

GUÍA PARA LA VIGILANCIA POR LABORATORIO DE *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* y *Neisseria meningitidis*

DIRECCIÓN REDES EN SALUD PÚBLICA

SUBDIRECCIÓN LABORATORIO NACIONAL DE
REFERENCIA

GRUPO DE MICROBIOLOGÍA

2017

1 de 18



GOBIERNO DE COLOMBIA



Dirección

Martha Lucía Ospina Martínez
Directora General Instituto Nacional de Salud

Coordinación

Mauricio Beltrán Durán
Director Técnico Redes en Salud Pública

María Alexandra Durán Romero
Subdirector Laboratorio Nacional de Referencia
Dirección de Redes en Salud Pública

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

Sandra Milena Barrera Ayala
Equipo Técnico Subdirección Laboratorio Nacional de Referencia
Dirección de Redes en Salud Pública

Elaborado por

Carolina Duarte Valderrama
Olga Marina Sanabria
Grupo de Microbiología
Subdirección Laboratorio Nacional de Referencia (SLNR)
Dirección Redes en Salud Pública

TABLA DE CONTENIDO

OBJETIVOS DE LA GUÍA	4
ALCANCE.....	4
DEFINICIONES, SIGLAS ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS	4
1. GENERALIDADES	4
1.1 Agente etiológico.....	4
1.2 Modo de transmisión.....	6
1.3 Prevención	6
2. DIAGNÓSTICO POR LABORATORIO	7
2.1 Bioseguridad	7
2.2 Toma de muestras	8
2.2.1 Estudio del líquido cefalorraquídeo (LCR)	8
2.2.2 Estudio de hemocultivo	8
2.3 Tipo de muestra, conservación, almacenamiento y transporte	9
2.3.1 Envío, embalaje y transporte de muestras de LCR y aislamientos bacterianos	9
2.4 Documentación requerida.....	10
2.5 Métodos de laboratorio empleados para el diagnóstico de los agentes etiológicos:	11
3. CONTROL DE CALIDAD	14
4. VIGILANCIA DE LOS AGENTES ETIOLOGICOS O MENSURANDOS	14
5. ESTRUCTURA Y FUNCIONES DE LA RED NACIONAL DE LABORATORIOS (RNL) PARA EL EVENTO.....	14
5.1 Funciones del Laboratorio Nacional de Referencia (LNR)	14
5.2 Funciones del laboratorio de Salud Pública (LSP)	15
5.3 Funciones de los laboratorios públicos y privados o referentes para el evento en el nivel municipal y/o local según corresponda.....	15
5.4 Diagrama describiendo el flujo de información	16
6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	17

OBJETIVOS DE LA GUÍA

1. Describir los lineamientos y el proceso de vigilancia por laboratorio de *S. pneumoniae*, *H. influenzae* y *N. meningitidis*.
2. Establecer los procesos de obtención, conservación y transporte de las muestras para la detección de *S. pneumoniae*, *H. influenzae* y *N. meningitidis*.
3. Describir los fundamentos técnico-científicos de los métodos de ensayos empleados para el diagnóstico por laboratorio de *S. pneumoniae*, *H. influenzae* y *N. meningitidis*.

ALCANCE

La presente guía aplica para la vigilancia por laboratorio de *S. pneumoniae*, *H. influenzae* y *N. meningitidis* en diferentes matrices y métodos con los cuales se detectan en el laboratorio nacional de referencia del INS.

DEFINICIONES, SIGLAS ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS

A.S: Agar Sangre
A. Ch: Agar Chocolate
CIM: Concentración Inhibitoria Mínima
LCR: Líquido Cefalorraquídeo
LSP: Laboratorio de Salud pública
LSPD: Laboratorio de Salud pública Departamental
MBA: Meningitis Bacteriana Aguda.
PCR: Reacción en Cadena de la Polimerasa

1. GENERALIDADES

1.1 Agente etiológico

S. pneumoniae

Es considerado como el agente etiológico de enfermedades que causan gran morbilidad y mortalidad en niños y adultos en el mundo, y debido al desarrollo de resistencia a los antibióticos empleados para su control, es uno de los principales problemas de salud pública es así, como la OMS estimó que 1,6 millones de personas mueren al año de enfermedad neumocócica y de ellos 0,7 a 1 millón son niños menores de 5 años (1).

