clínicas de los participantes del estudio

Variable	n (%)
Medicamentos	
Consumo de antibióticos	79 (69,30)
Piperacilina tazobactam	33 (41,77)
Meropenem	14 (17,72)
Ampicilina sulbactam	13 (16,46)
Ceftriaxona	11 (13,92)

Otros	8 (10,12)
Cantidad de antibióticos consumidos	
1 antibiótico	41 (51,90)
2 antibiótico	24 (30,37)
3 antibiótico	11 (13,92)
4 antibiótico	1 (1,26)
5 antibiótico	1 (1,26)
6 antibiótico	1 (1,26)
Consumo de antifúngico posingreso	6 (5,26)
Uso Propofol	4 (3,51)
Terapia inmunosupresora	3 (2,63)
Consumo de corticoides	23 (20,18)
Beclometasona	7 (6,14)
Prednisolona	6 (5,26)
Metilprednisolona	5 (4,39)
Dexametasona	5 (4,39)
Hidrocortisona	3 (2,65)
Prednisona	3 (2,63)
Tipo de nutrición	
Nutrición parenteral	63 (55,26)
Nutrición enteral por sonda	33 (28,95)
Nutrición enteral oral	9 (7,89)
Dispositivos médicos invasivos	
Uso de catéter	112 (98,25)
CVC	75 (65,79)
CVP	37 (32,46)
Mahurkar	3 (2,63)
Otro	1 (0,88)
Uso de sonda vesical	99 (86,84)
Soprote ventilatorio	74 (64,91)
Intubación traqueal	60 (52,63)
Traqueostomía	5 (4,39)
Hemodiálisis	7 (6,14)
Diálisis peritoneal	2 (1,75)
Morbilidades	
Hipertensión arterial	47 (41,23)
Infección bacteriana localizada	29 (25,44)
Sepsis	25 (21,93)
Diabetes	24 (21,05)
Falla renal	18 (15,79)
Obesidad	9 (7,89)

Cáncer	8 (7,02)
Cirrosis hepática	6 (5,26)
Desnutrición	5 (4,39)

4.2 Determinación de la colonización por *Candida* spp. en pacientes en Unidad de Cuidados intensivos.

Todos los 114 pacientes de UCI fueron considerados para el análisis de la colonización; de estos, el 73,68% (n=84) fueron positivos para colonización por *Candida* a las 48 o 72 horas después del ingreso al servicio de UCI. De los 84 pacientes colonizados, 51,19% (n=43) presentaron colonización monofocal, es decir, las levaduras crecieron en un único sitio anatómico de los cuatro evaluados; el restante 48,81% (n=41) presentaron colonización multifocal, con mayor frecuencia en dos sitios anatómicos, equivalente al 32,14% (n=27) (Tabla 7). Adicionalmente, el medio CHROMagar™ *Candida* permitió determinar un 36,90% (n=31) de colonización mixta en los pacientes colonizados, es decir, se detectaron dos especies diferentes en el 70,96% de los pacientes con colonización mixta (n=22) en una misma muestra (Figura 4) y tres especies diferentes en el 29,03% de los pacientes con colonización mixta en una misma muestra (n=9) (Figura 5), en tanto que el 63,09% de los pacientes presentaron colonización por una única especie de *Candida* (Figura 6).

Tabla 7

Colonización y tipo de colonización por Candida spp. en los participantes del estudio

Variable	n (%)
Colonización	84 (73,68)
No colonización	30 (26,32)
Tipo de colonización	
Monofocal	43 (51,19)
Multifocal	41 (48,81)
# de sitios colonizados	
1	43 (51,19)
2	27 (32,14)
3	13 (15,47)
4	1 (1,19)
Colonización mixta	31 (36,90)
Colonización única	53 (63,09)

Figura 4

Colonización mixta por dos especies diferentes de Candida spp. usando el sello replicador



Nota. Lado izquierdo SDAC al 2%, lado derecho CHROMagar™ Candida

Figura 5

Colonización mixta por tres especies diferentes de Candida spp. usando el sello replicador



Nota. Lado izquierdo SDAC al 2%, lado derecho CHROMagar™ Candida

Figura 6

Colonización por única especie de Candida spp. usando el sello replicador



Nota. Lado izquierdo SDAC al 2%, lado derecho CHROMagar™ Candida

Respecto a la colonización por sitio anatómico (Tabla 8), en total se estudiaron 433 muestras clínicas en la población de estudio equivalentes a 99 muestras de orina (22,86%), 114 hisopados de axila (26,32%), 113 hisopados de ingle (26,09%), 51 frotis faríngeos (11,77%) y 56 aspirados traqueales (12,93%). Del total de muestras estudiadas para colonización, se aislaron especies de *Candida* en el 32,56% de las muestras (n=141). De los sitios anatómicos estudiados, la zona inguinal y axilar fueron los más colonizados con un 34,04% (n=48) y 20,56% (n=29) de

colonización respectivamente, en tanto que la muestra de orina representó el sitio anatómico con menor colonización 9,21% (n=13).

Tabla 8

Colonización por Candida spp. según el sitio anatómico.

Sitio anatómico	Hombres	Mujeres	n (%)	Respecto al total de la muestra (% colonización)
Ingle	31 (34,83)	17 (32,69)	48 (34,04)	42,47% (48/113)
Axila	17 (19,10)	12 (23,07)	29 (20,56)	25,43% (29/114)
Tráquea	22 (24,71)	5 (9,61)	27 (19,14)	48,21% (27/56)
Faringe	12 (13,48)	12 (23,07)	24 (17,02)	47,05% (24/51)
Orina	7 (7,86)	6 (11,53)	13 (9,21)	13,13% (13/99)
Total	89 (63,12)	52 (36,87)	141 (100)	32,56% (141/433)

En relación con el índice de colonización (IC) (Tabla 9), este fue estimado en los pacientes con siete días de estancia en UCI, teniendo en cuenta su interpretación clínica (Tabla 9). Así, de los 114 pacientes estudiados al ingreso al servicio a 60 de ellos que continuaban en la UCI se les realizó seguimiento de colonización a los siete días de ingreso, de los cuales el 78,33% (n=47) se encontraban colonizados por *Candida* spp. Sin embargo, la incidencia acumulada de colonización por *Candida* spp. a los siete días de estancia en UCI fue del 42,85% (n=6/14), es decir, se detectaron seis casos nuevos de colonización durante la estancia en UCI respecto a catorce pacientes en riesgo al inicio del estudio y que se les realizó toma de muestra a los siete días de estancia.

Las razones por las cuáles se realizó muestreo solamente a 60 pacientes a los siete días de estancia y no a la totalidad de los participantes se debe a la salida de los pacientes de la UCI, fallecimiento antes de los siete días o, por disentimiento para realizar la segunda toma de muestra.

Teniendo en cuenta la significancia clínica del índice de colonización (IC) según Pittet, los pacientes fueron divididos en dos grupos: aquellos con índice de colonización menor a 0,5 y aquellos con índice de colonización mayor o igual a 0,5. Como se observa en la Tabla 9, el 61,70% de los pacientes colonizados a los siete días de estancia en UCI presentan un índice de colonización igual o superior a 0,5, haciendo referencia a una colonización por *Candida* spp. en la mitad o más de las cuatro muestras clínicas tomadas, en tanto que el 38,29% de los pacientes presentan un índice de colonización inferior a 0,5, indicando que solamente se encontraban colonizados en un sitio anatómico de los cuatro muestreados (Pittet et al., 1994). Por otra parte, respecto a los pacientes con colonización incidente (n=6), solo uno de ellos presentó colonización multifocal en axila y tráquea.

Tabla 9

Estimación del índice de colonización en pacientes con siete días de estancia en UCI

Índice de colonización (IC)	n (%)
IC \geq 0,5	29 (61,70)
IC < 0,5	18 (38,29)
Total	47 (100)

4.3 Distribución de especies de *Candida* colonizante

Se determinó la distribución de especies de *Candida* en general y por sitio anatómico en la población de estudio (Tabla 10). De 141 muestras positivas para colonización, se obtuvieron 183 aislamientos de *Candida* spp., equivalentes al 93,37% del total de aislamientos de levaduras (Tabla 11), que fueron identificados por RapID Yeast Plus y espectrometría de masas MALDI-TOF. Del total de aislamientos recuperados de levaduras, en siete casos no fue posible la identificación utilizando estos métodos, de manera que se realizó el envío de los amplificadores para realizar

secuenciación de región ITS para su identificación definitiva, así mismo, respecto a la distribución general de especies, *C. albicans* fue la especie más prevalente en la población de estudio, representando el 43,7% de los aislamientos (n=80). Por otra parte, se obtuvo un 56,3% de aislamientos de especies de *Candida* no *albicans*, siendo *C. parapsilosis* la especie más frecuente de este grupo representando el 17,5% (n=32) de los aislamientos, seguido de *C. tropicalis* con el 16,9% (n=31) y *N. glabratus* con el 11,5% (n=21) del total de aislamientos.

Es de destacar la presencia de especies crípticas de *Candida* en los aislamientos recuperados, identificados por espectrometría de masas MALDI-TOF y secuenciación de región ITS, tales como *C. orthopsilosis* y *C. metapsilosis* pertenecientes al complejo *C. parapsilosis* que representaron el 3,8% del total de aislamientos y *C. dubliniensis* perteneciente al complejo *C. albicans* que equivale al 3,3% del total de aislamientos, en estos últimos se complementó la identificación con la prueba de agar tabaco, siendo los seis aislamientos positivos para la prueba, con presencia de colonias amarillas con bordes festoneados y producción de clamidoconidias (Apéndice H: Figura 9 y 10).

Tabla 10

Distribución de Candida spp. en general y por sitio anatómico

	Orina	Axila	Ingle	Faringe	Tráquea	Total (n)	Total (%)
<i>C. albicans</i>	6	11	29	16	18	80	43,7
<i>C. parapsilosis</i>	1	15	13	1	2	32	17,5
<i>C. tropicalis</i>	7	1	11	5	7	31	16,9
<i>N. glabratus</i>	3	1	8	5	4	21	11,5
<i>P. kudriavzevii</i>	0	0	2	0	2	4	2,2
<i>C. orthopsilosis</i>	0	2	1	1	0	4	2,2
<i>C. metapsilosis</i>	0	3	0	0	0	3	1,6
<i>C. dubliniensis</i>	0	1	0	4	1	6	3,3
<i>C. auris</i>	0	0	1	0	0	1	0,5
<i>C. duobushaemulonii</i>	0	0	1	0	0	1	0,5

Total (n)	17	34	66	32	34	183	100,0
Total (%)	9,29	18,58	36,07	17,49	18,58	100,00	

Respecto a la cantidad de levaduras encontradas por sitio anatómico (Tabla 10), se evidenció que en la zona inguinal se recuperó el mayor número de aislamientos de *Candida*, equivalente al 36,07% (n=66), y que la orina fue el sitio anatómico donde se recuperó la menor cantidad de levaduras, equivalente al 9,29% (n=17) de los aislamientos.

Así mismo, en la distribución de especies por sitio anatómico, se destacó el predominio de *C. parapsilosis* en axila correspondiendo al 44,11% (n=15) de los aislamientos en este tipo de muestra y de *C. tropicalis* en muestra de orina, representando el 41,17% (n=7) de las levaduras recuperadas en esta muestra. Además, en la zona inguinal, faringe y tráquea se observó predominio de *C. albicans* que representó al 43,93%, 50% y 52,94% de los aislamientos en estos sitios anatómicos estudiados, respectivamente (Tabla 10).

Por otra parte, se aislaron e identificaron otras levaduras diferentes a *Candida* spp. que representaron el 6,63% (n=13) del total de aislamientos (n=196), tales como *Diutina mesoruga*, *Lodderomyces elongisporus*, *Trichosporon asahii*, *Kazachstania telluris* group, *Kodamaea ohmeri* y *Saccharomyces* spp. discriminados por sitio anatómico en la Tabla 11.

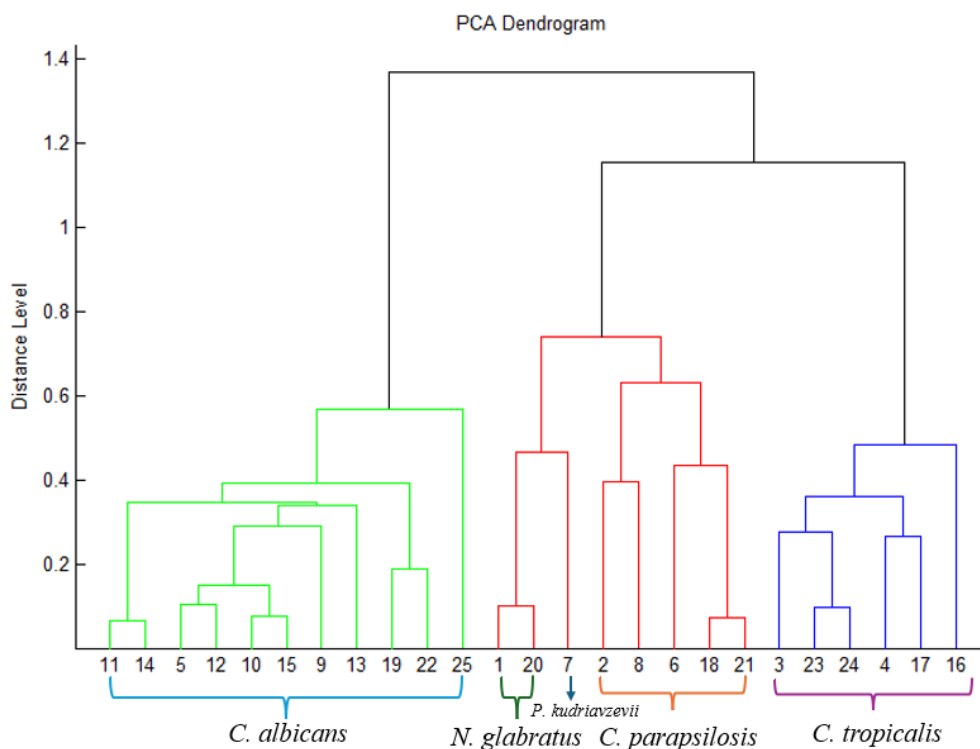
Tabla 11*Distribución de levaduras general y por sitio anatómico*

	Orina	Axila	Ingle	Faringe	Tráquea	Total (n)	Total (%)
<i>Candida spp.</i>	17	34	66	32	34	183	93,37
<i>D. mesorugosa</i>	0	1	0	1	1	3	1,53
<i>L. elongisporus</i>	0	1	0	1	0	2	1,02
<i>T. asahii</i>	0	1	2	0	1	4	2,04
<i>K. telluris group</i>	0	0	0	1	0	1	0,51
<i>K. ohmeri</i>	0	1	0	0	1	2	1,02
<i>Saccharomyces spp.</i>	0	0	0	0	1	1	0,51
Total otras levaduras	0	4	2	3	4	13	6,63
Total levaduras	17	38	68	35	38	196	100,00

Respecto al análisis filogenético, se construyó un dendrograma utilizando componentes principales (PCA) que incluyó 25 aislamientos de *Candida spp.* los cuáles presentaban un puntaje de identificación de MALDI TOF mayor o igual a 2,0. Los aislamientos se distribuyeron en tres clados agrupados según la especie, como se evidencia en la Figura 7. El grupo verde corresponde a aislamientos de *C. albicans* formando un clúster relativamente homogéneo con distancias cortas entre ellos, indicando una alta similitud entre los espectros de estos aislamientos. El grupo rojo corresponde a dos aislamientos de *N. glabratus*, un aislamiento de *P. kudriavzevii* y cinco aislamientos de *C. parapsilosis* y es el grupo con mayor variabilidad interna entre los aislamientos y, el grupo azul corresponde a aislamientos de *C. tropicalis*, formando un clúster separado con variabilidad entre los aislamientos.

Figura 7

Dendrograma construido en MBT Compass Explorer utilizando componentes principales (PCA).



Respecto al uso de tres métodos de identificación para la determinación de especies de *Candida*, en la tabla 12 se presenta los porcentajes de concordancia entre ellos. A la totalidad de los aislamientos de levaduras (n=196) se les realizó identificación por RapID Yeast Plus y MALDI-TOF, sin embargo, se obtuvo un 82,1% de concordancia de identificación entre estos dos métodos, presentándose discrepancia en 35 aislamientos principalmente por la dificultad en la identificación de especies crípticas de *Candida* o especies emergentes por parte del método bioquímico. Por otra parte, solamente se identificaron 65 aislamientos por secuenciación de región ITS dado que este método únicamente fue utilizado en aquellos aislamientos que no se identificaron por bioquímica o MALDI-TOF, con discrepancias o puntaje menor a 2.0 en MALDI-TOF. Se obtuvo un 84,61% de concordancia entre MALDI-TOF y la secuenciación de región ITS

debido a aislamientos que no se identificaron por espectrometría de masas, aquellos correspondientes a *D. mesorugosa* y cuatro aislamientos de *Candida*. En relación con la concordancia entre RapID y la secuenciación de región ITS el porcentaje de concordancia fue del 58,46%, por discrepancias en la identificación de especies como *K. ohmeri*, *D. mesorugosa*, *L. elongisporus* y especies crípticas de *Candida*.

