Salud Pública
Ministerio de Salud

Gobierno de Chile

Departamento Laboratorio Biomédico
VRM/JCH/PAR/PAL/srr

ORD. C/Nº 02162 30.12.2014

ANT.: Sin antecedentes.

MAT.: Circular para la vigilancia nacional de laboratorio para *Streptococcus agalactiae* procedente de infecciones invasoras.

SANTIAGO,

DE : SR. ROBERTO BRAVO MÉNDEZ
DIRECTOR (S) INSTITUTO DE SALUD PÚBLICA DE CHILE

A : SEGÚN DISTRIBUCIÓN

Luego de saludar cordialmente, adjunto envío para su conocimiento circular N° 03 para la vigilancia nacional de laboratorio para *Streptococcus agalactiae* procedente de infecciones invasoras. El reglamento sobre notificación de enfermedades transmisibles (Decreto Supremo Nº 158 de 2004 "Declaración Obligatoria de Enfermedades Transmisibles"), establece a *Streptococcus agalactiae* procedente de casos de enfermedad invasora, como agente bajo vigilancia de laboratorio.

Con el fin de dar curso a esta vigilancia, la circular establece las directrices para su ejecución en sus distintos niveles, las que deben ser cumplidas por todos los laboratorios de microbiología públicos y privados del país. Esta vigilancia permitirá la creación de una base de datos para la toma de decisiones en salud pública, la cual incluirá datos demográficos, de confirmación y caracterización microbiológica a través de la determinación de los serotipos capsulares circulantes y la susceptibilidad a los antimicrobianos.

Se solicita a los Servicios de Salud y SEREMIS de Salud distribuir esta circular a sus laboratorios correspondientes.

Saluda atentamente a usted,

MINISTERIO DE SALUD
DIRECTOR
INSTITUTO DE SALUD PÚBLICA DE CHILE

SR. ROBERTO BRAVO MÉNDEZ
DIRECTOR (S)
INSTITUTO DE SALUD PÚBLICA DE CHILE

DISTRIBUCIÓN

- Subsecretaria de Saluda Pública.
- Subsecretaria de Redes.
- Departamento Calidad y seguridad del Paciente MINSAL.
- Departamento epidemiología MINSAL.
- SEREMIS de Salud.
- Servicios de Salud.
- Dirección ISP.
- Departamento Laboratorio Biomédico Nacional y de Referencia ISP.
- Sección Bacteriología ISP.
- Oficina de Partes - Ordinario 10 /2014

Av. Marathon 1.000, Ñuñoa, Santiago
Casilla 48 Correo 21 – Código Postal 7780050
Mesa Central: (56-2) 5755 101
Informaciones: (56-2) 5755 201
www.ispch.cl

4

Instituto de Salud Pública
Ministerio de Salud
Gobierno de Chile

VRM/JCH/PAR/PAL

CIRCULAR N° 03

Santiago, 30 DIC. 2014

INSTRUCCIONES PARA LA VIGILANCIA NACIONAL DE LABORATORIO PARA *Streptococcus agalactiae* PROCEDENTE DE INFECCIONES INVASORAS.

I. ANTECEDENTES

Streptococcus agalactiae es la mayor causa de enfermedad en el periodo perinatal y neonatal(1); la sepsis neonatal por *S. agalactiae*, es un importante problema de salud pública en todo el mundo. Cada año, alrededor de 30.000.000 de recién nacidos se infectan y de ellos, 1 a 2 millones fallecen. La incidencia varía según la región geográfica, siendo mayor en Asia y África (7 a 38 por mil nacidos vivos). En América del Sur y Caribe la cifra es 3,5 a 8,9 por mil nacidos vivos, en Estados Unidos y Australia de 1,5 a 3,5 por mil nacidos vivos (2).

Streptococcus agalactiae es una cocacea Gram (+) dispuesta en cadena que forma parte de la flora normal del tracto gastrointestinal desde donde coloniza la vagina, tracto genitourinario y tracto respiratorio de personas sanas. La colonización del tracto genital puede ser intermitente y es un hecho con particular importancia en las embarazadas, por la posibilidad de transmisión de *S. agalactiae* al recién nacido. Los neonatos adquieren la infección en el útero por transmisión ascendente o durante el paso a través del canal de parto. La enfermedad neonatal, de acuerdo a la edad de inicio en el paciente, se clasifica en: infección temprana y de aparición tardía. La infección temprana se presenta comúnmente dentro de la primera semana de vida y las manifestaciones más comunes son bacteriemia, sepsis, neumonía, y/o meningitis. La infección tardía es aquella que se produce en niños mayores de 1 semana y hasta los 3 meses de edad, presentando con mayor frecuencia bacteriemia (65% de los casos) y meningitis (32%) (1-3-4).