Morfológicamente *S. pneumoniae* es un coco Gram positivo que se dispone en pares, requiere atmósfera de 5% a 7% de CO₂ para su crecimiento, es sensible a la optoquina y se lisa en presencia de sales biliares; estas características fenotípicas son la base para la identificación de especie. Adicionalmente, posee una cápsula externa a la pared celular de naturaleza polisacárida cuya composición antigénica es variable y permite agruparlo en serotipos capsulares. Dentro de

4 de 18



sus principales factores de virulencia se encuentran: 1) la producción de una proteasa que hidroliza e inactiva la inmunoglobulina A1 presente en las mucosas, lo que facilita su adherencia y colonización inicial de las células epiteliales, 2) la cápsula con la que evita la acción de los fagocitos en ausencia de anticuerpos específicos, 3) la neumolisina, que destruye la membrana de los glóbulos rojos y 4) la neuraminidasa, que es una enzima que ayuda a la diseminación y multiplicación de *S. pneumoniae* en los tejidos infectados (2,3).

Con base en las diferencias antigénicas de los polisacáridos capsulares se han identificado más de 95 serotipos de *S. pneumoniae* de los cuales un número relativamente limitado causan la mayoría de las infecciones neumocócicas invasoras y la frecuencia de recuperación de los serotipos varía según la región geográfica, el grupo de edad y el periodo del estudio (4).

H. influenzae

Se encuentra exclusivamente en el tracto respiratorio humano y forma parte de la flora normal. Es un bacilo Gram-negativo no móvil que posee o no un polisacárido serológicamente específico, que permite clasificarlos en 6 serotipos, denominados a, b, c, d, e y f (clasificación de Pittman) y se correlacionan con la virulencia de la bacteria (3).

- ***H. influenzae* serotipo b (Hib)** causa enfermedad invasiva como meningitis, neumonía, sepsis, bacteriemia y enfermedad localizada como otitis, conjuntivitis o sinusitis, especialmente en los niños.
- ***H. influenzae* serotipo a (Hia)** es reconocido como un importante patógeno emergente que puede ser considerado el segundo tipo clínicamente más virulento entre los 6 serotipos. Este serotipo afecta especialmente a los menores de 2 años y se ha demostrado la relación de algunos clones de Hia con enfermedades graves con alta tasa de letalidad.
- Otros serotipos como el **Hif y el Hie** afectan principalmente a los adultos con alguna enfermedad predisponente y, en menor frecuencia, a la población pediátrica.
- Algunos aislamientos no poseen cápsula, por lo que no pueden serotipificarse y se los denomina ***H. influenzae* notificables (HiNT)**, y es responsable del 20-30% de todos los episodios de otitis media aguda.

N. meningitidis

Es un diplococo Gram negativo en forma de granos de café se puede encontrar intra o extracelularmente en PMN, crece mejor a una temperatura de 35 – 37°C en atmósfera del 5% de CO₂ en Agar Sangre o Agar Chocolate, posee una cápsula que es utilizada para clasificarla en 12 serogrupos seis de estos serogrupos causan la gran mayoría de infección en humanos: A, B, C, W, X y Y. Se requiere para su manipulación una cabina de bioseguridad nivel 2 debido a que este microorganismo presenta un potencial riesgo para el personal del laboratorio debido a su transmisión a través de aerosoles (2).

Es una de las principales causas de meningitis y sepsis en todo el mundo. La enfermedad lleva asociada a una alta tasa de mortalidad y la presencia graves secuelas en quienes sobreviven. En función de la cápsula de polisacárido que rodea habitualmente a la bacteria, *N. meningitidis* se puede clasificar en trece serogrupos, de los cuales solamente A, B, C, W, Y y más recientemente, X se asocian con la enfermedad (5, 6).

1.2 Modo de transmisión

S. pneumoniae

Forma parte de la flora bacteriana normal de la mucosa nasal y faríngea, siendo su hábitat preferencial la nasofaringe posterior por lo tanto se transmite con facilidad de persona a persona a través de las gotitas de saliva (2,3).

H. influenzae

El único reservorio conocido de la bacteria está en los humanos, quienes la pueden portar sin estar enfermos, se propaga a través de las mucosidades y/o de la saliva. Afortunadamente, se considera que en la mayoría de los casos su capacidad de contagio es limitada (2,3).