Tabla 12

Concordancia de aislamientos identificados por RapID, MALDI-TOF y secuenciación ITS

	Concordancia entre	Concordancia entre	Concordancia entre
	RapID y MALDI-TOF	MALDI-TOF e ITS	RapID e ITS
	n (%)	n (%)	n (%)
Aislamientos concordantes	161 (82,1)	55 (84,61)	38 (58,46)
Aislamientos procesados	196	65	65

4.4 Asociación de los factores sociodemográficos y clínicos con la colonización por *Candida* spp. en los participantes del estudio

4.4.1 Análisis bivariado

Se realizó un análisis bivariado para identificar los factores sociodemográficos y clínicos asociados a la colonización por *Candida* spp. en los participantes del estudio.

Respecto a las variables sociodemográficas edad, sexo biológico y el régimen de seguridad social, no se encontró asociación estadísticamente significativa. Teniendo en cuenta que la variable régimen de seguridad social presentó un valor $p=0,050$, se analizó la medida de asociación razón de prevalencia (RP) para identificar si en alguna de las categorías de la variable se presentaba

asociación; no obstante, los valores de RP, así como su intervalo de confianza del 95% (IC 95%) no evidenciaron la consistencia en la fuerza de asociación (Tabla 13).

Tabla 13

Análisis bivariado de variables sociodemográficos entre pacientes no colonizados y colonizados.

Variable	No colonizados	Colonizados	RP(IC95%)	Valor p
	n=30 n (%)	n=84 n (%)		
Sexo				
Femenino	10 (25)	30 (75)	1	0,815
Masculino	20 (27,03)	54(72,97)	0,97(0,77-1,22)	
Edad (años)				
19-59 años	19(32,76)	39(67,24)	1	0,112
60 y más	11(19,64)	45(80,36)	1,1(0,95-1,49)	
Régimen de salud				
Subsidiado	18 (21,43)	66 (78,57)	1	0,050*
Contributivo	4 (44,44)	5 (55,56)	0,70 (0,39-1,28)	
Vinculado/Ninguno	3 (75)	1 (25)	0,31 (0,058-1,74)	
Otro	5 (29,41)	12 (70,59)	0,89 (0,64-1,24)	

Por otra parte, respecto a las variables clínicas, aquellas que mostraron una asociación estadísticamente significativa fueron la cirugía reciente, la presencia de sepsis y la infección bacteriana localizada (Tabla 14). La cirugía reciente se asoció significativamente con una menor probabilidad de colonización por *Candida* spp. (RP:0,69, IC 95% 0,51-0,93, $p=0,004$) mientras que la presencia de sepsis se asoció con una mayor probabilidad de colonización por *Candida* spp. (RP:1,34, IC 95% 1,11-1,61, $p=0,020$), al igual que tener infección bacteriana localizada (RP:1,31, IC 95% 1,08-1,58, $p=0,028$).

Tabla 14

Análisis bivariado de variables clínicas entre pacientes no colonizados y colonizados

Variable	No colonizados n=30 n (%)	Colonizados n=84 n (%)	RP(IC95%)	Valor p
Tiempo de estancia previo ingreso a UCI				
0 a 1 día	28 (27,45)	74 (72,55)	1	0,729
2 o más días	2 (16,67)	10 (83,33)	1,14 (0,86-1,51)	
APACHE				
Menor a 24	10 (23,81)	32 (76,19)	1	1
Mayor o igual a 24	4 (25)	12 (75)	0,98 (0,70-1,36)	
Cirugía reciente	16 (43,24)	21 (56,76)	0,69 (0,51 - 0,93)	0,004*
Medicamentos				
Consumo de antibióticos	17 (21,52)	62 (78,48)	1,24 (0,94 - 1,65)	0,081
Consumo de antifúngico pos-ingreso	0 (0)	6 (100)	1	0,338
Uso Propofol	1 (25)	3 (75)	1,01 (0,57 - 1,81)	1
Terapia inmunosupresora	2 (66,67)	1 (33,33)	0,44 (0,08-2,21)	0,169
Consumo corticoides	5 (21,74)	18 (78,26)	1,07 (0,84-1,38)	0,792
Tipo de nutrición				
Nutrición parenteral	14 (22,22)	49 (77,78)	1,13 (0,90- 1,42)	0,27
Nutrición enteral sonda	6 (18,18)	27 (81,82)	1,16 (0,93-1,44)	0,208
Nutrición enteral oral	4 (44,44)	5 (55,56)	0,73 (0,40-1,33)	0,24
Dispositivos médicos invasivos				
Uso de catéter	30 (26,79)	82 (73,21)	-	1
Cantidad de catéteres				
0	1 (33,33)	2 (66,67)	1	1
1	28 (26,42)	78 (73,58)	1,10 (0,49-2,47)	
2	1 (20)	4 (80)	1,2 (0,48-2,98)	
Uso CVC	19 (25,33)	56 (74,67)	1,04 (0,82-1,31)	0,741
Uso CVP	10 (27,03)	27 (72,97)	0,98 (0,77 - 1,24)	0,905
Uso Mahurkar	2 (66,67)	1 (33,33)	0,44 (0,89-2,21)	0,169
Uso sonda vesical	26 (26,26)	73 (73,74)	1,00 (0,72-1,39)	1

Tabla 14

Continuación, análisis bivariado de variables clínicas entre pacientes no colonizados y colonizados

Variable	No colonizados n=30	Colonizados n=84	RP(IC95%)	Valor <i>p</i>
	n (%)	n (%)		
Soporte ventilatorio	20 (27,03)	54 (72,97)	0,97 (0,77-1,22)	0,815
Intubación traqueal	18 (30)	42 (70)	0,9 (0,72-1,11)	0,346
Traqueostomía	2 (40)	3 (60)	0,80 (0,39-1,66)	0,606
Hemodiálisis	1 (14,29)	6 (85,71)	1,17 (0,85-1,62)	0,674
Diálisis peritoneal	0 (0)	2 (100)	-	1
Morbilidades				
Sepsis	2 (8)	23 (92,0)	1,34 (1,11-1,61)	0,020*
Infección bacteriana localizada	3 (10,34)	26 (89,66)	1,31 (1,08-1,58)	0,028*
Cáncer	2 (25)	6 (75)	1,01 (0,67-1,54)	1
Diabetes	3 (12,50)	21 (87,50)	1,25 (1,02 - 1,53)	0,117
Hipertensión arterial	11 (23,40)	36 (76,60)	1,06 (0,85 - 1,33)	0,554
Cirrosis hepática	1 (16,67)	5 (83,33)	1,13 (0,78 - 1,65)	1
Desnutrición	0 (0)	5 (100)	-	0,323
Falla renal	3 (16,67)	15 (83,33)	1,15 (0,91-1,47)	0,393
Obesidad	1 (11,11)	8 (88,89)	1,22 (0,94-1,59)	0,441

4.4.2 Análisis multivariado

Posterior al análisis bivariado, se realizó un análisis multivariado para determinar los factores independientes asociados a la colonización por *Candida*. Para este modelo, se incluyeron la edad, el régimen de salud, la cirugía reciente, el consumo de antibióticos, la terapia inmunosupresora, el uso de catéter Mahurkar, la presencia de sepsis, la infección bacteriana localizada y la diabetes por tener valor *p* menor a 0,2, y se analizaron mediante un modelo de regresión de Poisson con varianza robusta. Luego de evaluar diferentes modelos de regresión, las variables cirugía previa y la sepsis se mantuvieron en el modelo. De esta manera, el antecedente

de cirugía se comportó como un factor que disminuye el riesgo de colonización por *Candida* (RP: 0,69, IC 95% 0,51-0,92, $p=0,012$) mientras que la sepsis se comportó como un factor que aumenta el riesgo de colonización por *Candida* (RP: 1,36, IC 95% 1,15-1,62, $p<0,001$) en el modelo final propuesto (Tabla 15).

Tabla 15

Modelo de regresión propuesto

Colonización	Razón de prevalencia (RP)	IC 95%	Valor p
Cirugía reciente	0,69	0,51-0,92	0,012*
Sepsis	1,36	1,15-1,62	<0,001*

El modelo descrito previamente se evaluó con la prueba de bondad de ajuste y se obtuvo un valor $p=1,000$. Lo anterior indica que el modelo ajustó bien los datos.

5. Discusión de resultados

La candidiasis invasora es una de las infecciones fúngicas que afecta con mayor frecuencia a pacientes de UCI, puede ser de origen endógeno o exógeno, su progresión es bastante rápida, se ha asociado con alta morbilidad y mortalidad cercana al 40% (Cortes et al., 2020), y con factores de riesgo determinantes para su presentación. La colonización por *Candida* ha sido asociada como un factor de riesgo para el desarrollo de la infección junto con alteraciones intrínsecas del sistema inmune, el uso de dispositivos invasivos y procesos quirúrgicos que facilitan el paso de estas levaduras a otros tejidos (Caggiano et al., 2011; Logan et al., 2020).

En el presente trabajo de grado se determinó la colonización por *Candida* spp. y las especies colonizantes en pacientes adultos no neutropénicos que ingresaron a los tres servicios de UCI polivalente del Hospital Universitario de Santander, así mismo, se revisaron las características clínicas y sociodemográficas de los pacientes que pudieran estar relacionadas con dicha colonización.

La necesidad de realizar vigilancia de colonización en los pacientes críticamente enfermos se soporta en el aumento de enfermedad fúngica invasiva (IFD) a nivel mundial principalmente en grupos poblacionales en riesgo como los pacientes en UCI. Por lo anterior, la OMS publicó en el 2022 la lista de patógenos fúngicos prioritarios categorizando a seis especies de *Candida* dentro tres grupos: crítico, alto y mediana prioridad, como un llamado a desarrollar estrategias encaminadas a la prevención de infección por estos patógenos (World Health Organization, 2022).

Con respecto a los resultados obtenidos de la prevalencia puntual de colonización en la población de estudio, se evidenció un alto porcentaje de colonización por *Candida* spp. (73,68%; n=84) que refleja el estado previo con el cual ingresan los pacientes al servicio de UCI, es decir

que puede tratarse de una colonización que los pacientes han adquirido de otro servicio, ambiente hospitalario o de la comunidad. Teniendo en cuenta estudios previos relacionados en pacientes críticos, la prevalencia de colonización es variable de acuerdo con el tipo de UCI (quirúrgica, médica o polivalente), el tipo de muestra evaluada (sitios de inserción de heridas, hisopado rectal, materia fecal, hisopados piel, aspirado traqueal, orina, entre otros,) y el período de toma de muestra (al ingreso o después de un tiempo de estancia en la UCI).

Los hallazgos obtenidos en el presente trabajo reflejan una alta prevalencia de colonización al ingreso a la UCI (73,68%; n=84), comparando con otros estudios previos, como el estudio multicéntrico realizado por Nascimento y colaboradores en dos hospitales en Portugal donde encontraron prevalencia de colonización al ingreso del 27,3%. Sin embargo, las muestras analizadas correspondían únicamente a hisopados de axila e ingle bilateral y, por otro lado, en una revisión sistemática y metaanálisis de colonización por *Candida* como predictor de candidiasis invasiva en pacientes no neutropénicos en UCI donde se incluyeron 9825 pacientes de 10 estudios se reportó un 40% de colonización (Nascimento et al., 2024; Alenazy et al., 2021). Por otra parte, otros estudios relacionados establecieron una mayor prevalencia de colonización que concuerdan con nuestro estudio, como el estudio de Caggiano y colaboradores en Italia (Caggiano et al., 2011) en pacientes críticos de neurocirugía, con una prevalencia de colonización al ingreso del 70,6%, o el estudio realizado por Jacobs y colaboradores en Estados Unidos donde reportaron un 67% de colonización al ingreso (Jacobs et al., 2015). Sin embargo, en Colombia no existen estudios similares de colonización con los cuales se puedan contrastar los resultados obtenidos, dado que los estudios desarrollados a la fecha se han enfocado en pacientes con candidemia y candidiasis invasiva, de manera que el desarrollo del trabajo de grado permitió obtener los primeros resultados de colonización por *Candida* spp. en pacientes críticos en nuestro medio.

Adicional a la prevalencia alta de colonización, si bien se obtuvo predominio de colonización monofocal (51,19%; n=43), se detectó un porcentaje considerable de colonización multifocal (48,81%; n=41), observando que algunos pacientes presentaron la misma especie de *Candida* en los diferentes sitios anatómicos colonizados, lo que podría indicar la presencia de la misma cepa en diferentes localizaciones del paciente. Sin embargo, aunque la identificación fenotípica y por espectrometría de masas sugiera que los aislamientos corresponden a la misma especie, sería fundamental evaluar la clonalidad de estos aislamientos a través de estudios de tipificación molecular, con el fin de evaluar el grado de similitud genética entre las cepas aisladas y poder discriminar si se trata de una colonización multifocal clonal o por cepas diferentes (Li et al., 2016). Adicionalmente, los análisis de los perfiles espectrales del MALDI-TOF mediante la creación de dendrogramas utilizando PCA podría ayudar a visualizar similitudes y diferencias entre estos, pudiendo aportar información indirectamente sobre la relación entre cepas (Parra-Giraldo et al., 2018; Rodríguez et al., 2023). La colonización multifocal se ha descrito como un factor de riesgo independiente de infección por *Candida* en pacientes no neutropénicos en UCI, indicando que este tipo de colonización suele ser el primer estadio para la mayoría de los casos de Candidemia y Candidiasis Invasiva tal como se informa en el estudio EPCAN, donde el 56% de los pacientes presentaban colonización multifocal (León et al., 2006). A pesar de lo anterior, no fue posible determinar este factor de riesgo en la presente investigación dado que aún no se tiene acceso a datos de seguimiento que permitan evaluar si se desarrolló Candidiasis invasiva o Candidemia.

El uso del CHROMagar™ *Candida* permitió la detección de colonización mixta en las muestras estudiadas y la identificación presuntiva de las especies implicadas con mayor frecuencia en cuadros clínicos. Sin embargo, su implementación en estudios de colonización por *Candida*

utilizando el sello replicador no se ha descrito hasta la fecha, aunque se ha reportado la implementación del agar cromogénico en la detección de Candidemia mixta que representa del 2% al 9% de este tipo de infecciones (Yang et al., 2014). El uso del CHROMagar™ Candida contribuye con la separación y purificación de los aislamientos y es importante para realizar una diferenciación inicial que aporta a la identificación definitiva de las levaduras del género *Candida*. Sin embargo, se recalca en la necesidad de utilizar un método definitivo de identificación como MALDI-TOF que permita la identificación a nivel de especie, teniendo en cuenta que especies miembros de complejos y especies crípticas pueden presentar el mismo color de la colonia en este medio.

En cuanto a la colonización por tipo de muestra se evidenció que los hisopados de piel en zona inguinal y axilar fueron los sitios anatómicos más colonizados (34,04%; n=48 y 20,56%; n=29, respectivamente) lo cual tiene relación con el comportamiento de *Candida* como levadura comensal colonizando tempranamente sitios como la piel, cavidad oral, tracto gastrointestinal y genitourinario y, las condiciones físicas proporcionadas por estos sitios donde la fricción constante y la humedad favorece el crecimiento y permanencia de la levadura, además que el uso de antibióticos o inmunosupresores en la población de estudio puede causar un desequilibrio en la microbiota de la piel, llevando al sobrecrecimiento de *Candida* spp. (Kühbacher et al., 2017). Sin embargo, en este estudio el consumo de antibióticos y la terapia inmunosupresora no mostraron asociación estadísticamente significativa que aumentara la probabilidad de colonización por *Candida* (Consumo de antibióticos RP:1,24; IC 95% 0,94-1,65; $p=0,081$ y terapia inmunosupresora RP:0,44; IC 95% 0,08-2,21; $p=0,169$).

Adicionalmente, la frecuencia de colonización que encontramos en el presente estudio de un 34,04% para la zona inguinal y 20,56% para la zona axilar, es similar al estudio de Nascimento

y colaboradores, donde reportaron un 27.3% de colonización realizando muestreo de hisopado bilateral combinado en zona axilar e inguinal, enfatizando en la importancia de hacer muestreo de vigilancia en la piel (Nascimento et al., 2024), teniendo en cuenta que este sitio anatómico puede representar un reservorio para patógenos potenciales y facilitar la transmisión horizontal en el entorno hospitalario (Colombo et al., 2017). Estos hallazgos representan un posible riesgo dado que al perturbar la integridad de la barrera y/o la respuesta inmune del hospedante, el hongo puede migrar a través del epitelio y acceder a nichos anatómicos profundos para causar una infección (Lopes & Lionakis, 2022).

Una de las razones adicionales para hacer seguimiento de colonización en piel fue la importancia de la vigilancia de *C. auris*, la cual ha sido descrita como colonizante de piel de axila e ingle y como una levadura multirresistente, no obstante, en este estudio solo se encontró un aislamiento en piel de ingle cuya identificación fue confirmada por secuenciación de región ITS y en los análisis de susceptibilidad antifúngica (Gil Guiza, 2024) únicamente presentó resistencia a anfotericina B según los puntos de corte clínicos de la CDC.