S. agalactiae puede afectar a pacientes adultos (no embarazadas) causando cuadros de sepsis, infecciones de tejidos blandos, osteomielitis, artritis. Este agente también puede producir infecciones focalizadas en personas con condiciones médicas crónicas subyacentes como diabetes mellitus, cáncer de mama y enfermedad hepática(1-3).

Se han descrito 10 serotipos capsulares (Ia, Ib, II, III IV, V, VI, VII, VIII y IX), siendo el serotipo III el que se aísla mayormente en cuadros invasores debido a la gran cantidad de ácido siálico que posee, otorgándole mayor poder de adherencia a los tejidos (1).

---

1. Koneman"s Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology, 6th Ed.2007.
2. Ellis., A. Infecciónes por *Streptococcus agalactiae* . ¿Qué se modifica con la profilaxis materna? [Internet]. 7° Congreso de Infectolog{ia Pediatrica; abril del 2014; Córdoba, Argentina [14 julio 2014]. Disponible en: http://www3.sap.org.ar/descargas/infectologia2014/presentaciones/Ellis_EBHGB.pdf
3. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Group B Strep (GBS) [Internet]. 2013 [14 julio 2014]. Disponible en: http://www.cdc.gov/groupbstrep/index.html
4. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Department of Health and Human Services. Morbidity and Mortality Weekly Report. Prevention of Perinatal Group B Streptococcal Disease. Noviembre 19,2012. Vol 59. N° RR-[Internet]. [23 julio 2014]. Disponible en:http://www.cdc.gov/mmwr/pdf/rr/rr5910.pdf

Existe una distribución heterogénea de los serotipos de acuerdo a la región geográfica analizada, en países de América los serotipos más aislados en muestras clínicas son los serotipos Ia, Ib, II y III, en cambio en países asiáticos como Japón y Tailandia, predominan también los serotipos VI y VIII, los cuales son de baja frecuencia en el resto del mundo (5).

El reglamento sobre notificación de enfermedades transmisibles (Decreto Supremo Nº 158 de 2004 "Declaración Obligatoria de Enfermedades Transmisibles"), establece a *Streptococcus agalactiae* procedente de casos de enfermedad invasora, como agente bajo vigilancia de laboratorio.

Con el fin de dar curso a esta vigilancia, se establecen en la presente circular, las directrices para su ejecución en sus distintos niveles, las que deben ser cumplidas por todos los laboratorios de microbiología públicos y privados del país. Esta vigilancia permite la creación de una base de datos para la toma de decisiones en salud pública, la cual incluye datos demográficos, de confirmación y caracterización microbiológica a través de la determinación de los serotipos capsulares circulantes y la susceptibilidad a los antimicrobianos.

II. OBJETIVO

Establecer las instrucciones técnicas para dar cumplimiento a la vigilancia de laboratorio para *S. agalactiae* de origen invasor, de acuerdo al DECRETO SUPREMO Nº 158 de 2004 "Declaración Obligatoria de Enfermedades Transmisibles".

III. ALCANCE DE LAS INTRUCCIONES

El Decreto Supremo Nº 158 establece que todos los laboratorios asistenciales del país, públicos o privados, deben derivar las cepas aisladas al Instituto de Salud Pública (ISP). La vigilancia se enmarca en el aislamiento de *S. agalactiae* desde cuadros de infección invasora, para lo cual es indispensable que los aislamientos sean obtenidos del cultivo de muestras provenientes de sitios o líquidos estériles (sangre, líquido céfalo raquídeo, líquido pleural, líquido peritoneal, líquido articular, líquido pericárdico), con el objeto de evitar la interferencia de cepas de *S. agalactiae* de carácter colonizante, provenientes de sitios no estériles.

Entre los cuadros invasores descritos destacan:

- Meningitis bacteriana aguda.
- Artritis séptica.
- Neumonía bacteriémica.
- Sepsis fulminante.
- Bacteriemia oculta del lactante febril.

5. Jones N., Bohnsack J., Shinji T., Oliver K., Multilocus Sequence Typing System for Group B Streptococcus. J. Clin. Microbiol. 2003; 41(6):2530–2536.

IV. MÉTODO DE VIGILANCIA

1. Acciones a Nivel Local (Laboratorios de Microbiología)
Los laboratorios de hospitales públicos y privados del país que aíslen cepas de *S. agalactiae* procedentes de enfermedad invasora y cultivados desde sitios o líquidos estériles, deberán enviar estos aislamientos al Laboratorio de Referencia del ISP para su confirmación microbiológica y caracterización (ver ficha técnica de vigilancia de *S. agalactiae* (Anexo 1). Se utilizará el formulario B1 de envío de cepas del ISP dispuesto en página web (www.ispch.cl) en el cual se deben registrar todos los datos solicitados, en especial el **diagnóstico clínico del paciente** lo cual permitirá el adecuado análisis de los resultados de esta vigilancia. Sólo se debe enviar una cepa por paciente.