N. meningitidis

A pesar de ser uno de los patógenos más temidos tanto por padres de niños en edad temprana como por profesionales sanitarios, la gran mayoría de infecciones causadas por meningococo son asintomáticas. La transmisión se produce por contacto directo entre un individuo susceptible y un portador, bien de forma directa, o bien por cercanía mediante aerosoles. La enfermedad se puede considerar como un evento accidental dentro del ciclo de vida de la bacteria, y generalmente ocurre al poco tiempo tras la adquisición. Los portadores constituyen la principal fuente de transmisión y diseminación de *N. meningitidis*, así como el principal reservorio de cepas patogénicas de esta bacteria, y es en ellos dónde se dan los procesos evolutivos que tienen la potencialidad de generar la aparición de nuevas cepas virulentas. La adquisición del estado de portador tiene un papel crucial en la estimulación de la inmunidad humoral y la generación de anticuerpos protectores contra la enfermedad, pero a su vez es también una condición para el desarrollo de la misma.

Existen factores de riesgo que incrementan la susceptibilidad del individuo a ser colonizado por meningococo, como frecuentar lugares donde se da el hacinamiento de personas (e.g bares, colegios mayores o cuarteles militares), la exposición directa o indirecta al humo del tabaco o el contacto con pacientes de la enfermedad, entre otros. En países industrializados, se calcula que una media del 10% de la población es portadora de *N. meningitidis*, siendo los niños los que presentan tasas más bajas de colonización, entre el 2-5%, y los adolescentes los que más frecuentemente son portadores, con porcentajes que alcanzan hasta el 35% (6).

1.3 Prevención

S. pneumoniae

Para el control de la enfermedad neumocócica se han desarrollado diferentes tipos de vacunas, actualmente, se disponen de tres vacunas conjugadas contra *S. pneumoniae* la vacuna heptavalente (serotipos 4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F y 23F) disponible desde el año 2000, diseñada con los serotipos causantes de enfermedad invasora en los niños norteamericanos; la decavalente (adiciona a la heptavalente los serotipos 1, 5 y 7F) disponible desde 2010, y la tridecavalente (adiciona a la decavalente los serotipos 3, 6A, y 19A) disponible desde 2010. En Colombia, la vacuna decavalente hace parte del plan ampliado de inmunizaciones (PAI) (7-11).

H. influenzae

En Colombia, la vacuna contra *H. influenzae* serotipo hace parte del plan ampliado de inmunizaciones (PAI), desde 1998.

N. meningitidis

Actualmente existen vacunas desarrolladas contra el polisacárido capsular que son eficaces en la prevención de la enfermedad causada por los serogrupos A, C, W-135 e Y, pero no así para el serogrupo B, ya que la similitud estructural de este polisacárido con las glicoproteínas polisacáridas del sistema nervioso fetal humano impide el desarrollo de vacunas contra este serogrupo. Las investigaciones para el desarrollo de una vacuna que confiera protección contra el meningococo B se han basado en la búsqueda de estructuras sub-capsulares capaces de generar una respuesta inmunitaria efectiva y duradera en niños y adultos. Cuba, Noruega y, más recientemente Nueva Zelanda controlaron con éxito brotes epidémicos aplicando vacunas producidas a partir de vesículas de membrana externa, las cuales contienen proteínas capaces de conferir protección contra la enfermedad.

Actualmente, los esfuerzos se centran en desarrollo de vacunas que incluyan una o varias proteínas externas de membrana, solas o en combinación con otras estructuras. Los avances en técnicas de secuenciación y exploración del genoma bacteriano han permitido la identificación de nuevos candidatos vacunales cuya idoneidad para formar parte de una vacuna pueda conferir protección universal contra enfermedad meningocócica causada por todos los serogrupos está siendo evaluada con resultados prometedores (12-14)

2. DIAGNÓSTICO POR LABORATORIO

2.1 Bioseguridad

- Realizar todo el procedimiento en cabina de bioseguridad clase II, garantizando los procesos de verificación y certificación de las mismas y empleando las precauciones de barrera o bioseguridad (batas desechables, gafas de protección y respiradores o caretas N95) siempre y cuando el procedimiento tenga el potencial de generar aerosoles. Se debe tener en cuenta que las muestras clínicas, los fluidos corporales y los tejidos humanos y animales pueden ser positivos para el virus de la hepatitis B, VIH, otros agentes patógenos de transmisión sanguínea y *Mycobacterium tuberculosis*.
- En el interior de la cámara de bioseguridad se debe contar con bolígrafos y marcadores de uso exclusivo en cabina y guardián para descartar material como puntas, asas de desechables y material corto punzante.
- Usar guantes descartables de látex o nitrilo durante todo el procesamiento del agente infeccioso. El personal de laboratorio se debe quitar los guantes cuando estos se contaminan por derrames o salpicaduras, o cuando se ha terminado el trabajo con materiales infecciosos. No se debe utilizar guantes fuera del laboratorio. No se debe utilizar el teléfono ni abrir las puertas con guantes utilizados en pruebas de laboratorio. Se deben desechar todos los guantes usados, colocarlos junto con otros materiales desechables y

llevarlos a autoclave. El personal de laboratorio se debe lavar las manos inmediatamente después de haberse quitado los guantes.