Ahora bien, respecto a la colonización en vías urinarias que representó la más baja de nuestro estudio (9,21%) contrasta con los resultados obtenidos en un estudio de colonización en orina en pacientes admitidos a UCI en la India, donde se obtuvo una colonización del 57,5% en la población estudiada evidenciando el uso de sonda urinaria como un factor de riesgo para la colonización por *Candida* (Singla et al., 2012). Sin embargo, en nuestro estudio el uso de sonda vesical no fue estadísticamente significativo (RP:1,00; IC 95% 0,72-1,39; $p=1$) para determinar que esté asociada con una mayor probabilidad de colonización por *Candida* y, por otro lado, se desconocen las razones que expliquen la alta prevalencia de colonización en orina en el estudio de Singla y colaboradores, asumiendo que se aplicaron los protocolos correctos de antisepsia previo

a la toma de muestra de orina por sonda. A pesar de lo anterior, nuestros resultados de distribución de especies aisladas en orina concuerdan con lo reportado en el estudio de Singla, siendo *C. tropicalis* la especie más frecuentemente aislada representando el 41,17% de los aislamientos en nuestro caso, respecto al 57,3% de los aislamientos obtenidos en su estudio, seguido de *C. albicans* (35,29% vs 29,33%), *N. glabratus* (17,64% vs 2,5%) y *C. parapsilosis* (5,88% vs 10,66%). *C. tropicalis* es considerada la primera o segunda especie más frecuentemente aislada en orina dentro del grupo de *Candida* no *albicans* (Álvarez-Lerma et al., 2003; Mota et al., 2017), con capacidad de formar biopelículas en dispositivos médicos como las sondas urinarias (Negri et al., 2011) y clasificada en el grupo de alta prioridad por la OMS por su alta mortalidad en adultos al causar candidiasis invasiva, que oscila entre el 55 al 60% (World Health Organization, 2022).

Por otra parte, en relación con el índice de colonización, se obtuvo una alta proporción de pacientes con índice igual o superior a 0,5 (61,70%; n=29) 7 días después del ingreso a UCI, lo cual puede sugerir un mayor riesgo en este grupo de pacientes de desarrollar candidiasis invasiva pues los estudios han reflejado que la colonización por *Candida* spp. precede a una infección fúngica invasiva y el riesgo se relaciona directamente con el índice de colonización (Eggimann et al., 2014). Sin embargo, es importante recalcar que en nuestro estudio se estimó el índice de colonización crudo dado que no se pudo determinar que correspondieran a aislamientos con idéntico patrón genético, como sugiere Pittet (Eggimann et al., 2014; Pittet et al., 1994). Tampoco fue posible estimar el índice de colonización corregido (ICC) pues no se realizaron cultivos semicuantitativos para poder estimar una colonización pesada por *Candida* spp. A pesar de lo anterior, Pittet sugiere en su estudio la utilidad de estimar el índice teniendo en cuenta el crecimiento de diferentes especies de *Candida* a pesar de no considerar el nivel genético, dado que de igual forma se está aportando a la carga fúngica que puede llevar al desarrollo de una infección

en el paciente crítico (Eggimann et al., 2014). Por otro lado, no fue posible estimar el Candida Score en el presente estudio dado que su estimación está indicada en pacientes con estancia en UCI de al menos siete días y, en nuestro estudio solamente se obtuvo acceso a los registros clínicos del día de la toma de muestra basal (48-72 horas de ingreso a UCI), de manera que no se pudo conocer la presencia de factores de riesgo prolongados como la administración de nutrición parenteral, cirugía mayor y la presencia de sepsis severa, necesarios para determinarlo (León et al., 2006).

En cuanto a la distribución de especies colonizando a los pacientes críticos, en nuestro estudio *C. albicans* correspondió a la especie más prevalente (43,7%; n=80), lo cual es consistente con lo reportado en estudios relacionados, como el estudio EPCAN donde representó el 72,1% de los aislamientos (León et al., 2009), en Austria donde se reportó una prevalencia del 58% de los aislamientos en muestras de vigilancia (Kautzky et al., 2015), y en Colombia en un estudio sobre la epidemiología de aislamientos de *Candida* provenientes de UCI, donde *C. albicans* correspondió al 48,3% de los aislamientos (Motoa et al., 2017). Según la OMS, *C. albicans* forma parte del grupo crítico de patógenos prioritarios por su distribución a nivel global, alta mortalidad asociada al producir Candidiasis Invasiva, que oscila entre el 20 y el 50% y aumento en la resistencia a los azoles (World Health Organization, 2022). A pesar de lo anterior, nuestro estudio reflejó una alta prevalencia de especies de *Candida* no *albicans* (56,3%; n=103) como se han venido reportando también en estudios relacionados con un 51,7%, y un 64,8% de prevalencia (Motoa et al., 2017; Liew et al., 2015) respectivamente, e incluso sobrepasando la prevalencia de *C. albicans* hallando un predominio de especies no *albicans* con un 88% de prevalencia (Ahmed et al., 2018). Esta tendencia del cambio en la epidemiología y aumento de especies no *albicans* en los últimos años se ha fundamentado en factores de riesgo asociados a la colonización como el uso

de dispositivos médicos, la nutrición parenteral y la exposición previa a antifúngicos como los azoles, aumentando la prevalencia de especies como *C. parapsilosis* y *Pichia kudriavzevii* (Riera et al., 2022). Sin embargo, en el presente estudio no fue posible comprobar esta asociación.

Adicionalmente, la distribución de especies reportada en nuestro estudio es similar a lo encontrado en la epidemiología de Candidiasis Invasiva en Sur América y Colombia, donde *C. albicans* es la especie más prevalente, mientras que la especie más prevalente dentro del grupo no *albicans* es *C. parapsilosis*, seguido de *C. tropicalis* y una baja proporción de *C. glabrata* (Berrio et al., 2017; Riera et al., 2022).

Se destaca también el predominio de especies de *C. parapsilosis* colonizando la zona axilar (44,11%; n=15), teniendo en cuenta que es considerada un colonizador frecuente de la piel y de los ambientes hospitalarios (da Silva et al., 2021) asociada a infecciones intrahospitalarias posiblemente provenientes de las manos de los trabajadores sanitarios y de las superficies del entorno hospitalario y con capacidad de formar biopelículas en dispositivos médicos siendo una de las causas principales de infecciones asociadas a catéter (Riera et al., 2022) y categorizado en el grupo de prioridad alta de la OMS, debido al aumento en la resistencia antifúngica principalmente en aquellos aislamientos asociados a formación de biopelículas en dispositivos como líneas centrales, implantes y prótesis (World Health Organization, 2022).

Además de las especies de *Candida*, se logró aislar e identificar otras levaduras en baja proporción (6,63%; n=13), tales como *Diutina mesoruga*, *Lodderomyces elongisporus*, *Trichosporon asahii*, *Kazachstania telluris* group, *Kodamaea ohmeri* y *Saccharomyces* spp., las cuales son consideradas patógenos emergentes en población crítica. En particular, *D. mesorugosa*, (antes *C. rugosa*) fue posible identificarla en nuestro estudio por secuenciación de región ITS y se han reportado casos de fungemia en pacientes inmunocomprometidos causada por esta levadura,

con sensibilidad reducida a la anfotericina B y al fluconazol (Kumar et al., 2022). Asimismo, *L. elongisporus* que fue identificado correctamente por espectrometría de masas MALDI-TOF, aunque fenotípicamente similar al complejo *C. parapsilosis*, se ha relacionado con fungemias en ambientes hospitalarios, asociado a dispositivos intravasculares, por su capacidad de formar biopelículas y por su alta persistencia en el entorno hospitalario (Wang & Xu, 2023); levaduras como *T. asahii* y *K. ohmeri* han sido reportadas en infecciones graves, incluidas fungemias y casos de mortalidad elevada en pacientes inmunocomprometidos y con dispositivos invasivos. Estos patógenos no *Candida* suelen presentar patrones de resistencia antifúngica que pueden complicar el manejo terapéutico, lo que resalta la importancia de identificarlas correctamente, dado que, por ejemplo, *Trichosporon* es intrínsecamente resistente a los equinocandinas, mientras que *Kodamaea ohmeri* ha mostrado variabilidad en su respuesta a antifúngicos (Benelli et al., 2022; Wang & Xu, 2023).

Con relación a la determinación de características sociodemográficas asociadas a la colonización, en este estudio no se evidenció asociación estadísticamente significativa de ninguna de las características estudiadas como el sexo biológico y la edad incluidas en la hipótesis planteada inicialmente, de manera que no se encuentran asociadas a una mayor o menor probabilidad de colonización por *Candida* spp. en la población de estudio. Contrario a estos resultados, un estudio en China comparando características clínicas y epidemiológicas de pacientes críticos colonizados respecto a los no colonizados encontraron diferencias significativas en la edad ($p < 0,001$) y el sexo ($p = 0,005$) entre ambos grupos de pacientes, aumentando la probabilidad de colonización por *Candida* spp. en pacientes con mayores a 65 años y de sexo biológico masculino (Xia et al., 2022). Asimismo, otro estudio reportó diferencias estadísticamente significativas por edad entre los pacientes no colonizados y colonizados por *Candida* spp. a nivel oral, sugiriendo

que, por cada década, aumentaba la probabilidad de colonizarse por *Candida* spp. en un 30% (OR:1,03; IC 95% 1,02–1,04; p=0,001), sin embargo, el sexo biológico no mostró diferencias significativas (Malani et al., 2011). A pesar de lo anterior, otros estudios coinciden con nuestros hallazgos, no encontrando asociación estadísticamente significativa de estas características con la colonización por *Candida* (Caggiano et al., 2011; Nascimento et al., 2024; Schulte et al., 2015).

Respecto a las características clínicas estudiadas en los pacientes críticos de nuestro estudio, en los análisis bivariados la infección bacteriana localizada (RP:1,31, IC 95% 1,08-1,58, p=0,028), la presencia de sepsis (RP:1,34, IC 95% 1,11-1,61, p=0,020) y la cirugía reciente (RP:0,69, IC 95% 0,51-0,93, p=0,004) mostraron una asociación estadísticamente significativa, estas dos últimas se mantuvieron en el modelo propuesto de regresión logística como factores asociados a la colonización comportándose la cirugía como un factor que disminuye el riesgo de colonización por *Candida* (RP: 0,69, IC 95% 0,51-0,92, p= 0,012) mientras que la sepsis se comportó como un factor que aumenta el riesgo de colonización por *Candida* (RP: 1,36, IC 95% 1,15-1,62, p= <0,001). Específicamente, es interesante el comportamiento de la cirugía en nuestro estudio como un factor estadísticamente asociado a una menor probabilidad de colonización, contrario al reporte de estudios relacionados donde se ha encontrado como un factor de riesgo, es decir, aumentando la probabilidad de colonización por *Candida* spp. y asociado al desarrollo de candidiasis invasiva, incluso formando parte de herramientas clínicas de predicción como el Candida Score, siendo un factor independiente asociado a la infección por *Candida* spp. según el estudio EPCAN (OR: 2,04; IC 1,27 - 3,30; p=0,003) o la regla predictiva propuesta por Ostrosky-Zeichner et al. basado en dos estudios retrospectivos multicéntricos, donde la cirugía es un criterio menor dentro del modelo predictivo de candidiasis invasiva (Delaloye & Calandra, 2014; León et al., 2009; Ostrosky-Zeichner et al., 2007). Principalmente, la práctica de cirugías abdominales es

la que se ha asociado con mayor riesgo de desarrollar candidiasis invasiva, como reportó Agyald-Öhman en su estudio realizado a 59 pacientes de la UCI, encontrando que un índice de colonización mayor a 0,8 y la práctica de cirugía gastro-abdominal se asoció con el desarrollo de candidiasis invasiva (Agyald-Öhman et al., 2008). Lo anterior, se explica por la alteración de la integridad física de la piel y membranas mucosas que puede resultar en contaminación del peritoneo por la microbiota intestinal, donde se encuentra *Candida* como colonizador, que sumado a factores adicionales del paciente crítico puede llevar al desarrollo de candidiasis invasiva a nivel abdominal como peritonitis recurrentes y abscesos intra-abdominales (Eggimann 2014). Sin embargo, en nuestro estudio no pudimos realizar el análisis por tipo de cirugía, pues el número de unidades de observación por tipo era muy pequeño para estimar su comportamiento en la colonización por *Candida* spp., lo que hubiese podido brindarnos una mayor claridad respecto a la asociación que evidenciamos. A pesar de lo anterior, se podría explicar posiblemente el comportamiento de la cirugía como un factor que disminuye el riesgo de colonización por *Candida* por las medidas más estrictas de higiene durante el período perioperatorio, que puede incluir un manejo más riguroso de las prácticas de asepsia y desinfección, como los baños pre-quirúrgicos con clorhexidina, una administración más controlada y dirigida de antibióticos, reduciendo el riesgo de disbiosis o por los cuidados posoperatorios de los pacientes, donde se brinda un monitoreo más controlado para la prevención de infecciones, limitando la colonización. En relación con la presencia de sepsis que se encontró en nuestro estudio el cual aumenta la probabilidad de colonización por *Candida* spp., guarda relación con lo reportado en Turquía por Ayhan et al. 2019, en un estudio en pacientes críticos no neutropénicos donde la sepsis se comportó como un factor de riesgo independiente para la colonización por *Candida* (OR: 2,37; IC 95% 1,15-4,85; p=0,018) y para la infección (OR: 7,89; IC 95% 3,54-17,57; p=<0.001) (Ayhan et al., 2019)

y en otros estudios donde se ha descrito como factor de riesgo asociado a la infección tales como el estudio observacional EPCAN (OR: 8,29; IC 95% 5,07-13,6; $p < 0.001$) (León et al., 2009), y el meta-análisis y revisión sistemática que realizó Alenazy et al. 2021 en 9825 pacientes críticos no neutropénicos, evidenciando que los pacientes con sepsis y colonizados con *Candida* spp. tienen mayor probabilidad de desarrollar candidiasis invasiva (OR 3,32; 95% CI 1.68–6.58) (Alenazy et al., 2021). Por otro lado, la infección bacteriana localizada se encontró estadísticamente asociada con una mayor probabilidad de colonización por *Candida* spp. en el análisis bivariado (RP:1,31, IC 95% 1,08-1,58, $p=0,028$) y se relaciona con lo planteado en la hipótesis de investigación, coincidiendo con el estudio de Xia et al. 2022 donde las infecciones concurrentes bacterianas presentaron diferencias estadísticamente significativas entre los pacientes colonizados y no colonizados ($p=0,004$) (Xia et al., 2022) y con el estudio de Schulte et al. 2015 donde determinaron factores de riesgo asociados a la colonización por *Candida* y a la co-colonización con bacterias multirresistentes (MDRO), encontrando que los pacientes con histórico de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (MRSA), tenían mayor probabilidad de presentar co-colonización con *Candida* spp. (OR: 5,51; IC 95% 1,89-16,04) (Schulte et al., 2015). Teniendo en cuenta lo anterior, hay que tener presente que las infecciones bacterianas localizadas, que pueden conducir a sepsis, incrementan la necesidad de antibióticos de amplio espectro, que causan una presión selectiva en la microbiota y promueven un entorno favorable para la colonización por *Candida* spp. (Guinan et al., 2019). No obstante, en el presente estudio no se encontró asociación estadísticamente significativa entre el consumo de antibióticos y la colonización por *Candida* spp.

Finalmente, en el presente trabajo de investigación se generaron los primeros datos a nivel de Santander sobre la colonización por *Candida* en pacientes adultos al ingreso a UCI, determinando la prevalencia y la incidencia de colonización a los 7 días de estancia, así como la

distribución de especies colonizantes con la aplicación de tres métodos de identificación, que permitieron determinar las especies de levaduras no solamente del género *Candida* sino también pertenecientes a otros géneros considerados patógenos emergentes en los pacientes críticos, así como la determinación de factores estadísticamente asociados con una mayor o menor probabilidad de colonización por *Candida* spp. en la población de estudio. No obstante, el estudio presenta limitaciones derivadas del diseño metodológico por corresponder a un estudio observacional, donde es posible la presentación de sesgos de selección teniendo en cuenta la heterogeneidad de la población de estudio, dado que los pacientes críticos pueden diferir en cuanto a la gravedad de su estado de salud, comorbilidades, entre otros factores, sesgos de información derivado de la fuente secundaria correspondiente a las historias clínicas para el acceso a variables clínicas y sociodemográficas de interés para el estudio teniendo en cuenta que estos registros son realizados por diferente personal de salud pudiéndose presentar registros clínicos incompletos y, que no es posible determinar relación causal entre los factores de riesgo determinados y la colonización por *Candida* debido al tipo de estudio que se desarrolló. Finalmente, hay que tener presente que la estimación del tamaño de muestra para el presente estudio se calculó a partir de variables sociodemográficas y clínicas que mostraron asociación estadísticamente significativa con la colonización por *Candida* en estudios previos. Sin embargo, para variables con p marginal se podría incrementar el poder estadístico ampliando el tamaño de la muestra para determinar si estas variables tienen relevancia clínica en la colonización por *Candida*, y por lo tanto implicaciones importantes para el desarrollo de estrategias de prevención en la UCI.

6. Conclusiones

Se evidenció una alta prevalencia de colonización al ingreso a la Unidad de Cuidados Intensivos en la población de estudio correspondiente al 73,68% y una incidencia acumulada de colonización a los siete días de estancia del 42,85%, con un índice de colonización superior a 0,5 en el 61,70% de los pacientes, hallazgos que sugieren la importancia de la vigilancia y monitoreo continuo de pacientes en riesgo para prevenir el desarrollo de infección por *Candida spp.*

La especie más prevalente encontrada fue *Candida albicans* representando el 43,7% de los aislamientos y predominando en la ingle, faringe y tráquea. Sin embargo, se resalta la presencia mayoritaria de especies no *albicans* que representaron el 56,3%, con predominio de *Candida parapsilosis*, destacando la necesidad de implementar métodos de identificación precisos debido a factores de virulencia y patrones de susceptibilidad diferenciales de las especies.

