Instituto de Salud Pública
Ministerio de Salud

Gobierno de Chile

PRM/JDT/JCH/VRM

CIRCULAR N° 08/2013.-
Santiago, 09 SET. 2013

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

I. ANTECEDENTES

Las infecciones invasoras producidas por *Sreptococcus pneumoniae* tienen un alto impacto en salud a nivel mundial. De acuerdo con la OMS este agente ocasiona la muerte de 1.6 millones de personas el año y de éstas, 333.000 a 529.000 ocurren en niños menores de 5 años. Por lo anterior estas infecciones constituyen un importante problema y desafío de salud pública, particularmente, en países en desarrollo [1-3].

Streptococcus pneumoniae es un diplococo Gram (+) que se encuentra colonizando el epitelio nasofaríngeo de individuos sanos en un 5 a 10% y causa un variado espectro de infecciones, desde cuadros como otitis media aguda (OMA) y sinusitis a infecciones invasoras como neumonía, meningitis y shock séptico.

Se han descrito más de 90 serotipos capsulares, y alrededor de 20 de ellos son responsables del 80% del total de casos de infecciones invasoras. Diversos reportes muestran una distribución heterogénea de serotipos de acuerdo la región geográfica analizada, teniendo un directo impacto en la formulación de vacunas y su potencial protección a la población de una región o país.

El reglamento sobre notificación de enfermedades transmisibles (DECRETO SUPREMO N° 158 de 2004 "Declaración Obligatoria de Enfermedades Transmisibles"), establece a *Streptococcus pneumoniae* procedente de casos de enfermedad invasora, como agente bajo vigilancia de laboratorio y de resistencia antimicrobiana.

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 de susceptibililidad a los antimicrobianos.

II. OBJETIVO

Establecer las instrucciones técnicas para dar cumplimiento a la vigilancia de laboratorio para *S. pneumoniae* de origen invasor, de acuerdo al DECRETO SUPREMO N° 158 de 2004 "Declaración Obligatoria de Enfermedades Transmisibles".

III. ALCANCE DE LAS INTRUCCIONES

El DECRETO SUPREMO N° 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 cultivo de *S. pneumoniae* 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 entre otros), con el objeto de evitar la interferencia de cepas de *S. pneumoniae* provenientes de colonización.

(1) Estimated Hib and pneumococcal deaths for children under 5 years of age, 2008. http://who.int/immunization_monitoring/burden/Pneumo_hib_estimates/en/index.html
(2) World Health Organization. Weekly epidemiological record. 2012; 14, 87: 129-144.
(3) World Health Organization. Weekly epidemiological record [Internet]. 2007; 82:93-104. Report N° 12. http://www.who.int/wer/2007/wer8212.pdf

Las muestras de secreción de oído medio, incluidas las obtenidas por timpanocentésis y las de lavado broncoalveolar, no son consideradas muestras de sitio estéril para esta vigilancia.

Entre los cuadros invasores descritos destacan:

- Neumonía bacteriémica.
- Meningitis Bacteriana Aguda.
- Artritis séptica.
- Sepsis fulminante.
- Peritonitis primaria.
- Bacteriemia oculta.
- Pericarditis.

En caso de sospecha de un cuadro de meningitis por *S. pneumoniae*, cuyos cultivos de líquidos estériles resulten negativos, referirse a la circular B51 Nº50, Ministerio de Salud, Dic 2011, que define las directrices para la vigilancia epidemiológica de meningitis bacteriana con cultivos negativos e indica el envío de muestras de LCR al ISP para estudio de PCR en tiempo real.

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. pneumoniae* 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. pneumoniae*, 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.

Identificación de género y especie

La confirmación de la identificación bacteriana será realizada por métodos estandarizados y de acuerdo a las recomendaciones de la Red SIREVA [4,5]. Las metodologías utilizadas incluyen al menos una de las siguientes:

a) Reacciones bioquímicas
b) Espectrometría de masa
c) Secuenciación genética

Serotipificación:

La serotipificación capsular será realizada por medio de la técnica de Quellung modificada, de acuerdo a los protocolos estandarizados y control de calidad externo de la red Latino Americana SIREVA OPS [4].

Estudio de susceptibilidad antimicrobiana:

El estudio de susceptibilidad in vitro se realizará por medio de la técnica de difusión (Kirby Bauer) según estándar CLSI (Clinical Laboratory Standards Institute) vigente y recomendaciones de redes OPS SIREVA [4] y RELAVRA, incluyendo los antimicrobianos:

- Oxacilina
- Cloranfenicol
- Vancomicina
- Eritromicina
- Trimetoprim Sulfametoxazol
- Levofloxacino
- Clindamicina
- Rifampicina
- Tetraciclina

Se realizará estudio de susceptibilidad con determinación de concentración inhibitoria mínima (CIM) según estándar CLSI vigente, a todos los aislamientos que presenten en el estudio de Oxacilina un halo de inhibición ≤20 mm en la prueba de difusión. Los antimicrobianos a estudiar por determinación de CIM serán Penicilina y Cefotaxima.