- Emplear asas desechables. Nunca queme las asas metálicas antes de ser desinfectadas con hipoclorito, de esa manera evita la formación de aerosoles.
- Procedimientos como centrifugación y vortex deben realizarse en recipientes cerrados o tubos sellados con el fin de evitar aerosoles.
- Al iniciar y terminar el proceso se deben limpiar las superficies y los equipos con hipoclorito de sodio diluido en agua al 1% (1:100), luego con alcohol isopropílico al 70%, para inactivar el cloro y evitar la corrosión de la superficie; cuando se presenten derrames limpiar con hipoclorito de sodio al 10% (1:10) (15-17).

2.2 Toma de muestras

Ante un caso sospechoso de enfermedad invasora causada por *S. pneumoniae*, *H. influenzae* y *N. meningitidis*, la toma de la muestra con guantes sin talco (punción lumbar basada en juicio clínico y hemocultivo de acuerdo al protocolo interno de cada institución hospitalaria) debe preferencialmente efectuarse por personal capacitado (3).

2.2.1 Estudio del líquido cefalorraquídeo (LCR)

Debe realizarse punción lumbar para realizar estudio citoquímico y bacteriológico del líquido cefalorraquídeo, lo que permitirá confirmar el diagnóstico, determinar el agente causante y analizar factores pronósticos (ver tabla 1). La punción deberá hacerse lo antes posible, una vez que se establece la sospecha clínica y, preferiblemente, antes de instaurar el tratamiento antimicrobiano. Sin embargo, **NO DEBE RETRASAR** la instauración del tratamiento antibiótico.

Tabla 1. Resultados esperados en LCR en las pruebas de diagnóstico presuntivo de meningitis bacteriana (3, 18)

Parámetro	LCR normal	LCR Meningitis Bacteriana	
Aspecto	Claro	Turbio, amarillento, purulento	
Tinción de Gram	Negativa	Diplococos Gram negativos	<i>Neisseria meningitidis</i>
		Diplococos Gram positivos	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
		Bacilos Gram negativos	<i>Haemophilus influenzae</i>
Células	<10 cel/mm ³	>10 cel/mm ³	
Proteínas	<100 mg/dl	>100 mg/dl	
Glucosa	>40 mg/dl	<40 mg/dl	
Cultivo	Negativo	Positivo	

Nota: El transporte de la muestra al laboratorio del hospital debe realizarse lo más pronto posible, a temperatura ambiental o conservada a 35-37°C.

2.2.2 Estudio de hemocultivo

Es necesario tomar una muestra de sangre para cultivo lo antes posible y, dependiendo de la gravedad del caso, antes del tratamiento con antibióticos, a fin de lograr el aislamiento del agente etiológico.

El hemocultivo posee baja sensibilidad diagnóstica y sólo un pequeño porcentaje resultará positivo (menos de 20%). Sin embargo, la gran importancia de tomar muestras de sangre para cultivo reside en que, cuando éste resulta positivo, se puede identificar con seguridad el agente etiológico de la infección y por ende realizar antibiogramas que determinen el perfil de sensibilidad antimicrobiana además de permitir el monitoreo de los serotipos/ serogrupos circulantes de las bacterias.

2.3 Tipo de muestra, conservación, almacenamiento y transporte

En el laboratorio del hospital, se realizarán coloración de Gram y el cultivo de las muestras de LCR y hemocultivos y si están disponibles las pruebas rápidas de aglutinación de antígenos en partículas de látex (permiten la detección de *S. pneumoniae*, *H. influenzae* y *N. meningitidis* A, B, C, Y y W). Se debe informar al médico tratante lo más pronto sobre los resultados presuntivos que orienten al médico en la atención temprana del paciente, el tratamiento antimicrobiano y las medidas profilácticas.