Se encontraron como factores asociados a la colonización por *Candida spp.* la presencia de infección bacteriana localizada, sepsis y la cirugía reciente. La infección bacteriana y la presencia de sepsis se asociaron con mayor probabilidad de colonización por *Candida spp.* mientras que la cirugía reciente se asoció con una menor probabilidad de colonización; los dos últimos, conservando esta significancia en el análisis multivariado.

Los hallazgos de este estudio abren la posibilidad de llevar a cabo futuras investigaciones en nuestra población orientadas a evaluar el impacto de la colonización en el desarrollo de infección invasiva en pacientes críticos y con base en ello, implementar protocolos de evaluación de riesgo y programas dentro del control de infecciones que minimicen la prevalencia de colonización en los pacientes críticos.

7. Recomendaciones

Realizar seguimiento a los pacientes durante su estancia en UCI para evaluar la colonización durante la estancia en el servicio y el desarrollo de infección invasiva por *Candida* con el fin de determinar el riesgo asociado a la colonización y la utilidad clínica del índice de colonización en el desarrollo de candidiasis invasiva en el contexto local.

La realización de cultivos semicuantitativos para determinar colonización pesada en la población de estudio y estimar el índice de colonización corregido y su utilidad clínica.

Establecer la distribución de especies de *Candida* causando infección invasiva en pacientes críticos junto con la determinación de los perfiles de susceptibilidad y comparar con la distribución de especies y perfil de susceptibilidad de *Candida* implicada en colonización.

Realizar estudios de colonización en el personal de salud y muestreos en el ambiente hospitalario acompañado de la determinación de genotipos circulantes de especies de *Candida* con el fin de evaluar el riesgo de transmisión horizontal por esta levadura en los servicios de UCI.

Referencias Bibliográficas

- Agvald-Öhman, C., Klingspor, L., Hjelmqvist, H., & Edlund, C. (2008). Invasive candidiasis in long-term patients at a multidisciplinary intensive care unit: Candida colonization index, risk factors, treatment and outcome. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, *40*(2), 145–153. <https://doi.org/10.1080/00365540701534509>
- Ahmed, A., Azim, A., Kumar Baronia, A., Yadav, R., Sharma, P., & Marak, R. S. K. (2018). Epidemiology of Candida colonization in medical surgical intensive care unit of a tertiary care teaching hospital of North India. *Journal of Microbiology and Infectious Diseases*, *8*(4), 147–152. <https://doi.org/10.5799/xxxxx>
- Alburquenque, C., Beltrán, S., Olivares, R., Falconer, M. A., Amaro, J., Fuentes, M., & Tapia P., C. V. (2013). Distribución de especies y perfil de susceptibilidad de aislados de Candida spp: la importancia de vigilar también cepas de la comunidad. *Revista Chilena de Infectología*, *30*(3), 244–251. <https://doi.org/10.4067/S0716-10182013000300002>
- Alenazy, H., Alghamdi, A., Pinto, R., & Daneman, N. (2021). Candida colonization as a predictor of invasive candidiasis in non-neutropenic ICU patients with sepsis: A systematic review and meta-analysis. *International Journal of Infectious Diseases*, *102*, 357–362. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2020.10.092>
- Álvarez-Lerma, F., Nolla-Salas, J., León, C., Palomar, M., Jordá, R., Carrasco, N., & Bobillo, F. (2003). Candiduria in critically ill patients admitted to intensive care medical units. *Intensive Care Medicine*, *29*(7), 1069–1076. <https://doi.org/10.1007/s00134-003-1807-y>

- Alves Id, R., Udia Barata-Antunes, C., Casal, M., Brown Id, A. J. P., Van Dijckid, P., & Paiva, S. (2020). *Adapting to survive: How Candida overcomes host-imposed constraints during human colonization*. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1008478>
- AppliedBiosystems. (2020). Procedures for viral nucleic acid isolation: User Bulletin. In *User Bulletin* (p. MAN0019332).
- Asociación Colombiana de Medicina Critica y Cuidado Intensivo. AMCI. (2022). *Consenso Colombiano de criterios de ingreso a cuidados intensivos*.
- Ayhan, M., Birengel, M. S., Yilmaz, G., Coşkun, B., & Saricaoğlu, E. M. (2019). Evaluation of risk factors for candida colonization and infection in non-neutropenic intensive care patients. *Turkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences*, 39(3), 251–257. <https://doi.org/10.5336/medsci.2018-64511>
- Bassetti, M., Giacobbe, D. R., Agvald-Ohman, C., Akova, M., Alastruey-Izquierdo, A., Arikan-Akdagli, S., Azoulay, E., Blot, S., Cornely, O. A., Cuenca-Estrella, M., de Lange, D. W., De Rosa, F. G., De Waele, J. J., Dimopoulos, G., Garnacho-Montero, J., Hoenigl, M., Kanj, S. S., Koehler, P., Kullberg, B. J., ... Voss, A. (2024). Invasive Fungal Diseases in Adult Patients in Intensive Care Unit (FUNDICU): 2024 consensus definitions from ESGCIP, EFISG, ESICM, ECMM, MSGERC, ISAC, and ISHAM. *Intensive Care Medicine* 2024, 18, 1–14. <https://doi.org/10.1007/s00134-024-07341-7>
- Benelli, J. L., Basso, R. P., Grafulha, T. W., Poester, V. R., Munhoz, L. S., Martins, K. B., Zogbi, H. E., Von Groll, A., Severo, C. B., Stevens, D. A., & Xavier, M. O. (2022). Fungal Bloodstream Co-infection by Trichosporon asahii in a COVID-19 Critical Patient: Case Report and Literature Review. *Mycopathologia*, 187(4), 397–404. <https://doi.org/10.1007/s11046-022-00637-6>

- Berrio, I., Maldonado, N., De Bedout, C., Arango, K., Cano, L. E., Valencia, Y., Jiménez-Ortigosa, C., Perlin, D. S., Gómez, B. L., Robledo, C., Robledo, J., & Germen, G. (2017). *Comparative study of Candida spp. isolates: Identification and echinocandin susceptibility in isolates obtained from blood cultures in 15 hospitals in Medellín, Colombia*. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2017.11.010>
- Biotyper, M., & Systems, C. A. (2015). *Instructions for Use US IVD Bacterial Test Standard*. July.
- Bruker Daltonik. (2019). *MBT Compass User Manual*.
- Caggiano, G., Puntillo, F., Coretti, C., Giglio, M., Alicino, I., Manca, F., Bruno, F., & Montagna, M. T. (2011). Candida Colonization Index in Patients Admitted to an ICU. *Int. J. Mol. Sci*, 12, 7038–7047. <https://doi.org/10.3390/ijms12107038>
- Campos Junqueira, J., Kumar, R., Rodríguez-Cerdeira, C., Martínez-Herrera, E., Carnero-Gregorio, M., López-Barcenas, A., Fabbrocini, G., Fida, M., El-Samahy, M., & Luís González-Cespón, J. (2020). *Pathogenesis and Clinical Relevance of Candida Biofilms in Vulvovaginal Candidiasis*. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.544480>
- Ceballos-Garzón, A., Cortes, G., Morio, F., Zamora-Cruz, E. L., Linares, M. Y., Ariza, B. E., Valderrama, S. L., Garzón, J. R., Alvarez-Moreno, C. A., Pape, P. Le, & Parra-Giraldo, C. M. (n.d.). *Comparison between MALDI-TOF MS and MicroScan in the identification of emerging and multidrug resistant yeasts in a fourth-level hospital in Bogotá, Colombia*. <https://doi.org/10.1186/s12866-019-1482-y>
- CHROMagar. (n.d.). *CHROMagar Instructions For use NT-EXT-055* (Vol. 33, Issue 0). <https://www.chromagar.com/en/product/chromagar-candida/>
- CHROMagar™. (n.d.). *CHROMagar™ Candida Plus Instructions For Use* (Vol. 33, Issue 0, pp. 1–3).

- CHROMagarTM. (2022). *Instructivo de uso: CHROMagarTM Candida*. 33(0).
<https://www.chromagar.com/wp-content/uploads/2021/11/LF-EXT-001-V8.0.pdf>
- Colombo, A. L., Júnior, J. N. D. A., & Guinea, J. (2017). Emerging multidrug-resistant Candida species. *Current Opinion in Infectious Diseases*, 30(6), 528–538.
<https://doi.org/10.1097/QCO.0000000000000411>
- Colombo, A. L., Nucci, M., Park, B. J., Nouér, S. A., Arthington-Skaggs, B., Da Matta, D. A., Warnock, D., & Morgan, J. (2006). Epidemiology of candidemia in Brazil: A nationwide sentinel surveillance of candidemia in eleven medical centers. *Journal of Clinical Microbiology*, 44(8), 2816–2823. <https://doi.org/10.1128/JCM.00773-06>
- Cortés, J. A., Reyes, P., Gómez, C., Buitrago, G., & Leal, A. L. (2011). Infecciones micóticas del torrente sanguíneo en hospitales de tercer nivel en Colombia. *Revista Iberoamericana de Micología*, 28(2), 74–78. <https://doi.org/10.1016/j.riam.2010.12.002>
- Cortés, J. A., Reyes, P., Gómez, C. H., Cuervo, S. I., Rivas, P., Casas, C. A., & Sánchez, R. (2014). Clinical and epidemiological characteristics and risk factors for mortality in patients with candidemia in hospitals from Bogotá, Colombia. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*, 18(6), 631–637. <https://doi.org/10.1016/J.BJID.2014.06.009>
- Cortés, J. A., Ruiz, J. F., Melgarejo, L., & Lemos, E. (2020). Candidemia en Colombia. *Biomédica*, 40(1), 1–33.
- da Silva, E. M., Sciuniti Benites Mansano, E., de Souza Bonfim-Mendonça, P., Olegário, R., Tobaldini-Valério, F., Fiorini, A., & Svidzinski, T. I. E. (2021). High colonization by Candida parapsilosis sensu stricto on hands and surfaces in an adult intensive care unit. *Journal of Medical Mycology*, 31(2). <https://doi.org/10.1016/j.mycmed.2020.101110>

- Definition of microorganism - NCI Dictionary of Cancer Terms - NCI.* (n.d.). Retrieved January 11, 2023, from <https://www.cancer.gov/publications/dictionaries/cancer-terms/def/microorganism>
- Delaloye, J., & Calandra, T. (2014). Invasive candidiasis as a cause of sepsis in the critically ill patient. *Virulence*, 5(1), 154–162. <https://doi.org/10.4161/viru.26187>
- Eggimann, P., Garbino, J., & Pittet, D. (2003). Epidemiology of Candida species infections in critically ill non-immunosuppressed patients. *Lancet Infectious Diseases*, 3(11), 685–702. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(03\)00801-6](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(03)00801-6)
- Eggimann, P., & Pittet, D. (2014). Candida colonization index and subsequent infection in critically ill surgical patients: 20 years later. *Intensive Care Medicine*, 40(10), 1429–1448. <https://doi.org/10.1007/s00134-014-3355-z>
- Eggimann, P., Pittet, D., Eggimann, P., & Pittet, D. (2014). *Candida colonization index and subsequent infection in critically ill surgical patients: 20 years later.* <https://doi.org/10.1007/s00134-014-3355-z>
- Escandón, P., Cáceres, D. H., Lizarazo, D., Lockhart, S. R., Lyman, M., & Duarte, C. (2022). Laboratory-based surveillance of Candida auris in Colombia, 2016–2020. *Mycoses*, 65(2), 222–225. <https://doi.org/10.1111/myc.13390>
- Escandón, P., Chow, N. A., Cáceres, D. H., Gade, L., Berkow, E. L., Armstrong, P., Rivera, S., Misas, E., Duarte, C., Moulton-Meissner, H., Welsh, R. M., Parra, C., Pescador, L. A., Villalobos, N., Salcedo, S., Berrio, I., Varón, C., Espinosa-Bode, A., Lockhart, S. R., ... Chiller, T. M. (2019). Molecular epidemiology of candida auris in Colombia Reveals a Highly Related, Countrywide Colonization with Regional Patterns in Amphotericin B Resistance. *Clinical Infectious Diseases*, 68(1), 15–21. <https://doi.org/10.1093/cid/ciy411>

- Friedman, D. Z. P., & Schwartz, I. S. (2019). Emerging fungal infections: New patients, new patterns, and new pathogens. *Journal of Fungi*, 5(3). <https://doi.org/10.3390/jof5030067>
- Gil Guiza, E. M. (2024). *Distribución de los perfiles de susceptibilidad antifúngica de especies de Candida aisladas de pacientes adultos en Unidad de Cuidados Intensivos y sus factores asociados*. Industrial University of Santander.
- Girish Kumar, C. P., & Menon, T. (2005). Tobacco agar: a new medium for chlamydosporulation in *Candida albicans* and *Candida dubliniensis*. *Medical Mycology*, 43, 473–475. <https://doi.org/10.1080/13693780400029205>
- Gloeckner, A., & Abel, P. (2010). Influence of gender, age, previous hospitalization and hospital stay on *Candida*-colonization of patients in a non-surgical ICU. *International Journal of Infectious Diseases*, 14, e116. <https://doi.org/10.1016/J.IJID.2010.02.1743>
- Guinan, J., Wang, S., Hazbun, T. R., Yadav, H., & Thangamani, S. (2019). Antibiotic-induced decreases in the levels of microbial-derived short-chain fatty acids correlate with increased gastrointestinal colonization of *Candida albicans*. *Scientific Reports*, 9(1), 1–11. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-45467-7>
- Hardy Diagnostics. (n.d.). *HardyCHROMTM Candida + auris* (Issue 11).
- Hernández, B., & Velasco-Mondragón, H. E. (2000). Encuestas transversales. *Salud Publica de Mexico*, 42(5), 447–455. <https://doi.org/10.1590/s0036-36342000000500011>
- HiMedia. (n.d.). *Information For Use (IFU) HiCromeTM Candida Differential Agar* (pp. 3–5). *Identificación y sensibilidad a los antifúngicos en levaduras del género Candida - 2021 | Campus Virtual de Salud Pública (CVSP/OPS)*. (n.d.). Retrieved July 30, 2022, from <https://www.campusvirtualsp.org/es/curso/identificacion-y-sensibilidad-los-antifungicos-en-levaduras-del-genero-candida-2021>

- Jackson, M., & Cairns, T. (2021). Care of the critically ill patient. *Surgery (United Kingdom)*, 39(1), 29–36. <https://doi.org/10.1016/j.athoracsur.2020.04.003>
- Jacobs, D. M., Beyda, N. D., Asuphon, O., Jahangir Alam, M., & Garey, K. W. (2015). Host Factors and Clinical Outcomes of Candida Colonization in Critically Ill Patients. *Mycopathologia*, 179(1–2), 87–93. <https://doi.org/10.1007/s11046-014-9809-6>
- Kautzky, S., Staudinger, T., & Presterl, E. (2015). Invasive Candida-Infektionen bei Intensivpatienten einer internistischen Intensivstation: Versuch einer besseren Diagnostik durch Quantifizierung der Kolonisation. *Wiener Klinische Wochenschrift*, 127(3–4), 132–142. <https://doi.org/10.1007/s00508-014-0644-z>
- Kidd, S. E., Halliday, C. L., McMullan, B., Chen, S. C.-A., & Elvy, J. (2021). New Names for Fungi of Medical Importance: Can We Have Our Cake and Eat It Too? *Journal of Clinical Microbiology*, 59(3), 2020–2021. <https://doi.org/10.1128/JCM.02730-20>
- Kühbacher, A., Burger-Kentischer, A., & Rupp, S. (2017). Interaction of candida species with the skin. *Microorganisms*, 5(2), 1–12. <https://doi.org/10.3390/microorganisms5020032>
- Kumar, S., Kumar, A., Roudbary, M., Mohammadi, R., Černáková, L., & Rodrigues, C. F. (2022). Overview on the Infections Related to Rare Candida Species. *Pathogens*, 11(9), 1–45. <https://doi.org/10.3390/pathogens11090963>
- Lau, A. F., Kabir, M., Chen, S. C. A., Playford, E. G., Marriott, D. J., Jones, M., Lipman, J., McBryde, E., Gottlieb, T., Cheung, W., Seppelt, I., Iredell, J., & Sorrell, T. C. (2015). Candida colonization as a risk marker for invasive candidiasis in mixed medical-surgical intensive care units: Development and evaluation of a simple, standard protocol. *Journal of Clinical Microbiology*, 53(4), 1324–1330. <https://doi.org/10.1128/JCM.03239-14>

- León, C., Álvarez-Lerma, F., Ruiz-Santana, S., León, M. Á., Nolla, J., Jordá, R., Saavedra, P., & Palomar, M. (2009). Fungal colonization and/or infection in non-neutropenic critically ill patients: Results of the EPCAN observational study. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 28(3), 233–242. <https://doi.org/10.1007/s10096-008-0618-z>
- León, C., Ostrosky-Zeichner, L., Schuster, M., Ostrosky-Zeichner, L., & Schuster, M. (2014). *What's new in the clinical and diagnostic management of invasive candidiasis in critically ill patients*. <https://doi.org/10.1007/s00134-014-3281-0>
- León, C., Ruiz-Santana, S., Saavedra, P., Almirante, B., Nolla-Salas, J., Álvarez-Lerma, F., Garnacho-Montero, J., & León, M. Á. (2006). A bedside scoring system (“Candida score”) for early antifungal treatment in nonneutropenic critically ill patients with Candida colonization. *Critical Care Medicine*, 34(3), 730–737. <https://doi.org/10.1097/01.CCM.0000202208.37364.7D>
- Li, Z., Jiang, C., Dong, D., Zhang, L., Tian, Y., Ni, Q., Mao, E., & Peng, Y. (2016). The Correlation Between Candida Colonization of Distinct Body Sites and Invasive Candidiasis in Emergency Intensive Care Units: Statistical and Molecular Biological Analysis. *Mycopathologia*, 181(7–8), 475–484. <https://doi.org/10.1007/s11046-016-9991-9>
- Liew, Y. X., Teo, J., Too, I. A. L., Ngan, C. C. L., Tan, A. L., Chlebicki, M. P., Kwa, A. L. H., & Lee, W. (2015). Candida Surveillance in Surgical Intensive Care Unit (SICU) in a Tertiary Institution. *BMC Infectious Diseases*, 15(1), 1–8. <https://doi.org/10.1186/s12879-015-0997-6>