2. Acciones a Nivel Central (ISP - Laboratorio de Referencia)
En las cepas enviadas por el nivel local, el ISP realizará la confirmación de la identificación microbiológica reportada y efectuará estudios de caracterización que incluyen serotipificación capsular y estudio de susceptibilidad antimicrobiana.

a. Identificación de género y especie:
La confirmación de la identificación bacteriana será realizada por métodos estandarizados y de acuerdo a las recomendaciones del CDC Atlanta. Las metodologías utilizadas incluyen al menos una de las siguientes:

- Reacciones bioquímicas.
- Espectrometría de masa.
- Secuenciación genética.

b. Serotipificación:
La serotipificación capsular será realizada por medio del método de aglutinación en lámina usando antisueros específicos, de acuerdo a protocolos estandarizados por el fabricante del kit comercial; o mediante la Reacción de la Polimerasa en Cadena usando partidores específicos para cada serotipo.

c. Estudio de susceptibilidad antimicrobiana:
El estudio de susceptibilidad se realizará por medio de la técnica de difusión en agar según estándar CLSI (Clinical Laboratory Standards Institute) vigente y recomendaciones de la red RELAVRA y el CDC, incluyendo los antimicrobianos:

- Penicilina.
- Eritromicina.
- Clindamicina .
- Tetraciclina.
- Cefotaxima.
- Vancomicina

El Laboratorio de Referencia puede modificar la selección de antimicrobianos, así como el tamaño de la muestra a estudiar, según recomendaciones internacionales y comportamiento epidemiológico.

V. INFORMES Y COMUNICACIÓN DE RESULTADOS.

1. El Laboratorio de Referencia del ISP informará los resultados de confirmación del caso al laboratorio de microbiología local y al Departamento de Epidemiología del Ministerio de Salud.

2. El Subdepartamento de Vigilancia de Laboratorio del Departamento de Asuntos Científicos del ISP informará los resultados de confirmación del caso a la SEREMI de Salud correspondiente. Además, realizará el envío mensual de la base de datos a Epidemiología del MINSAL.
3. Semestralmente el ISP publicará en su página WEB los resultados consolidados nacionales de la vigilancia de laboratorio de este agente.
4. El ISP informará al Departamento de Epidemiología del Ministerio de Salud, cualquier hallazgo de importancia en salud pública producto de esta vigilancia.

Instituto de Salud Pública
Ministerio de Salud
Gobierno de Chile

ANEXO N° 1

FICHA TÉCNICA VIGILANCIA *Streptococcus agalactiae*
LABORATORIO MICROBIOLOGÍA LOCAL

1. Identificación *Streptococcus agalactiae*[6]:

- Colonias pequeñas blanquecinas, rodeadas de un halo de beta hemólisis en el agar sangre de cordero 5%; también pueden existir cepas no hemolíticas.
- Tinción de Gram: cocaceas gram positivas dispuestas en cadenas o en pares.
- Condiciones de cultivo: Es un agente anaerobio facultativo dependiente de CO_2 (5-7%), es decir, es capnófilo, esta atmósfera favorece su crecimiento en agar sangre de cordero al 5%.
- Catalasa: Negativa
- Latex para grupo B de Lancefield: Positivo
- Test de CAMP: Positivo
- Hidrólisis del Hipurato de Sodio: Positivo
- Otras pruebas disponibles en los equipos de microbiología automatizados o semiautomatizados para la identificación.

2. Estudio de Susceptibilidad a los Antimicrobianos:

Se realiza a partir de un cultivo puro, utilizando los puntos de corte que establece el Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) versión vigente. En los laboratorios de microbiología del país, los métodos más utilizados para el estudio de susceptibilidad a los antimicrobianos son:

a) Método de Difusión en Agar: Se debe estandarizar el inóculo a 0,5 de la escala Mac Farland y realizar el antibiograma por la técnica de difusión en agar, en una placa de agar Mueller Hinton Sangre de Cordero al 5%, incubar a 35°C, en atmósfera 5% CO_2. Para una placa de 100 mm de diámetro, el número máximo de sensidiscos es cuatro. La lectura de todos los sensidiscos se realiza a las 20 - 24 horas de incubación con luz reflejada (tabla 2H M100S24 CLSI 2014 o vigente).