A partir del crecimiento bacteriano recuperado en agar chocolate suplementado o en agar sangre de cordero al 5% a 37°C, con una atmosfera de 5% CO₂, después de 18 a 24 horas de incubación realizar las pruebas bioquímicas correspondientes para la identificación del agente etiológico (ver numeral 2.6 Métodos de laboratorio empleados para el diagnóstico de los agentes etiológicos) (1,18)

De manera simultánea, se prepara una alícuota de 500uL de LCR para el envío de la muestra por personal capacitado al Laboratorio de Referencia Nacional (Grupo de Microbiología del Instituto Nacional de Salud) para realizar por PCR en tiempo real de acuerdo a los protocolos del CDC, **en aquellos casos en los que el laboratorio del hospital tenga un LCR compatible con meningitis bacteriana y el cultivo sea negativo.**

2.3.1 Envío, embalaje y transporte de muestras de LCR y aislamientos bacterianos

2.3.1.1 Muestras de LCR

La muestra de LCR de paciente sospechoso de enfermedad invasora por *S. pneumoniae*, *H. influenzae* y *N. meningitidis* deben enviarse al Laboratorio Nacional de Referencia (Grupo de Microbiología del Instituto Nacional de Salud) teniendo en cuenta las siguientes recomendaciones:

- El transporte de la muestra debe realizarse rápidamente en un tubo de tapa rosca, en un embalaje triple correctamente marcado y etiquetado (PI650 si se transporte por vía aérea, categoría B), preferiblemente congelado a -20°C, o en hielo seco, o al menos aproximadamente a 4°C con bolsas de hielo.
- Si la muestra no se procesa dentro de un plazo de 24 horas después de su recepción en el laboratorio de referencia, se debe conservar congelada a -20°C (+ 5°C).

2.3.1.2 Aislamientos bacterianos

Los aislamientos bacterianos de *S. pneumoniae*, *H. influenzae* y *N. meningitidis* recuperados de fluidos corporales estériles (sangre, LCR, L. pleural etc.) deben ser enviados en medio de

transporte Amies con carbón activado, útil especialmente para el envío de patógenos de difícil crecimiento o lábiles cumpliendo las siguientes indicaciones:

- A partir de un cultivo puro de 24 horas de incubación a 37 °C con una atmosfera de 5% CO₂, recoger todo el crecimiento con el escobillón que trae el medio de transporte, coloque el escobillón en el medio de transporte e identifique el medio de transporte con los siguientes datos: nombre del paciente, historia clínica y fecha de recogida del aislamiento.
- Temperatura de envío: temperatura ambiente entre 18 y 25°C.
- El tiempo máximo para ser recibido en el INS después de recogido el aislamiento es de 24 horas.
- El transporte debe cumplir con las condiciones mínimas de bioseguridad para reducir los posibles riesgos de contaminación. Las cepas deben ser en triple embalaje como categoría B cumpliendo la normativa IATA y rotuladas con etiquetas que identifiquen la presencia de sustancias infecciosas.

Las muestras de LCR y los aislamientos bacterianos de *S. pneumoniae*, *H. influenzae* y *N. meningitidis* recuperados de fluidos corporales estériles (sangre, LCR, L. pleural etc.) deben ser enviados al Laboratorio de Referencia Nacional (Grupo de Microbiología del Instituto Nacional de Salud) a través del Laboratorio de Salud Pública departamental o distrital correspondiente. Siguiendo el flujo de información de la Red Nacional de Laboratorios (ver numeral 5.4 Flujo de información de la Red Nacional de Laboratorios).