- Logan, C., Martin-Loeches, I., & Bicanic, T. (2020). Invasive candidiasis in critical care: challenges and future directions. *Intensive Care Medicine*, 46(11), 2001–2014. <https://doi.org/10.1007/s00134-020-06240-x>
- Lopes, J. P., & Lionakis, M. S. (2022). Pathogenesis and virulence of *Candida albicans*. *Virulence*, 13(1), 89–121. <https://doi.org/10.1080/21505594.2021.2019950>
- Magalhães, Y. C., Rosa, M., Bomfim, Q., Melônio, L. C., Ribeiro, P. C. S., Cosme, L. M., Rhoden, C. R., & Marques, S. G. (2015). *Clinical significance of the isolation of Candida species from hospitalized patients*. <https://doi.org/10.1590/S1517-838246120120296>
- Malani, A. N., Psarros, G., Malani, P. N., & Kauffman, C. A. (2011). Is age a risk factor for *Candida glabrata* colonisation? *Mycoses*, 54(6), 531–537. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0507.2010.01941.x>
- Maldonado, N., Robledo, C., & Robledo, J. (2018). La espectrometría de masas MALDI-TOF en el laboratorio de microbiología clínica. *Infectio*, 22(1), 35–45. <https://doi.org/10.22354/in.v0i0.703>
- Marina Oviaño García, Sánchez, B. R., Pérez, J. de D. C., & Bellido4, J. L. M. (2019). *Aplicaciones de la espectrometría de masas MALDI-TOF en Microbiología Clínica* (E. C. Mansilla & R. C. Moreno, Eds.; Sociedad E, p. 72).
- Marklein, G., Josten, M., Klanke, U., Müller, E., Horré, R., Maier, T., Wenzel, T., Kostrzewa, M., Bierbaum, G., Hoerauf, A., & Sahl, H. G. (2009). Matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry for fast and reliable identification of clinical yeast isolates. *Journal of Clinical Microbiology*, 47(9), 2912–2917. <https://doi.org/10.1128/JCM.00389-09>
- Méndez-Fandiño, Y. R., Caicedo-Ochoa, E. Y., Urrutia-Gómez, J. A., Rodríguez-Palacios, J. M., Rodríguez-Puerto, N. E., Becerra, D. F., Rojas, M. Y., & Cala-Pulido, Á. E. (2017). Influencia

de la colonización de vía aérea por *Candida* spp. en pacientes con EPOC en una UCI de Colombia, entre 2010-2015. *Revista Cuarzo - Fundación Universitaria Juan N. Corpas*, 23(1), 1–9.

Merck Millipore. (n.d.). *SABOURAUD 2 % Dextrose Agar* (pp. 0–2).
https://www.merckmillipore.com/INTERSHOP/web/WFS/Merck-DE-Site/de_DE/-/EUR/ShowDocument-Pronet?id=18513

Motoa, G., Muñoz, J. S., Oñate, J., Pallares, C. J., Hernández, C., & Villegas, M. V. (2017). Epidemiología de aislamientos de *Candida* en unidades de cuidados intensivos en Colombia durante el período 2010–2013. *Revista Iberoamericana de Micología*, 34(1), 17–22.
<https://doi.org/10.1016/j.riam.2016.02.006>

Nascimento, T., Guerreiro, D., & Toscano, C. (2024). *Insights into Candida Colonization in Intensive Care Unit Patients : A Prospective Multicenter Study*.

National Commission for the Protection of Human Subjects of Biomedical and Behavioral Research. (1979). *The Belmont report: Ethical principles and guidelines for the protection of human subjects of research*. <https://doi.org/10.1021/bi00780a005>

Negri, M., Silva, S., Henriques, M., Azeredo, J., Svidzinski, T., & Oliveira, R. (2011). *Candida tropicalis* biofilms: Artificial urine, urinary catheters and flow model. *Medical Mycology*, 49(7), 739–747. <https://doi.org/10.3109/13693786.2011.560619>

Nilsson, R. H., Tedersoo, L., Ryberg, M., Kristiansson, E., Hartmann, M., Unterseher, M., Porter, T. M., Bengtsson-Palme, J., Walker, D. M., De Sousa, F., Gamper, H. A., Larsson, E., Larsson, K. H., Kõljalg, U., Edgar, R. C., & Abarenkov, K. (2015). A comprehensive, automatically updated fungal ITS sequence dataset for reference-based chimera control in

environmental sequencing efforts. *Microbes and Environments*, 30(2), 145–150. <https://doi.org/10.1264/jsme2.ME14121>

- Nucci, M., Queiroz-Telles, F., Alvarado-Matute, T., Tiraboschi, I. N., Cortes, J., Zurita, J., Guzman-Blanco, M., Santolaya, M. E., Thompson, L., Sifuentes-Osornio, J., Echevarria, J. I., & Colombo, A. L. (2013). Epidemiology of Candidemia in Latin America: A Laboratory-Based Survey. *PLoS ONE*, 8(3). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0059373>
- Oñate, J. M., Rivas, P., Pallares, C., Saavedra, C. H., Martínez, E., Coronell, W., López, E., Berrio, I., Álvarez-Moreno, C. A., Roncancio, G. E., Segura, J., Vélez, J. D., Cortes, J. A., Parra-Giraldo, C. M., Álvarez, J. E., Romero, A. F., Zuluaga, I., & Camacho, G. (2019). Colombian consensus on the diagnosis, treatment, and prevention of *Candida* spp. disease in children and adults. *Infectio*, 23(3), 271–304. <https://doi.org/10.22354/in.v23i3.792>
- Orozco, P. A., Cortés, J. A., & Parra, C. M. (2009). Colonización por levaduras en recién nacidos y personal de salud en la unidad de cuidados intensivos neonatales de un hospital universitario en Bogotá, Colombia. *Revista Iberoamericana de Micología*, 26(2), 108–111. [https://doi.org/10.1016/S1130-1406\(09\)70020-8](https://doi.org/10.1016/S1130-1406(09)70020-8)
- Ostrosky-Zeichner, L., Sable, C., Sobel, J., Alexander, B. D., Donowitz, G., Kan, V., Kauffman, C. A., Kett, D., Larsen, R. A., Morrison, V., Nucci, M., Pappas, P. G., Bradley, M. E., Major, S., Zimmer, L., Wallace, D., Dismukes, W. E., & Rex, J. H. (2007). Multicenter retrospective development and validation of a clinical prediction rule for nosocomial invasive candidiasis in the intensive care setting. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 26(4), 271–276. <https://doi.org/10.1007/s10096-007-0270-z>

- Pappas, P. G., Lionakis, M. S., Arendrup, M. C., Ostrosky-Zeichner, L., & Kullberg, B. J. (2018). Invasive candidiasis. *Nature Reviews Disease Primers*, 4(May), 1–20. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2018.26>
- Parra-Giraldo, C. M., Valderrama, S. L., Cortes-Fraile, G., Garzón, J. R., Ariza, B. E., Morio, F., Linares-Linares, M. Y., Ceballos-Garzón, A., de la Hoz, A., Hernandez, C., Alvarez-Moreno, C., & Le Pape, P. (2018). First report of sporadic cases of *Candida auris* in Colombia. *International Journal of Infectious Diseases*, 69, 63–67. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2018.01.034>
- Pittet, D., Monod, M., Suter, P. M., Frenk, E., & Auckenthaler, R. (1994). *Candida* colonization and subsequent infections in critically ill surgical patients. *Annals of Surgery*, 220(6), 751. <https://doi.org/10.1097/00000658-199412000-00008>
- Posteraro, B., Efremov, L., Leoncini, E., Amore, R., Posteraro, P., Ricciardi, W., & Sanguinetti, M. (2015). Are the conventional commercial yeast identification methods still helpful in the era of new clinical microbiology diagnostics? A meta-analysis of their accuracy. *Journal of Clinical Microbiology*, 53(8), 2439–2450. <https://doi.org/10.1128/JCM.00802-15>
- Quindós, G. (2014). Epidemiology of candidaemia and invasive candidiasis. A changing face. *Revista Iberoamericana de Micología*, 31(1), 42–48. <https://doi.org/10.1016/j.riam.2013.10.001>
- Remel. (2019). *RapID Yeast Plus System*.
- Riera, F. O., Caeiro, J. P., Angiolini, S. C., Vigezzi, C., Rodriguez, E., Icely, P. A., & Sotomayor, C. E. (2022). Invasive Candidiasis: Update and Current Challenges in the Management of This Mycosis in South America. *Antibiotics*, 11(7), 1–16. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11070877>

- Rodríguez, M. F., Gomez, A. P., Parra-Giraldo, C. M., & Ceballos-Garzon, A. (2023). Proteomics and Genetic Approaches Elucidate the Circulation of Low Variability *Staphylococcus aureus* Strains on Colombian Dairy Farms. *Microbial Ecology*, 86(4), 2320–2329. <https://doi.org/10.1007/s00248-023-02234-6>
- Romo, J. A., & Kumamoto, C. A. (2020). On Commensalism of *Candida*. *Journal of Fungi*, 2–14. <https://doi.org/10.3390/jof6010016>
- Schulte, D. M., Sethi, A., Gangnon, R., Duster, M., Maki, D. G., & Safdar, N. (2015). Risk factors for *Candida* colonization and Co-colonization with multi-drug resistant organisms at admission. *Antimicrobial Resistance and Infection Control*, 4(1), 1–9. <https://doi.org/10.1186/s13756-015-0089-9>
- Singla, N., Gulati, N., Kaistha, N., & Chander, J. (2012). *Candida* Colonization in Urine Samples of ICU Patients: Determination of Etiology, Antifungal Susceptibility Testing and Evaluation of Associated Risk Factors. *Mycopathologia*, 174(2), 149–155. <https://doi.org/10.1007/s11046-011-9514-7>
- Takashima, M., & Sugita, T. (2022). Taxonomy of Pathogenic Yeasts *Candida*, *Cryptococcus*, *Malassezia*, and *Trichosporon*. *Medical Mycology Journal*, 63(4), 119–132. <https://doi.org/10.3314/mmj.22.004>
- Teke, L., Barış, A., & Bayraktar, B. (2021). Comparative evaluation of the Bruker Biotyper and Vitek MS matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) systems for non-albicans *Candida* and uncommon yeast isolates. *Journal of Microbiological Methods*, 185(May). <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2021.106232>
- ThermoFisher Scientific. (n.d.). *Brilliance™ Candida Agar*.

- ThermoFisher Scientific. (2004). *RapID™ Yeast Plus System - REMEL* (Issue 800).
<https://www.thermofisher.com/document-connect/document-connect.html?url=https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets%2FMSG%2Fmanuals%2FIFU8311007.pdf>
- Thomas-Rüddel, D. O., Schlattmann, P., Pletz, M., Kurzai, O., & Bloos, F. (2022). Risk Factors for Invasive Candida Infection in Critically Ill Patients: A Systematic Review and Meta-analysis. *Chest*, *161*(2), 345–355. <https://doi.org/10.1016/j.chest.2021.08.081>
- Truong Sinh Cao Ba Loi Nguyen Thai Ngoc Minh Nguyen Nhu Lam Dinh Xuan Quang Do Quyet Do Ngoc Anh Truong Thi Thu Hien Hoang Xuan Su Le Tran-Anh, C. (2017). Species Distribution and Antifungal Susceptibility Pattern of Candida Recovered from Intensive Care Unit Patients, Vietnam National Hospital of Burn (2017–2019). *Mycopathologia*, *186*.
<https://doi.org/10.1007/s11046-021-00569-7>
- Van Bang, N., Thanh Xuan, N., Xuan Quang, D., Ba Loi, C., Thai Ngoc Minh, N., Nhu Lam, N., Ngoc Anh, D., Thi Thu Hien, T., Xuan Su, H., Tran-Anh, L., Bang, V. N., Xuan, T. N., Quang, X. D., Loi, B. C., Ngoc Minh, T. N., Lam, N. N., Anh, N. D., Thu Hien, T. T., & Su, X. H. (2020). Prevalence, species distribution, and risk factors of fungal colonization and infection in patients at a burn intensive care unit in Vietnam. *Current Medical Mycology*, *2020*(3), 42–49. <https://doi.org/10.18502/cmm.6.3.4664>
- Vu, D., Groenewald, M., Szöke, S., Cardinali, G., Eberhardt, U., Stielow, B., de Vries, M., Verkleij, G. J. M., Crous, P. W., Boekhout, T., & Robert, V. (2016). DNA barcoding analysis of more than 9 000 yeast isolates contributes to quantitative thresholds for yeast species and genera delimitation. *Studies in Mycology*, *85*, 91–105.
<https://doi.org/10.1016/j.simyco.2016.11.007>

- Walsh, T., Hayden, R., & Larone, D. (2018). *Larone's Medically Important Fungi: A Guide to Identification, 6th Edition*. <https://doi.org/10.1128/9781555819880>
- Wang, Y., & Xu, J. (2023). *Lodderomyces elongisporus*: An emerging human fungal pathogen. *PLoS Pathogens*, 19(9 September), 1–9. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1011613>
- World Health Organization. (2022). *WHO fungal priority pathogens list to guide research, development and public health action*. <https://www.who.int/publications/i/item/9789240060241>
- Xia, J., Huang, W., Lu, F., Li, M., & Wang, B. (2022). *Comparative Analysis of Epidemiological and Clinical Characteristics Between Invasive Candida Infection versus Colonization in Critically Ill Patients in a Tertiary Hospital in Anhui, China*. <https://doi.org/10.2147/IDR.S368792>
- Yang, Y. L., Chu, W. L., Lin, C. C., Tsai, S. H., Chang, T. P., & Lo, H. J. (2014). An emerging issue of mixed yeast cultures. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, 47(4), 339–344. <https://doi.org/10.1016/j.jmii.2013.01.001>
- Zuluaga, A., Arango-Bustamante, K., Caceres, D. H., Sánchez-Quitian, Z. A., Velásquez, V., Gómez, B. L., Parra-Giraldo, C. M., Maldonado, N., Cano, L. E., de Bedout, C., & Rivera, R. E. (2018). Concordance analysis between different methodologies used for identification of oral isolates of *Candida* species. *Colombia Medica*, 49(3), 193–200. <https://doi.org/10.25100/cm.v49i3.3774>

Apéndices

Apéndice A.

Consentimiento informado del macroproyecto

Candidiasis en pacientes UCI



Versión

14/7/23

Consentimiento informa

Desarrollo de una estrategia de medicina personalizada para el manejo preventivo, diagnóstico y tratamiento de candidiasis en Unidades de Cuidados Intensivos de adultos en el área metropolitana de Bucaramanga

Código del participante

--	--	--

Un equipo de investigadores de la Universidad Industrial de Santander (UIS), Hospital Universitario de Santander (HUS), y la Universidad Santo Tomás (USTA), está realizando un proyecto para el diagnóstico, seguimiento y tratamiento de Candidiasis en la Unidad de Cuidados Intensivos de centros hospitalarios de Bucaramanga y su área metropolitana. El estudio tiene como objetivo generar un modelo para el diagnóstico y tratamiento oportuno mediante la integración de variables epidemiológicas, clínicas y genéticas en pacientes con candidiasis en Unidad de Cuidados Intensivos. Los resultados obtenidos son importantes porque serán suministrados a las autoridades de salud y a los clínicos para que los utilicen para la evaluación, el seguimiento y el tratamiento de las patologías en estos pacientes.

Para el desarrollo del proyecto se requerirá la toma de muestras de sangre total, suero, orina, piel y mucosas, con el fin de hacer seguimiento al tratamiento específico para el control de la patología y determinar posibles susceptibilidades frente al tratamiento.

En este estudio se incluyen pacientes adultos ingresados en la Unidad de Cuidados Intensivos a los que se les evaluará la presencia de *Candida* por colonización en diferentes áreas del cuerpo o en cultivo de diferentes muestras asociadas con candidiasis o candidemia y a quienes se les suministre tratamiento antifúngico contra el hongo para el control del microorganismo. Teniendo en cuenta la condición del paciente se requiere la autorización de un familiar que permita el acceso a la toma de muestras, a la historia clínica y el seguimiento al paciente.

Para conocer información básica desde el ingreso a la UCI y su estancia en ella, se revisarán las historias clínicas de los pacientes.

*Candidiasis en pacientes UCI***Procedimiento del estudio**

Usted o su familiar será abordado por el médico tratante y demás miembros del personal de salud que están a cargo de la atención clínica y hacen parte de la institución durante su estancia en la UCI. Serán ellos quienes tomarán las muestras biológicas requeridas para este estudio y que han sido antes descritas. En ningún momento se harán procedimientos no aprobados por el personal de la UCI. Los profesionales que tomen las muestras de sangre o de orina las entregarán a un investigador del proyecto a fin de hacer los análisis respectivos.