Los Laboratorios deben incluir un test para detectar resistencia inducible a clindamicina; El método de difusión de doble disco (test D), es el recomendado por el CDC, el cual se realiza en una placa de agar Mueller Hinton sangre, usando el mismo inoculo al 0.5 MF, se colocan los discos de clindamicina 2ug y eritromicina 15 ug separados entre sí a una distancia de 12 mm; mediante este test evidenciamos resistencia a eritromicina y si hay o no presencia de resistencia inducible a clindamicina, se observa un "achatamiento" del halo en la clindamicina (test D positivo) [7].

6. **VersalovicJ.**, Manual of Clinical Microbiology, 10th Ed.2011 ASM Press.
7. **Clinical and Laboratory Standards Institute 2014 M100-S24**; Table 3G. Screening for Detection of Inducible Clindamycin Resistance in *Staphylococcus species*, *Streptococcus pneumoniae*, and *Streptococcus* spp. Beta Haemolytic Group.

b) **Método de Dilución:** Se debe utilizar la metodología estándar descrita por CLSI. En caso de utilizar equipos automatizados o semiautomatizados, se deben seguir las instrucciones del fabricante.

c) **Método Epsilometría:** Se debe estandarizar el inóculo a 0,5 de la escala Mac Farland, sembrar este inóculo en tres direcciones cubriendo toda la superficie de una placa de agar Mueller Hinton sangre de cordero en forma homogénea, colocar la tira epsilométrica e incubar a 35°C, en atmósfera 5% CO_2.

3. Control de Calidad Interno

3.1 Control de Calidad del Agar Sangre de Cordero al 5%

a) Control de Esterilidad del Medio.
b) Control de hemolisis con cepa *S. agalactiae* ATCC 13813.

3.2 Control de Calidad del Agar Mueller Hinton Sangre de Cordero al 5%

a) Control de esterilidad del medio.
b) Control de altura del agar: 4 mm
c) Control de la superficie del agar: debe estar húmeda y sin gotas de agua de condensación.
d) Control de pH del medio: 7,2 - 7,4 a temperatura ambiente.

3.3 Control de Calidad del Test de CAMP, Latex grupo B e Hidrólisis del Hipurato

a) Control Positivo con cepa *S. agalactiae* ATCC 13813
b) Control Negativo con cepa *S. pyogenes* ATCC 21547

3.4 Control de Sensidiscos con cepa *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619

Se realiza con una periodicidad semanal.
Alternativamente se puede utilizar la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

4. Control de Calidad Externo

Los laboratorios de microbiología locales deben estar adscritos a un programa de evaluación externa de la calidad (PEEC).

5. Condiciones de Bioseguridad

Los aislamientos de *S. agalactiae* deben manipularse en laboratorios de microbiología que aplique medidas de bioseguridad con nivel de contención 2 (8).

7. Envío de las Cepas al Instituto de Salud Pública

El envío de cepas de *S. agalactiae*, se realizará de preferencia en tubos con medio de transporte Amies Charcoal. El inóculo se debe preparar a partir de un cultivo puro y fresco de 18 a 24 horas de incubación. El contenedor primario (tubo cerrado de forma hermética) debe venir rotulado con el nombre del paciente (nombre y los dos apellidos), RUN del paciente más el número local del aislamiento.

El tubo que constituye el contenedor primario, debe venir al interior de una bolsa plástica transparente bien cerrada, la cual constituye el contenedor secundario, y ésta a su vez al interior de una caja de transporte tipo cooler con cierre hermético, en caso de transporte vía estafeta o al interior de una caja de cartón duro, pluma vit o plástico bien sellada en caso de transporte desde regiones. El último receptáculo constituye el contenedor terciario (9).
Se debe adjuntar el Formulario de envío **B1 "Envío de Cepas Sección Bacteriología",** debidamente completado con la información solicitada, el cual debe venir al interior de un sobre cerrado.

El sobre que contiene el Formulario B1 y la caja que contiene la cepa deben venir rotulados del siguiente modo:

Destinatario	**Instituto de Salud Pública de Chile** **Sección Bacteriología** **Atención: Jefe Sección Bacteriología** **Av. Marathon N° 1000, Ñuñoa,Santiago** **Fonos: 2575 5433 - 257 5 5201**	**UN 3373**
Remitente	**Nombre del profesional que envía la cepa.** **Nombre del Hospital o Clínica** **Dirección** **Ciudad** **Teléfono**	**Conservar a** **Temperatura Ambiente**

(8) Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, CDC, 5° Ed.2009.
(9) Normativa Técnica para el transporte de Sustancias Infecciosas a Nivel Nacional hacia el Instituto de Salud Pública (ISP) 2008.

MINISTERIO DE SALUD
DIRECTOR
INSTITUTO DE SALUD PÚBLICA DE CHILE

ROBERTO BRAVO MÉNDEZ
DIRECTOR(S)
INSTITUTO DE SALUD PÚBLICA DE CHILE