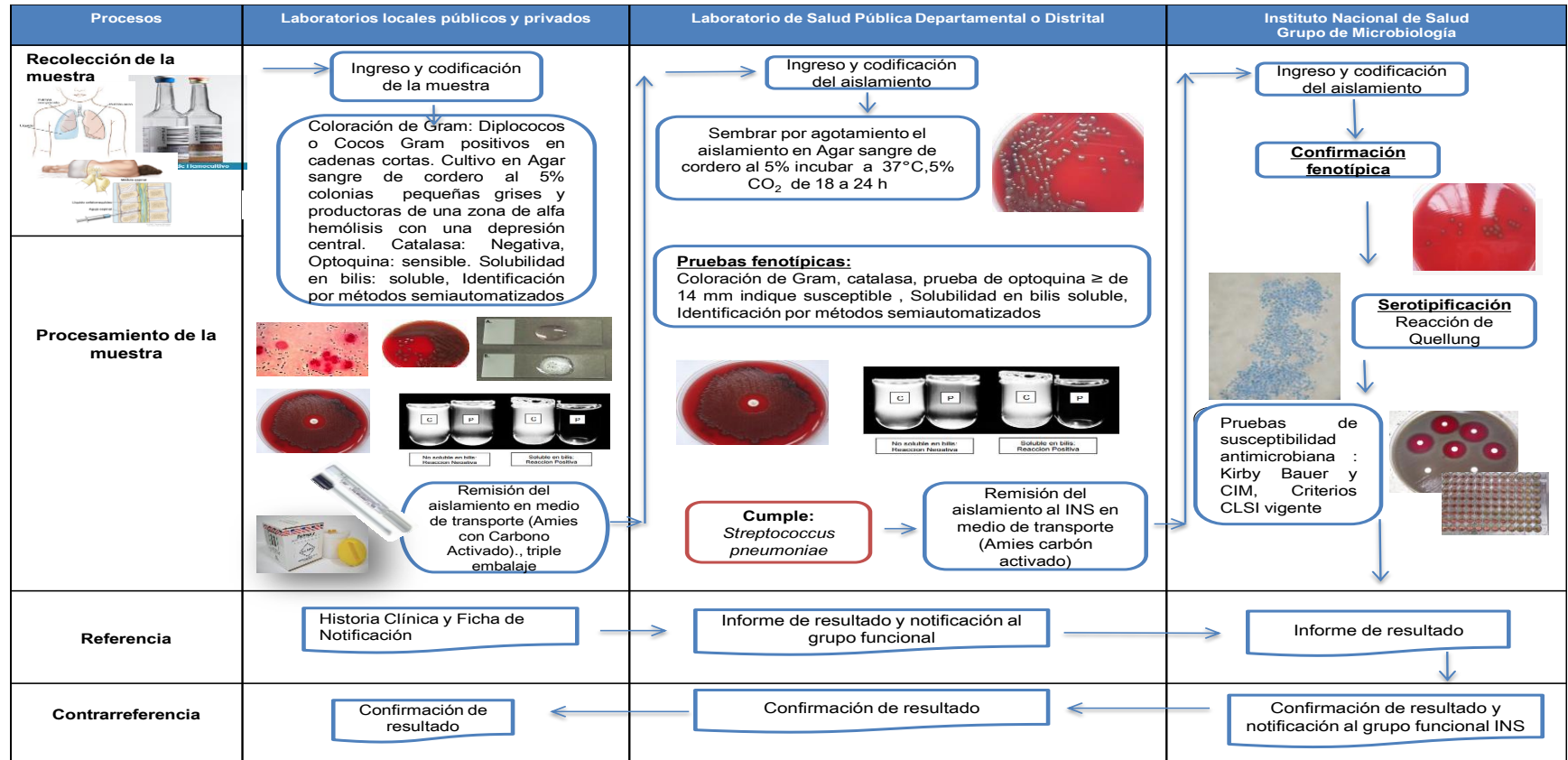
El Laboratorio de Referencia Nacional (Grupo de Microbiología del Instituto Nacional de Salud) realizará la confirmación, serotipificación y pruebas de sensibilidad antimicrobiana de los aislamientos bacterianos de *S. pneumoniae*, *H. influenzae* y *N. meningitidis* enviados a través de la red nacional de laboratorio de acuerdo a los parámetros establecidos en el manual de procedimientos SIREVA II. Los LCR serán procesados para la identificación del agente etiológico de la enfermedad y la serotipificación, por PCR en tiempo real de acuerdo al protocolo del CDC (19).

2.4 Documentación requerida

- Oficio remisorio con la solicitud
- Historia clínica o epicrisis del paciente
- Formato envío de aislamientos invasores de *S. pneumoniae*, *H. influenzae* y *N.meningitidis* según corresponda.