Las muestras obtenidas serán almacenadas en el Laboratorio 404 del Centro de Estudios e Investigaciones Ambientales (CEIAM), bajo la responsabilidad de la Dra. Clara Inés Sánchez Suárez.

Por medio del presente consentimiento, se solicita su autorización para guardar las muestras para estudios de investigación futuros sobre el desarrollo de la enfermedad causada por este hongo. Así mismo, los aislamientos de hongos que se cultiven de los pacientes se guardarán para futuros estudios relacionados con resistencia antimicrobiana o factores del hongo asociados a mayor gravedad de la enfermedad.

Adicionalmente, a través del presente consentimiento informado se solicita su autorización para acceder y utilizar los datos contenidos en la historia clínica para estudios futuros sobre factores del hongo asociados al desarrollo de candidiasis o candidemia y estudios posteriores relacionados con el desarrollo de la enfermedad causada por este hongo.

Los resultados obtenidos sobre el tipo de hongo y la resistencia a los antifúngicos serán informados al médico tratante y se dejará copia a la historia clínica, con el objetivo de que el médico tratante pueda utilizar la información para direccionar el tratamiento antifúngico. Igualmente, los resultados que se generen producto de análisis adicionales también se suministrarán al médico tratante, el que le indicará el curso de acción médico más adecuado para usted.

Beneficios

Usted (o su familiar) se beneficiarán de conocer el tipo de hongo y si este es resistente o no al tratamiento antibiótico su médico tratante conocerá de primera mano los resultados del estudio y podrá, a partir de ello, cambiar la conducta terapéutica que actualmente está aplicando. Adicionalmente, la información que se obtendrá será de utilidad para conocer más acerca de su enfermedad (o del problema en estudio) y eventualmente podría beneficiar a otras personas con su misma condición.

Riesgos

La participación en este estudio no traerá ningún riesgo adicional al propio del manejo clínico que actualmente usted está recibiendo.

*Candidiasis en pacientes UCI***Costos**

Participar en esta investigación no generará costos adicionales para usted. Todas las pruebas que se realicen serán cubiertas por el proyecto de investigación y corresponden a las que han sido financiadas desde el momento de la aprobación del mismo.

Confidencialidad

La información obtenida se mantendrá en forma confidencial. Es posible que los resultados obtenidos en la investigación sean presentados en revistas científicas y conferencias médicas, sin embargo, su nombre no será conocido. Según lo plasmado en el título II capítulo I artículo 15 de la resolución 8430: Usted o su familiar tendrán "La seguridad que no se identificará al sujeto y que se mantendrá la confidencialidad de la información relacionada con su privacidad".

Voluntariedad

La participación en esta investigación es completamente voluntaria. Usted (o su familiar) tiene el derecho a no aceptar participar o a retirar su consentimiento y retirarse de esta investigación en el momento que lo estime conveniente. Al hacerlo, usted no pierde ningún derecho que le asiste como paciente de esta institución y no se verá afectada la calidad de la atención médica que merece.

Si usted retira su consentimiento y usted los solicita sus muestras serán eliminadas y la información obtenida no será utilizada. Por motivos de seguridad puede ser necesario que analicemos sus datos obtenidos hasta ese momento de su participación. Esto lo haremos asegurando su confidencialidad.

Compensación

Usted no recibirá ningún tipo de compensación económica, le recordamos que su participación es voluntaria.

Preguntas

Si tiene preguntas acerca de esta investigación médica puede contactar o llamar al doctor Agustín Vega Vera, Investigador responsable del estudio, al teléfono 300211479

Al tener alguna duda sobre este estudio, puede preguntarnos en cualquier momento. Puede contactarse con: (Clara Inés Sánchez Suárez, cisanche@uis.edu.co como Investigadora principal).

Para preguntas, aclaraciones o inquietudes acerca de los aspectos éticos de esta investigación puede comunicarse con los dos Comités que han dado aprobación a este protocolo:

Candidiasis en pacientes UCI

1.- Comité de Ética en Investigación Científica UIS (Universidad Industrial de Santander), se puede comunicar al teléfono: 6344000 ext. 3808, o enviar correo electrónico a: comitedetica@uis.edu.co

2.- Comité de Ética en Investigación ESE HUS (Hospital Universitario de Santander), se puede comunicar al teléfono: 6910030 ext. 182., o enviar correo electrónico al: comiteeticaeinvestigacion@hus.gov.co

Declaración y autorizaciones

Marque con una X según sea el caso para cada afirmación:

Se me ha explicado el propósito de esta investigación, los procedimientos, los riesgos, los beneficios y los derechos que me asisten y que me puedo retirar de ella en el momento que lo desee.	Sí	No
Firmo este documento voluntariamente, sin ser forzado a hacerlo.	Sí	No
No estoy renunciando a ningún derecho que me asista.	Sí	No
Se me comunicará toda nueva información relacionada con el estudio que surja durante la investigación y que pueda tener importancia directa para mi condición de salud.	Sí	No
Se me ha informado que tengo el derecho a reevaluar mi participación en esta investigación médica según mi parecer y en cualquier momento que lo desee.	Sí	No
Autorizo a acceder y usar los datos contenidos en mi historia clínica para los propósitos de esta investigación.	Sí	No

Candidiasis en pacientes UCI

Autorizo a que se me tomen muestras de sangre, orina, piel y mucosas para los propósitos de la investigación.	Sí	No
Permito que se almacenen las muestras para estudios futuros relacionados con la enfermedad.	Sí	No
Autorizo acceder y usar los datos contenidos en mi historia clínica para estudios futuros sobre factores del hongo asociados al desarrollo de candidiasis o candidemia y estudios posteriores relacionados con el desarrollo de la enfermedad causada por este hongo.	Sí	No
Conozco que se protegerán mis datos personales y no serán divulgados, según la ley estatutaria 1581 de 2012 (octubre 17) reglamentada parcialmente por el decreto nacional 1377 de 2013 por la cual se dictan disposiciones generales para la protección de datos personales	Sí	No
Al momento de la firma, se me entrega una copia firmada de este documento.	Sí	No

<u>Nombre del participante</u>	<u>Firma de participante/familiar</u>	<u>Fecha</u>
<u>Nombre del testigo</u>	<u>Firma de testigo</u>	<u>Fecha</u>
<u>Nombre del testigo</u>	<u>Firma de testigo</u>	<u>Fecha</u>
<u>Nombre del investigador</u>	<u>Firma de investigador</u>	<u>Fecha</u>

Apéndice B

Tabla de operacionalización de variables

Variable	Definición conceptual	Definición operativa	Naturaleza	Escala de medición	Valores que asume la variable
I. Variables sociodemográficas					
Sexo	Características biológicas y fisiológicas que definen al hombre y a la mujer	Información registrada en la historia clínica del paciente como sexo biológico para caracterizar a la población de estudio	Cualitativa, dicotómica	Nominal	Femenino = 0 Masculino =1
Edad	Tiempo que ha vivido una persona contando desde su nacimiento	Años cumplidos según la fecha de nacimiento registrada en la historia clínica, certificado en el documento de identidad para caracterizar a la población de estudio	Cuantitativa, discreta	Razón	Cualquier número entero
Régimen de salud	Conjunto de normas que rigen la vinculación de los individuos y las familias al Sistema General de Seguridad Social en Salud	Información registrada en la historia clínica del paciente como régimen de salud	Cualitativa, politómica	Nominal	Subsidiado =0 Vinculado/ninguno =1 Contributivo=2 Otro =3
II. Variables Clínicas					

Motivo de ingreso a UCI	Proceso patológico o afección que tras el estudio pertinente y según criterio facultativo, se considera la causa principal o motivo del ingreso	Información registrada en la historia clínica el día de toma de muestra como motivo de ingreso al servicio de Unidad de Cuidados Intensivos	Cualitativa, politómica	Nominal	Posoperatorio=0 Insuficiencia respiratoria=1 Choque=2 Politraumatismo=3 Crisis hipertensiva =4 Sepsis =5 Hemorragia = 6 Falla cardíaca =7 Infección localizada =8 Accidente Cerebrovascular=9 Falla Renal=10 Otras=11
Tiempo de estancia hospitalaria antes de admisión a UCI	Tiempo en el que un paciente utilizó un servicio hospitalario.	Tiempo en días en el que el paciente permaneció en un servicio hospitalario (urgencias, hospitalización) previo al ingreso al servicio de UCI, según revisión de historia clínica	Cuantitativa, continua	Razón	Cualquier número real
APACHE II	Acute Physiology And Chronic Health Evaluation II, Sistema de clasificación de severidad o gravedad de enfermedad, aplicado dentro	Puntuación obtenida a partir del registro en la historia clínica del día de toma de muestra	Cualitativa, politómica	Nominal	0-4 Mortalidad 4%=1 5-9 Mortalidad 8% =2 10-14 Mortalidad 15%=3 15-19 Mortalidad 25%=4

de las 24 horas de admisión del paciente a UCI.

20-24 Mortalidad
40%=5
25-29 Mortalidad
55%=6
30-34 Mortalidad
75%=7
Más 34 Mortalidad
85%=8

Cirugía reciente	Procedimiento quirúrgico que implica realizar incisiones o suturar tejidos para tratar enfermedades, lesiones o deformidades.	Paciente que haya tenido cirugías recientes, considerando tres meses previos al ingreso al servicio de UCI, según revisión de historia clínica	Cualitativa, dicotómica	Nominal	No = 0 Sí = 1
-------------------------	---	--	-------------------------	---------	---------------

Tipos de cirugía	Tipo de procedimiento quirúrgico llevado a cabo en el paciente	Tipos de procedimientos quirúrgicos registrados en la historia clínica	Cualitativa, politómica	Nominal	Laparotomía=0 Angioplastia =1 Craneotomía =2 Desbridamiento=3 Drenaje=4 Trombectomía =5 Toracotomía =6 Otras Cirugías Abdominales=7 Otras cirugías =8
-------------------------	--	--	-------------------------	---------	---

Medicamentos

Consumo de antibióticos	Fármacos o sustancias químicas utilizados para el tratamiento o prevención de infecciones bacterianas.	Paciente al que su historia clínica refiera la administración de una terapia antibiótica un mes previo al ingreso de UCI.	Cualitativa, dicotómica	Nominal	No = 0 Sí = 1
Tipo de Antibiótico administrado	Tipo de fármacos o sustancias química utilizado para el tratamiento o prevención de infecciones bacterianas.	Tipo de antibiótico administrado al paciente, especificado en la historia clínica	Cualitativa, politémica	Nominal	Ampicilina Sulbactam =0 Piperacilina Tazobactam=1 Vancomicina=2 Doxiciclina=3 Cefazolina=4 SXT=5 Meropenem=6 Metronidazol=7 Ciprofloxacino=8 Amikacina=9 Penicilina=10 Ceftriaxona=11 Tto TBC=12 Claritromicina=13 Cefepime=14 Linezolid=15 Ampicilina=16 Rifamixina=17 Cefradina=18 Clindamicina=19

Cantidad de antibióticos administrados	Número de Fármacos utilizados para el tratamiento o prevención de infecciones bacterianas que es administrado al paciente	Número de antibióticos que se le administra al paciente consignado en la historia clínica del día de toma de muestra	Cuantitativa, discreta	Razón	Cualquier número entero
Consumo antifúngico post-ingreso al servicio de UCI	Fármacos o sustancias químicas utilizados para el tratamiento o prevención de infecciones fúngicas.	Paciente al que su historia clínica refiera la administración de una terapia antifúngica posterior al ingreso al servicio de UCI	Cualitativa, dicotómica	Nominal	No = 0 Sí = 1
Antifúngico administrado	Tipo de fármaco utilizado para el tratamiento o prevención de infección fúngica	Tipo de antifúngico administrado al paciente, especificado en la historia clínica	Cualitativa, politómica	Nominal	Clotrimazol =1 Fluconazol =2 Anfotericina B + fluconazol =3
Administración Propofol	Anestésico general intravenoso de corta acción para inducción y mantenimiento de anestesia general en adultos y sedación en pacientes sometidos a respiración asistida artificial en UCI	Paciente al que su historia clínica refiera la administración de Propofol	Cualitativa, dicotómica	Nominal	No = 0 Sí = 1

Terapia inmunosupresora	Tratamiento que disminuye la actividad del sistema inmune del cuerpo, reduciendo la capacidad de combatir infecciones y otras enfermedades como el cáncer. Indicado para trasplante y pacientes con enfermedades autoinmunes y alergias.	Terapia con medicamentos inmunosupresores que se indique e en la historia clínica del paciente el día de la toma de muestra.	Cualitativa, dicotómica	Nominal	No = 0 Sí = 1
Consumo de corticoides	Medicamentos antiinflamatorios que reducen la actividad del sistema inmune	Terapia con medicamentos corticoides que se indique e en la historia clínica del paciente el día de la toma de muestra.	Cualitativa, dicotómica	Nominal	No = 0 Sí = 1
Cantidad de corticoides	Número de medicamentos antiinflamatorios que reducen la actividad del sistema inmune	Número de corticoides que se le administra al paciente consignado en la historia clínica del día de toma de muestra	Cuantitativa, discreta	Razón	Cualquier número entero
Tipo de corticoide	Tipo de medicamento antiinflamatorio que reduce la actividad del sistema inmune	Tipo de corticoides que se le administra al paciente consignado en la historia clínica del día de toma de muestra	Cualitativa, politómica	Nominal	Prednisolona=0 Metilprednisolona=1 Hidrocortisona=2 Beclometasona=3 Dexametasona=4

Prednisona=5

Tipo de nutrición

Nutrición total parenteral	Alimentación a través de una sonda insertada en una vena mediante la cual los nutrientes ingresan a la sangre directamente.	Paciente al que su historia clínica refiera la administración de nutrición total parenteral	Cualitativa, dicotómica	Nominal	No = 0 Sí = 1
Nutrición enteral por sonda	Alimentación a través de una sonda colocada en el estómago o en el intestino delgado.	Paciente al que su historia clínica refiera la administración de nutrición enteral por sonda	Cualitativa, dicotómica	Nominal	No = 0 Sí = 1
Nutrición enteral vía oral	Medida terapéutica de soporte nutricional a través de la cual se introducen los nutrientes directamente en el tubo digestivo cuando la persona tiene alguna dificultad para ingerirlos con normalidad. Tipo de nutrición enteral menos invasivo.	Paciente al que su historia clínica refiera la administración de nutrición enteral por vía oral.	Cualitativa, dicotómica	Nominal	No = 0 Sí = 1

Dispositivos médicos invasivos

Uso de catéter	Conductos delgados de plástico flexible que se introducen en una pequeña aguja o catéter endovenoso (un diminuto tubo flexible) que se coloca dentro de una vena para permitir el acceso al sistema venoso.	Paciente al que en su historia clínica se refiera con uso de vía endovenosa al momento de tomar la muestra	Cualitativa, dicotómica	Nominal	No = 0 Sí = 1
Cantidad de catéter	Cantidad de catéteres que tenga el paciente para permitir el acceso al sistema venoso.	Número de catéteres que utiliza el paciente al momento de la toma de muestra, referidos en la historia clínica	Cuantitativa, discreta	Razón	Cualquier número entero
Tipo de catéter	Dispositivo con forma de tubo insertado en la vena y dirigido hasta una vena de gran tamaño para permitir el acceso al sistema venoso y permitir la administración de terapias intravenosas prolongadas.	Tipo de catéter endovenoso que utiliza el paciente	Cualitativa, politómica	Nominal	CVC =0 CVP=1 Catéter Mahurkar =2 Otro=3

Uso de Sonda vesical	Dispositivo en la vejiga con forma de tubo flexible de látex, poliuretano o silicona a través de la uretra, permitiendo que la orina drene libremente de la vejiga para la recolección.	Paciente al que en su historia clínica se refiera con uso de sonda urinaria al momento de tomar la muestra	Cualitativa, dicotómica	Nominal	No = 0 Sí = 1
Soporte ventilatorio	Apoyo ventilatorio mecánico para ayudar o sustituir la respiración espontánea dado que mejora la función ventilatoria y oxigenación por medio de la aplicación de gas con gran contenido de oxígeno y presión positiva.	Paciente al que en su historia clínica se refiera con soporte ventilatorio	Cualitativa, dicotómica	Nominal	No = 0 Sí = 1
Intubación traqueal	Procedimiento médico en el cual se coloca una sonda en la tráquea a través de la boca o la nariz para permitir la permeabilización y el aislamiento de la vía aérea para administrar oxígeno a alta concentración o	Paciente al que en su historia clínica se refiera con intubación traqueal	Cualitativa, dicotómica	Nominal	No = 0 Sí = 1

la administración de medicamentos vía traqueal.