Los métodos utilizados serán microdilución en placa o epsilograma, según estándar CLSI vigente y recomendaciones red SIREVA OPS [(4)].
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 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.

---

(4) Procedimientos para el Diagnóstico de Neumonías y Meningitis Bacterianas y la Caracterización de cepas de *Streptococcus pneumoniae* y *Haemophilus influenzae*, SIREVA II, OPS 2012.

(5) Manual of Clinical Microbiology, 10th Ed.2011 ASM Press.

Instituto de Salud Pública
Ministerio de Salud
Gobierno de Chile

ANEXO N° 1

FICHA TÉCNICA VIGILANCIA DE *Streptococcus pneumoniae*

1. Técnicas de laboratorio en el nivel local

1.1. Identificación *Streptococcus pneumoniae*:

- Colonias pequeñas grisáceas y mucoides (acuosas), rodeadas de una zona verde de hemólisis parcial (α hemólisis) en el agar sangre de cordero al 5%.
- Tinción de Gram: Diplococos gram positivos lanceolados.
- Condiciones de cultivo: es un microorganismo fastidioso, requiere de medios enriquecidos para su aislamiento primario. Es un agente anaerobio facultativo, algunos aislamientos son dependientes de CO_2 (5-7%), atmósfera que favorece su crecimiento.
- Catalasa: Positivo
- Susceptibilidad a la Optoquina (hidrocloruro de etilhidrocupreína): susceptible, halo ≥ 14 mm.
- Solubilidad en bilis: Positiva
- Prueba de Látex específica: Positiva
- Otras pruebas disponibles en los equipos de microbiología automatizados o semiautomatizados para la identificación.

1.2. 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) en su versión vigente. A partir del año 2008 se determinó un cambio en la interpretación de los parámetros de resistencia a antimicrobianos como Penicilina y Cefotaxima/Ceftriaxona basados en CIM de aislamientos procedentes de casos de meningitis y no meningitis. Dichos criterios se establecieron en base a datos clínicos, microbiológicos, farmacocinéticas y farmacodinámicos, donde los puntos de corte para aislamientos procedentes de casos de meningitis son mas bajos debido a la baja difusión del antimicrobiano hacia el sistema nervioso central. (según tabla 2G, M100-S23, CLSI 2013 o 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 Kirby Bauer modificado, 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 2G, M100-S23, CLSI 2013 o vigente).

b). Método de Dilución: Se debe utilizar la metodología estándar descrita por CLSI. En caso de utilizar equipos automátizados 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 y colocar la tira sobre la superficie de una placa de agar Mueller Hinton Sangre de Cordero al 5% , incubar a 35°C, en atmósfera 5% CO_2 por 20-24 Horas.

2. Control de calidad interno

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

a) Control de Esterilidad del Medio.
b) Control de crecimiento con cepa *S. pneumoniae* ATCC 49619.

2.2 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.

2.3 Control de Calidad del Estudio de Susceptibilidad a optoquina

a) Control Positivo con cepa *S. pneumoniae* ATCC 49619.
b) Control Negativo con *Streptococcus* grupo *viridans.*

3. Control de calidad externo

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

4. Condiciones de bioseguridad

Los aislamientos de *S. pneumoniae* deben manipularse de acuerdo al Nivel 2 de Bioseguridad correspondiente a la Clasificación Internacional de Riesgo [(6)].

5. Envío al laboratorio de referencia

El envío de cepas de *S. pneumoniae,* 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 debe venir 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 [(7)].

Se debe adjuntar el Formulario de envío **B1 "Envío de Cepas Sección Bacteriología",** debidamente suscrito con la información solicitada, el cual debe venir al interior del contenedor terciario, en una funda plástica bien cerrada. En caso que la muestra sea transportada por un estafeta, el formulario se entregará por mano, en un sobre de papel cerrado, al personal del ISP que recepciona las cepas y muestras.

---

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

Instituto de Salud Pública
Ministerio de Salud
Gobierno de Chile

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: Profesional jefe de sección Bacteriología .** **Av. Marathon N° 1000, Ñuñoa, Santiago** **Fonos: 2575 54 19 - 257 5 5 1 000**	**UN 3373**
Remitente	**Nombre del profesional que envía la cepa** **Nombre del Hospital o Clínica** **Dirección :** **Ciudad :** **Teléfono :**	**Conservar a Temperatura Ambiente**

MINISTERIO DE SALUD
DIRECTORA
INSTITUTO DE SALUD PÚBLICA DE CHILE

DRA. MARIA TERESA VALENZUELA BRAVO
DIRECTORA
INSTITUTO DE SALUD PÚBLICA DE CHILE

DISTRIBUCIÓN:
- Subsecretaría de Salud Pública
- Subsecretaría de Redes
- Departamento Calidad y Seguridad del Paciente MINSAL
- Departamento de Epidemiología MINSAL
- SEREMIS de Salud
- Servicios de Salud
- Laboratorios Clínicos de Hospitales Públicos
- Laboratorios Clínicos de Clínicas Privadas
- Dirección ISP
- Departamento Biomédico Nacional y de Referencia ISP
- Sección Bacteriología ISP