<p>Traqueostomía</p>	<p>Una traqueostomía es una abertura en frente del cuello que se hace durante un procedimiento de emergencia o una cirugía planeada. Forma una vía respiratoria para las personas que no pueden respirar por sí mismas, que no pueden respirar bien, o que tienen una obstrucción que afecta su respiración</p>	<p>Paciente al que en su historia clínica se refiera con traqueostomía</p>	<p>Cualitativa, dicotómica</p>	<p>Nominal</p>	<p>No = 0 Sí = 1</p>
<p>Hemodiálisis</p>	<p>Terapia de sustitución renal cuya finalidad es suplir parcialmente la función de los riñones, permitiendo disminuir los niveles en sangre de sustancias tóxicas cuando están en exceso y que el riñón sano elimina.</p>	<p>Paciente al que en su historia clínica se refiera en procesos de hemodiálisis durante la estancia UCI</p>	<p>Cualitativa, dicotómica</p>	<p>Nominal</p>	<p>No = 0 Sí = 1</p>

Diálisis peritoneal	Tratamiento para la insuficiencia renal que utiliza el revestimiento del abdomen o vientre del paciente para filtrar la sangre dentro del organismo.	Procedimiento practicado en el paciente que se haya descrito en la historia clínica del día de toma de muestra	Cualitativa, dicotómica	Nominal	No = 0 Sí = 1
----------------------------	--	--	-------------------------	---------	---------------

Morbilidades

Sepsis	Síndrome de anormalidades fisiológicas, patológicas y bioquímicas, potencialmente mortal asociadas a una infección.	Paciente al que su historia clínica refiera la presencia de sepsis durante la estancia en UCI.	Cualitativa, dicotómica	Nominal	No = 0 Sí = 1
---------------	---	--	-------------------------	---------	---------------

Infección bacteriana localizada	Infección causada por bacterias	Paciente que curse con enfermedad infecciosa bacteriana al momento de la toma de muestra	Cualitativa, dicotómica	Nominal	No = 0 Sí = 1
--	---------------------------------	--	-------------------------	---------	---------------

Cáncer	Conjunto de enfermedades relacionadas en las que se observa un proceso descontrolado en la división celular.	Paciente al que su historia clínica refiera padecer cáncer	Cualitativa, dicotómica	Nominal	No = 0 Sí = 1
---------------	--	--	-------------------------	---------	---------------

Tipo de cáncer	Tipo de cáncer diagnosticado en los pacientes	Tipo de cáncer registrado en la historia clínica	Cualitativa, politómica	Nominal	Mama= 1 anal/rectal = 2 Cuello uterino =3 Cuerdas bucales =4
-----------------------	---	--	-------------------------	---------	---

Próstata = 5

Intestinal =6

Diabetes	Enfermedad crónica prolongada en la cual el cuerpo no puede regular la cantidad de azúcar en la sangre	Paciente al que su historia clínica refiera padecer diabetes	Cualitativa, dicotómica	Nominal	No = 0 Sí = 1
Hipertensión arterial	Definida como presión arterial sistólica igual o superior a 140 mmHg o presión arterial diastólica igual o superior a 90 mmHg, es uno de los factores de riesgo más importantes para las enfermedades cardiovasculares y la enfermedad renal crónica.	Trastorno que padece el paciente, mencionado en la historia clínica del día de toma de muestra	Cualitativa, dicotómica	Nominal	No = 0 Sí = 1
Cirrosis hepática	Etapa tardía de la cicatrización (fibrosis) del hígado como consecuencia de diferentes enfermedades crónicas.	Paciente al que su historia clínica refiera padecer cirrosis hepática	Cualitativa, dicotómica	Nominal	No = 0 Sí = 1

Desnutrición	Estado patológico de distintos grados de seriedad y de distintas manifestaciones clínicas, causado por la asimilación deficiente de alimentos ingeridos por el organismo.	Paciente al que en su historia clínica la valoración por nutrición refiera algún grado de desnutrición	Cualitativa, dicotómica	Nominal	No = 0 Sí = 1
Falla renal	Afección en la cual los riñones dejan de funcionar y no pueden eliminar los desperdicios y el agua adicional de la sangre, o mantener en equilibrio las sustancias químicas del cuerpo.	Paciente al que su historia clínica refiera falla renal	Cualitativa, dicotómica	Nominal	No = 0 Sí = 1
Obesidad	Es una enfermedad crónica que se caracteriza por la acumulación excesiva del tejido adiposo en el cuerpo	Paciente al que su historia clínica refiera obesidad	Cualitativa, dicotómica	Nominal	No = 0 Sí = 1

III. Variables relacionadas con la muestra y colonización por *Candida*

Tipo de muestra	Muestra de material biológico usadas para pruebas de laboratorio o para uso en investigación.	Tipo de muestra/sitio anatómico cultivado para evaluación de crecimiento de <i>Candida</i> spp.	Cualitativa, politómica	Nominal	Orina = 1 Hisopado de axila = 2 Hisopado de ingle = 3 Frotis faríngeo = 4 Aspirado traqueal = 5
------------------------	---	---	-------------------------	---------	---

Colonización por <i>Candida</i> spp.	Presencia, crecimiento y multiplicación de un microorganismo en un hospedero sin causar una respuesta inmune específica o infección. Presencia del microorganismo en el hospedero sin causar enfermedad.	Presencia de <i>Candida</i> spp. en muestras no estériles, obteniendo crecimiento en Agar Saboraud Dextrosa por 24 - 48 horas a 35 ± 2°C	Cualitativa, dicotómica	Nominal	No = 0 Sí = 1
---	--	--	-------------------------	---------	---------------

Tipo de colonización	Clasificación según el número de sitios colonizados con <i>Candida</i> spp.	Monofocal: Crecimiento en una única muestra del total de muestras cultivadas Multifocal: Crecimiento en dos o más muestras del total de muestras cultivadas.	Cualitativa, dicotómica	Nominal	Monofocal = 0 Multifocal = 1
-----------------------------	---	---	-------------------------	---------	---------------------------------

Número de sitios cultivados con crecimiento de <i>Candida</i> spp.	Cantidad total de muestras con cultivos positivos para <i>Candida</i> spp.	Cantidad total de muestras con crecimiento de <i>Candida</i> spp. en Agar Saboraud Dextrosa y Agar Chromagar por 24 - 48 horas a $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$	Cuantitativa, discreta	Razón	Cualquier número entero
Índice de colonización (IC) según Pittet	Proporción del número de sitios diferentes a sangre colonizados por <i>Candida</i> spp. respecto al total de muestras cultivadas, en pacientes con estancia en UCI de 7 días	Proporción calculada a partir de los sitios con colonización por <i>Candida</i> spp. respecto al total de muestras cultivadas en los pacientes con segunda toma de muestra (7 días de estancia en UCI)	Cuantitativa, continua	Razón	Cualquier número real

IV. Variables microbiológicas

Prueba del tubo germinal	Es una prueba para la identificación presuntiva del complejo <i>Candida albicans</i> . Determina la extensión filamentosa de la levadura, sin estrechamiento en su origen cuyo ancho suele ser la mitad de la célula progenitora y su longitud tres o cuatro veces	Observación del tubo germinal posterior a incubar por 2 horas a 35°C una colonia de la levadura a estudiar inmersa en suero humano.	Cualitativa, dicotómica	Nominal	Negativo = 0 Positivo = 1
---------------------------------	--	---	-------------------------	---------	------------------------------

mayor que la célula madre.

<p>Prueba del agar tabaco</p>	<p>Prueba para la diferenciación presuntiva de <i>Candida albicans</i> y <i>Candida dubliniensis</i></p>	<p>Observación de la macro morfología y micro morfología de las colonias crecidas en Agar tabaco a las 24-48 horas con incubación a 28-30°C</p>	<p>Cualitativa, dicotómica</p>	<p>Nominal</p>	<p>Negativo=0 Positivo=1</p>
<p>Color de la colonia en CHROMagar Candida™</p>	<p>Desarrollo del color característico de las colonias en CHROMagar Candida</p>	<p>Identificación presuntiva de ciertas especies de <i>Candida</i> spp. a partir del color característico de la colonia desarrollado en medio cromogénico.</p>	<p>Cualitativa, politómica</p>	<p>Nominal</p>	<p>Verde = 0 Morado = 1 Azul = 2 Rosado = 3 Otro = 4</p>
<p>Especie de <i>Candida</i> identificada por Bioquímica Rapid ID Yeast plus Remel</p>	<p>Identificación de la levadura en términos de especie aislada a partir de muestras de colonización utilizando un micrométodo cualitativo que emplea sustratos cromogénicos y convencionales para la identificación de levaduras de importancia clínica</p>	<p>Identificación a nivel de especie obtenida a partir de la puntuación individual obtenida para el aislamiento y comparado con la base de datos RapID Yeast Plus.</p>	<p>Cualitativa, politómica</p>	<p>Nominal</p>	<p>Especies de <i>Candida</i> detectadas según el kit No identifica</p>

<p>Especie de <i>Candida</i> identificada por MALDI-TOF</p>	<p>Identificación de la levadura en términos de especie aislada a partir de muestras de colonización utilizando un método basado en espectrometría de masas MALDI-TOF</p>	<p>Identificación obtenida a nivel de especie a partir de la comparación del espectro de la muestra con una base de datos de referencia MBT Compass Library BDAL, con un score mayor o igual a 2.</p>	<p>Cualitativa, politómica</p>	<p>Nominal</p>	<p>Especies de <i>Candida</i> detectadas según la base de datos del software MBT Compass V. 4.1.100 No identifica</p>
<p>Especie de <i>Candida</i> identificada por secuenciación de ITS</p>	<p>Identificación de la levadura en términos de especie basada en el análisis de la región ITS.</p>	<p>Resultado de la identificación molecular a partir de la amplificación de la región espaciadora interna del RNA ribosomal ITS 1 e ITS 2, secuenciando y comparando con secuencias de referencia de las bases de datos GenBank y CBS-KNAW</p>	<p>Cualitativa, politómica</p>	<p>Nominal</p>	<p>No Aplica = 0; Especies de <i>Candida</i> detectadas según análisis de secuenciación</p>

Apéndice D

Instrumento de recolección de datos microbiológicos

Registro de resultados de Microbiología - Proyecto Candida							Toma de muestra inicial					
Código pte.	Fecha de captación	Tipos de muestra	Fecha de toma	Colonización por <i>Candida</i> spp.	Aislamientos	Criopreservado	Identificación presuntiva			Identificación definitiva		
							Crecimiento en Chromagar (Color)	Agar tabaco	Tubo Germinal	RapID Yeast	MALDI-TOF (Score)	Secuenciación ITS
1		1. Orina por sonda		0		0						
						0						
		2. Hisopado axila		0		0						
						0						
		3. Hisopado ingle		0		0						
						0						
		4. Frotis faringeo		0		0						
						0						
		5. Aspirado traqueal		0		0						
				0		0						
		Total sitios colonizados:		0		0						
		Índice de colonización Pittet:		0		0						
2		1. Orina micción espontánea		0		0						
						0						
		2. Hisopado axila		0		0						
						0						
		3. Hisopado ingle		0		0						
						0						
		4. Frotis faringeo		0		0						
						0						
		5. Aspirado traqueal		0		0						
				0		0						
		Total sitios colonizados:		0		0						
		Índice de colonización Pittet:		0		0						

Apéndice E

Agar Sabouraud 2%. (SDA-Merck) (SDA 2%)

Ingredientes	Gramos/litro
Peptona especial	10
D (+) Glucosa	20
Agar	17

pH final 5.6 ± 0.2 a 25°C

Tomado de: (Merck Millipore, n.d.)

Disolver 47 gramos de agar Sabouraud al 2% en 1 litro de agua destilada. Adicionar 50 mg de clorafenicol. Calentar para homogenizar la mezcla. Esterilizar en autoclave a 121°C por 15 minutos. Dejar enfriar y servir en placas de Petri estériles.

Realizar control de calidad de esterilidad incubando un medio de cultivo a 37°C por 24 horas y, control de calidad de crecimiento utilizando cepas ATCC.

Apéndice F**CHROMagar™ Candida**

Ingredientes	Gramos/litro
Agar	15,0
Peptona	10,2
Cloranfenicol	0,5
Mezcla cromogénica	22,0
pH final 6.1 ± 0.2 a 25°C	

Tomado de: (CHROMagar, n.d.)

Autoclavar el volumen necesario de agua destilada para la preparación del CHROMagar™ Candida, dado que no se puede autoclavar el medio de cultivo. Autoclavar un vaso de precipitado y una bala magnética. Pesar 47,7 gramos por litro de agua destilada estéril y en cabina de seguridad biológica suspender el polvo en el agua destilada estéril y calentar hasta ebullición (100°C) agitando o removiendo regularmente. No calentar a más de 100°C. Dejar enfriar y servir el medio en cajas de Petri estériles. Almacenar en la oscuridad.

Realizar control de calidad de esterilidad incubando un medio de cultivo a 37°C por 24 horas y, control de calidad de crecimiento utilizando cepas ATCC.

Apéndice G.

Procedimiento para el montaje del panel RapID Yeast Plus (ThermoFisher Scientific, 2004).

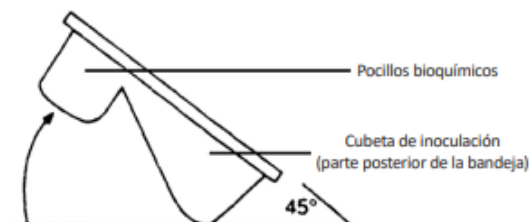
A partir de un cultivo puro de la levadura de 48 horas de incubación a 30°C, realizar una suspensión concentrada del microorganismo con palito de madera estéril en el fluido de inoculación del RapID (2 mL) hasta alcanzar una turbidez que oculte por completo las líneas negras de la tarjeta guía de inoculación. Realizar vórtex para homogenizar el inóculo.

Nota: Las suspensiones significativamente menos turbias pueden alterar las reacciones de la prueba. Sin embargo, las suspensiones ligeramente más turbias no afectan el desempeño de la prueba.

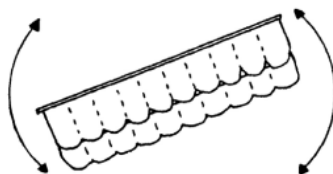
Despegar la tapa del panel sobre el sitio de inoculación retirando la pestaña “Peel to Inoculate” hacia arriba y hacia la izquierda.

Con ayuda de una pipeta estéril, transferir con cuidado todo el líquido de inoculación hacia la esquina superior derecha del panel. Sellar la pestaña de inoculación.

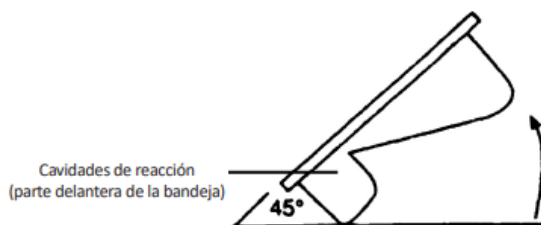
Luego de añadir el líquido de inoculación y manteniendo el panel sobre una superficie nivelada, inclinar el panel hacia atrás alejándose de los pocillos de reacción en un ángulo aproximado de 45° como se muestra a continuación:



Mientras está inclinado el panel hacia atrás, balancear suavemente el panel de lado a lado para distribuir uniformemente el inóculo a lo largos de los carriles, como se muestra a continuación:



Manteniendo una posición horizontal y nivelada, inclinar lentamente el panel hacia adelante donde se ubican los pocillos de reacción, hasta que el inóculo fluya hacia cada pocillo, los cuáles deben llenarse uniformemente y no presentar burbujas. Dar ligeros golpes para eliminar burbujas.



Colocar el panel en posición nivelada e incubar los paneles inoculados a 30°C por 4 horas.

Después de las 4 horas de incubación de los paneles inoculados, proceder a la lectura así:

Añadir 1 gota del reactivo RapID Yeast Plus A a los pocillos del 7 (NAGA) al 14 (PCHO).

Leer inmediato.

Añadir 1 gota del reactivo RapID Yeast Plus B a los pocillos del 16 (PRO) al 18 (LGY).

Esperar 30 segundos para iniciar la lectura. No realizar lectura después de transcurrido 1 minuto.

Leer y puntuar los pocillos de prueba de izquierda a derecha con la guía de colores e interpretación para determinar reacciones positivas o negativas (Tabla 16). Anotar las puntuaciones en el formulario de resultados (Figura 8).

Tabla 16


Interpretación de las pruebas del sistema Rapid Yeast Plus:

N.º de cavidad	Código de la prueba	Reactivo	Reacción		Comentarios
			Positiva	Negativa	
1	GLU	No hay	Amarillo	Azul, verde/ azul o verde	Solamente se debe clasificar como positivo si se desarrolla un color amarillo distintivo.
2	MAL				
3	SUC				
4	TRE				
5	RAF				
6	LIP	No hay	Amarillo	Rojo, rosa, naranja o dorado	Solamente se debe clasificar como positivo si se desarrolla un color limón/amarillo distintivo.
7	NAGA				
8	αGLU	Reactivo Rapid Yeast Plus A	Amarillo	Transparente o botón crema	Cualquier desarrollo de tono de color amarillo debe clasificarse como positivo.
9	βGLU				
10	ONPG				
11	αGAL				
12	βFUC				
13	PHS				
14	PCHO				
15	URE	No hay	Rojo o rojo oscuro/ naranja	Amarillo, amarillo/ naranja o naranja	Solamente se debe clasificar como positivo si se desarrolla un color rojo o rojo oscuro/ naranja. Otros tonos naranja deben clasificarse como negativo.
16	PRO				
17	HIST	Reactivo Rapid Yeast Plus B	Morado, rojo o rosa oscuro	Transparente, pajizo, naranja o rosa de pálido a medio	Solamente se debe clasificar como positivo si se desarrolla un color distintivo morado, rojo o rosa oscuro. Los tonos pálidos deben clasificarse como negativo.
18	LGY				

*NOTA: Los paneles deben leerse mirando hacia abajo a través de las cavidades de reacción sobre un fondo blanco.

Figura 8

Formato de registro de resultados del sistema Rapid Yeast Plus:



Rapid™ Yeast Plus

Report Form

Reference # / No. de référence / Referência-Nr. / Riferimento N. / Nº de referencia _____


Date / Date / Datum / Data / Fecha _____

Tech / Tech / Techn. / Tech / Tec _____

Source / Source / Quelle / Origine / Origen _____

Reagent / Réactif / Reagent / Reagente / Reactivo	None / Aucun / Keine / Nessuno / Ninguno				Rapid Yeast Plus Reagent A / Réactif A Rapid Yeast Plus / Rap/Yeast Plus Reagents A / Rapid Yeast Plus Reagent A / Reactivo RapD Yeast Plus A				None / Aucun / Keine / Nessuno / Ninguno				Rapid Yeast Plus Reagent B / Réactif B Rapid Yeast Plus / RapD Yeast Plus Reagents B / Rapid Yeast Plus Reagent B / Reactivo RapD Yeast Plus B					
Positive Reactions / Réactions positives / Positive Reaktionen / Reazioni positive / Reacciones positivas	Yellow / Jaune / Gelb / Giallo / Amarillo				Yellow / Jaune / Gelb / Giallo / Amarillo				Red or Dark red-orange / Rouge ou rouge orange foncé / Rot oder dunkles Rotorange / Rosso o rosso-arancione scuro / Rojo o rojo-naranja oscuro				Purple, red, or dark pink / Violeté, rouge ou rose foncé / Purpur, rot oder dunkelrosa / Porpora, rosso o rosa scuro / Morado, rojo o rosa oscuro					
Cavity # / No. cavité / Kammer-Nr. / Cavità N. / Nº de cavidad	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
Test Code / Code du test / Testcode / Codice esame / Código de prueba	GLU	MAL	SUC	TRE	RAF	LIP	NAGA	αGLU	βGLU	ONPG	αGAL	βFUC	PHS	PCHO	URE	PRO	HIST	LGY
Value / Valeur / Wert / Valore / Valor	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4
Result / Résultat / Ergebnis / Risultato / Resultado																		
Value Total / Total des valeurs / Gesamtwert / Valore totale / Valor total																		

IDENTIFICATION / IDENTIFICATION / IDENTIFIKATION / IDENTIFICAZIONE / IDENTIFICACIÓN _____



Microcode _____

REMED Inc 800-255-6730 Printed in USA 9103

Consultar el microcódigo obtenido en el formulario de resultados en la base de datos ERIC (<http://www.remel.com/eric/>) para ver la identificación.

Apéndice H

Agar tabaco (Girish Kumar & Menon, 2005)

Ingredientes	Gramos/litro
Hojas de tabaco secas	50
Agar- agar	20
pH final 6 ± 0.2	

Pesar 50 gramos de hoja de tabaco secas previamente autoclavados a 121°C por 15 minutos. Hervir en 1 litro de agua destilada por 30 minutos. Obtener el extracto de las hojas filtrando con gaza y dejar enfriar. Reajustar el volumen del medio a 1 litro y añadir 20 gramos de agar -agar. Autoclavar a 121°C por 15 minutos y dispensar en cajas de Petri estériles.

Figura 9

Crecimiento en agar tabaco de C. albicans ATCC 14053 (izquierda) y C. dubliniensis NCPF ATCC 3949 (derecha)

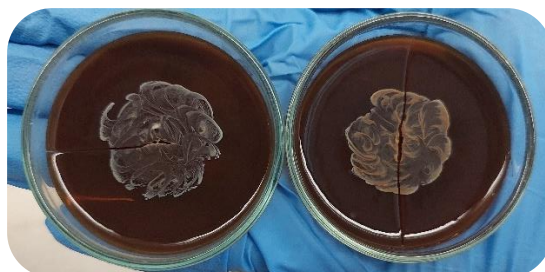
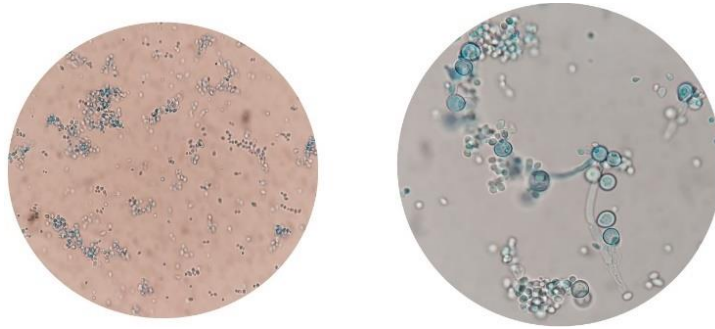


Figura 10

Observación del agar tabaco a 40x con azul de lactofenol: Ausencia de clamidoconidas (izquierda) y presencia de clamidoconidias (derecha)



Apéndice I

Extracción total de proteínas y montaje para identificar por MALDI-TOF

Rotular los eppendorf de 1.5 mL donde se realizará la extracción de cada levadura.

Transferir 300 μ L de agua destilada estéril a cada eppendorf de 1.5 mL.

Utilizando palillos limpios, transferir de 4 a 5 colonias de un cultivo puro al eppendorf con agua destilada y mezclar con el vórtex para suspender la colonia de la levadura.

Adicionar 900 μ L de etanol al 100% y resuspender con micropipeta.

Homogenizar la muestra con ayuda de Vórtex

Centrifugar los eppendorf a 13.000 rpm por 2 minutos.

Descartar el sobrenadante por gravedad.

Centrifugar los eppendorf a 13.000 rpm por 2 minutos.

Descartar el sobrenadante con ayuda de micropipeta (Sin tocar el pellet)

Dejar secar al aire a temperatura ambiente por al menos 5 minutos.

Adicionar 25 μ L de ácido fórmico al 70% directo al pellet y pipetear la solución varias veces hasta que se resuspenda.

Adicionar 30 μ L de acetonitrilo al 100%. Mezclar con la pipeta dos o tres veces.

Centrifugar los eppendorf a 13.000 rpm por 2 minutos.

Transferir 1.0 μ L del sobrenadante* a la placa del MALDI por duplicado.

Dejar secar a temperatura ambiente

Depositar 1.0 μ L de BTS en un pocillo de la placa MALDI para calibrar la corrida.

Dejar secar a temperatura ambiente

Cubrir las muestras extraídas y el BTS con 1.0 μ L de matriz HCCA (10 mg/ml). Cambiar la punta de la micropipeta si se toca el pocillo de la placa para evitar contaminación.

Dejar secar

Cargar la placa MALDI en el espectrómetro de masas y leer.

* El extracto correspondiente al sobrenadante puede conservarse hasta por 5 días a -20°C para realizar el montaje. Para esto, transferir el sobrenadante a eppendorf estériles de 1.5 mL.

Apéndice J

Preparación y montaje del Bacterial Test Standard (BTS – Bruker Daltonik)

El BTS contiene un extracto de alfa DH5 de *Escherichia coli* que representa un perfil peptídico y de proteínas característico de los espectros de masas al analizarse con los sistemas de MALDI Biotyper (Biotyper & Systems, 2015).

Llevar el BTS a temperatura ambiente durante 5 minutos mínimo antes de reconstituirlo.

Agregar 50 μL de solvente orgánico (47,5% H₂O; 2,5% Ácido trifluoroacético al 100%; 50% Acetonitrilo) al frasco con el liofilizado del BTS y disolver pipeteando mínimo 20 veces.

Incubar la solución de BTS por 5 a 10 minutos a temperatura ambiente y pipetear mínimo 20 veces para mezclarlo.

Centrifugar por 10 segundos a 13000 rpm y a temperatura ambiente.

Alícuotar de a 5 μL de BTS en eppendorf de 0.5 mL. Almacenar a -20°C.

Para el montaje del BTS en la placa:

Depositar 1 μL de BTS en un pocillo de la placa y dejar secar.

Cubrir con 1 μL de HCCA (10 mg/mL) y dejar secar.

Montar las muestras y medir en el espectrofotómetro de masas.

Apéndice K

Protocolo de extracción de ADN utilizando el kit MagMax™ Viral Pathogen Nucleic Acid Isolation Kit

Tomado de: (Applied Biosystems - ThermoFisher Scientific) (AppliedBiosystems, 2020).

Precalear la placa de calentamiento a 65° antes de iniciar con la extracción.

Preparar el volumen de etanol 80% necesario para el número de muestras a procesar (Incluir 1 control negativo y 2 adicionales por error pipeteo. Se requiere 750 µL de etanol 80% por muestra).

Preparar la mezcla de perlas magnéticas (Binding Bead Mix): Dar vórtex a las perlas magnéticas (Total Nucleic Acid Magnetic Beads) para asegurar que queden homogéneas y preparar la mezcla según el número de muestras a procesar (Incluir 1 control negativo y 2 adicionales por error pipeteo). Por muestra se requiere:

Componente	Volumen por muestra
Binding solution	265 µL
Total Nucleic Acid Magnetic	10 µL
Beads	
Volumen total	275 µL

Mezclar por inversión y mantener a temperatura ambiente.

Añadir 5 µL de proteinasa K a cada eppendorf con 200 µL de muestra y al eppendorf de control negativo.

Añadir 200 µL de agua libre de nucleasas tipo I al eppendorf control negativo.

Invertir la mezcla de perlas magnéticas (Binding Bead Mix) 5 veces para homogeneizar y añadir 275 µL a cada muestra y control negativo.

Agitar en vórtex la gradilla con las muestras por 2 minutos a 1.050 rpm.

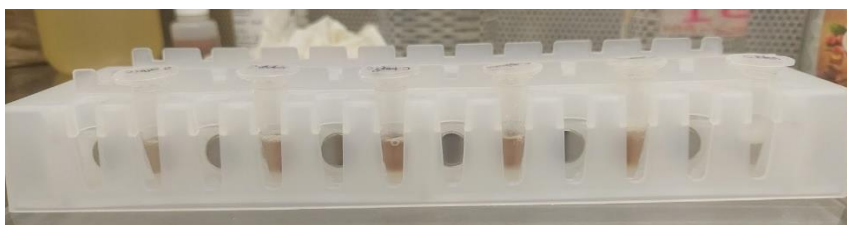
Incubar en la placa a 65°C por 5 minutos.

Agitar en vórtex la gradilla con las muestras por 5 minutos a 1.050 rpm.

Colocar las muestras en la gradilla magnética por 10 minutos o hasta que las perlas se recolecten.

Figura 11

Muestras en gradilla magnética para recolección de las perlas magnéticas.



Abrir cuidadosamente los eppendorf colocados en la gradilla magnética y descartar el sobrenadante de cada uno evitando mover las perlas.

Quitar los eppendorf de la gradilla magnética, pasarlos a la gradilla plástica y añadir 500 µL de Buffer de lavado a cada muestra y control negativo.

Cerrar los eppendorf y agitar en el vórtex por 1 minuto a 1.050 rpm.

Colocar los eppendorf en gradilla magnética por 2 minutos o hasta que las perlas se hayan recolectado.

Abrir cuidadosamente los eppendorf colocados en la gradilla magnética y descartar el sobrenadante de cada uno evitando mover las perlas.

Quitar los eppendorf de la gradilla magnética, pasarlos a la gradilla plástica y añadir 500 µL de etanol 80% a cada muestra y control negativo.

Cerrar los eppendorf y agitar en el vórtex por 1 minuto a 1.050 rpm.

Colocar los eppendorf en gradilla magnética por 2 minutos o hasta que las perlas se hayan recolectado.

Abrir cuidadosamente los eppendorf colocados en la gradilla magnética y descartar el sobrenadante de cada uno evitando mover las perlas.

Quitar los eppendorf de la gradilla magnética, pasarlos a la gradilla plástica y añadir 250 μ L de etanol 80% a cada muestra y control negativo.

Cerrar los eppendorf y agitar en el vórtex por 1 minuto a 1.050 rpm.

Colocar los eppendorf en gradilla magnética por 2 minutos o hasta que las perlas se hayan recolectado.

Abrir cuidadosamente los eppendorf colocados en la gradilla magnética y descartar el sobrenadante de cada uno evitando mover las perlas

Secar las perlas de las muestras y control negativo agitando en el vortex con la tapa abierta por 2 minutos a 1.050 rpm.

Añadir 50 μ L de solución de elución a cada muestra y control negativo.

Agitar en vórtex a 1.050 rpm por 5 minutos.

Incubar los eppendorf en la placa a 65° por 10 minutos.

Retirar de la placa de calentamiento y colocar en el vórtex a 1.050 rpm por 5 minutos.

Colocar los eppendorf en la gradilla magnética por 3 minutos o hasta que aclare completamente y las perlas se encuentren cerca a los imanes.

Manteniendo los eppendorf en la gradilla magnética, destapar con cuidado y transferir el eluido (sobrenadante) a eppendorf estériles de 1.5 o 0.5 mL.

Guardar los eluidos a -20°C.

Apéndice L

Aval del Comité de ética en investigación CEINCI.



4110

Bucaramanga, 23 de junio de 2023

Estudiante
MARÍA CAROLINA GUTIÉRREZ GALVIS
Maestría en Microbiología
Escuela de Microbiología
Facultad de Salud

Asunto: Aval Comité de Ética proyecto "Caracterización de especies de *Candida* aisladas de pacientes adultos en Unidad de Cuidados Intensivos y sus factores asociados a la colonización".

Cordial Saludo,

El Comité de Ética en Investigación Científica de la Universidad Industrial de Santander (CEINCI) en reunión celebrada bajo la modalidad presencial remota el día 12 de mayo de 2023, según consta en el Acta N° 07 evaluó los ajustes realizados al proyecto del asunto y al respecto conceptúa que, en consideración a que el proyecto cumple con todos los requerimientos del CEINCI-UIS, acuerda por consenso, APROBAR la propuesta de acuerdo con la versión presentada.

Se solicita adoptar los mecanismos necesarios para garantizar la confidencialidad de la información recabada. Todo ello amparado en lo reglamentado en la Ley Estatutaria 1581 de 2012 del Congreso de la República de Colombia, por la cual se dictan disposiciones para la protección de datos personales, Decreto 1377 de 2013 "Por el cual se reglamenta parcialmente la Ley 1581 de 2012", en la Resolución de Rectoría 1227 del 22 de agosto de 2013, sobre el tratamiento de datos personales. Además, recomendamos tener presente los criterios y procedimientos establecidos por la E.S.E. Hospital Universitario de Santander para el acceso a la información y a los participantes. Finalmente, socializar los resultados generados en este proyecto en las instancias correspondientes.

De igual manera, aplicar según corresponda a la investigación, la normatividad del Sistema de Gestión Integral de la Universidad, que está disponible en el enlace: <https://www.uis.edu.co/intranet/calidad/calidad.jsp>, especialmente lo relacionado con el Manual de Gestión Integrado.

En caso de presentarse cualquiera de las siguientes circunstancias, solicitamos lo informe al correo comitedetica@uis.edu.co:

- Reporte de mala práctica científica por parte de cualquier miembro del equipo investigador.
- Notificación previa de las modificaciones realizadas al protocolo, las cuales deben ir aprobadas, mediante acta, por su Maestría.
- Reporte de cualquier eventualidad que usted considera deba conocer el CEINCI-UIS.

VICERRECTORÍA DE INVESTIGACIÓN Y EXTENSIÓN
COMITÉ DE ÉTICA EN INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA

Centro, Carrera 19 - calle 35 - 02, Piso 2.
PBX: (607) 6344000 Ext. 3808, Bucaramanga, Colombia.
E-mail: comitedetica@uis.edu.co <http://www.uis.edu.co>



4110

- Informe de avance sobre los aspectos éticos según guía e instructivo anexo. Este informe debe enviarse a la mitad del desarrollo de la investigación y al finalizar la misma según el cronograma establecido en el Formato FIN 65.
- El informe debe ser enviado al correo: ceinci.seguimientos@uis.edu.co

Finalmente, nos permitimos señalar que, durante el proceso de seguimiento que realiza el CEINCI se verificará el cumplimiento de las consideraciones éticas.

En nombre del CEINCI-UIS le ofrecemos el apoyo que usted considere necesario, para la aplicación y salvaguarda de los asuntos éticos durante la investigación.

Atentamente,

JOSE LUIS OSMA RUEDA
Presidente

LUZ EUGENIA IBANEZ ALFONSO
Secretaria

Copia: Profesora Clara Inés Sánchez Suárez (Escuela de Microbiología), directora del proyecto de investigación.

Profesora Yeny Zulay Castellanos Domínguez (Universidad Santo Tomás), codirectora.

Profesora Clara Inés Sánchez Suárez, coordinadora de la Maestría en Microbiología.

Archivo Comité de Ética en Investigación Científica.

Tabla de trazabilidad de la propuesta de investigación:

R	Ev	C	Ec	R2	Ev2	C2
30/03/23	14/04/23	P	20/4/23	27/4/23	12/5/23	A

Convenciones de la tabla de trazabilidad:

R: Remisión de documentos o respuesta del investigador.

Ev: Evaluación del CEINCI.

C: Concepto del CEINCI.

Ec: Entrega de carta del CEINCI al investigador.

P: Pendiente.

A: Aprobado.

Elaboró: César Hastamorir.

Revisó y aprobó: Luz Eugenia Ibáñez y José Luis Osma.

VICERRECTORÍA DE INVESTIGACIÓN Y EXTENSIÓN COMITÉ DE ÉTICA EN INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA

Centro, Carrera 19 - calle 35 - 02, Piso 2.
PBX: (607) 6344000 Ext. 3808, Bucaramanga, Colombia.
E-mail: comitedetica@uis.edu.co <http://www.uis.edu.co>