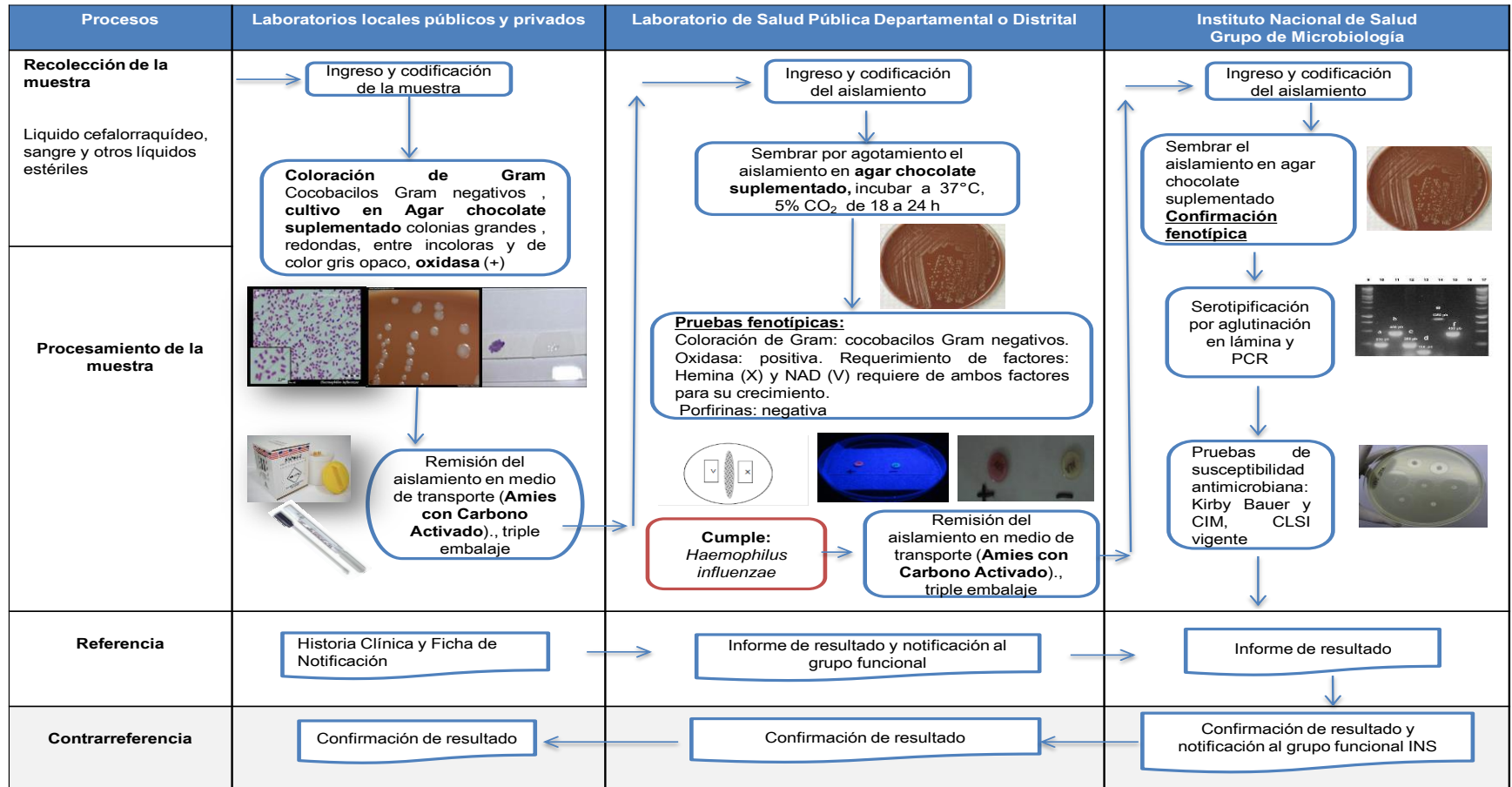
2.5 Métodos de laboratorio empleados para el diagnóstico de los agentes etiológicos:

S. pneumoniae



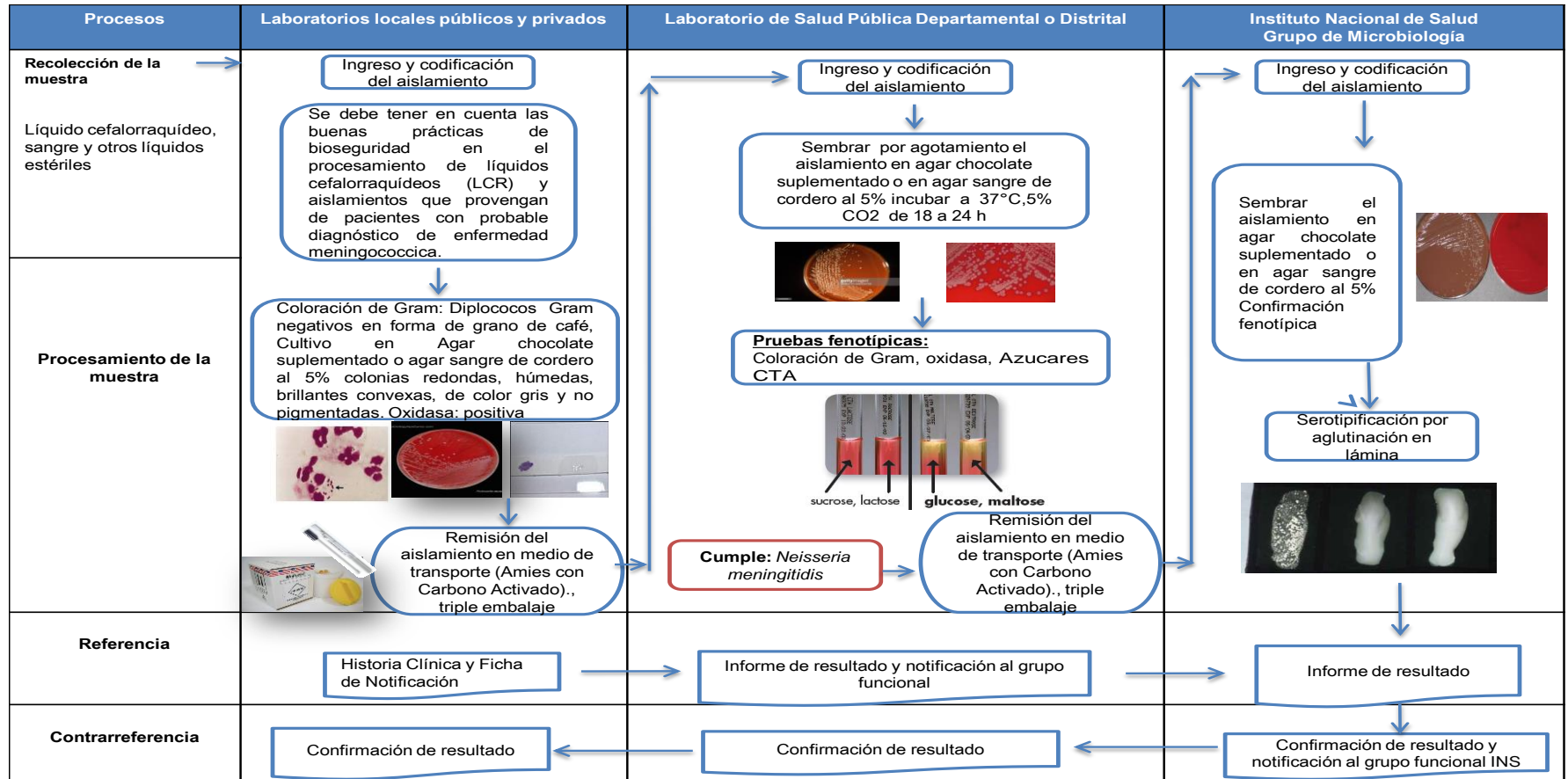
Fuente: Grupo de Microbiología INS (2, 18, 19)

H. influenzae



Fuente: Grupo de Microbiología INS (2, 18)

N. meningitidis



Fuente: Grupo de Microbiología INS (2, 18, 20)

3. CONTROL DE CALIDAD

El Grupo de Microbiología realiza la Evaluación Externa del Desempeño en Bacteriología y Resistencia a los Antimicrobianos EED-B-RA como control de calidad directo y de forma indirecta se realiza con él envío del 100% del total de los aislamientos de las muestras positivas y sospechosas que se procesen en cada Laboratorio de Salud Pública Departamental.. Adicionalmente el grupo de Microbiología del INS, pertenece a la red SIREVA II participando como referente de la zona norte que comprende doce países latinoamericanos, liderando dos controles de calidad, el directo y el indirecto.

4. VIGILANCIA DE LOS AGENTES ETIOLÓGICOS O MENSURANDOS

La vigilancia por laboratorios de aislamientos invasores de *S. pneumoniae*, *H. influenzae* y *N. meningitidis* permite realizar seguimiento continuo y sistemático de la circulación de serotipos, serogrupos y perfiles de sensibilidad antimicrobiana con el fin de conocer el impacto de las vacunas disponibles en el país, mediante procesos para la notificación, recolección y análisis de datos para la adecuada toma de decisiones, a través de actividades de articulación interinstitucional, propendiendo por la protección de la salud individual y colectiva. Dicha vigilancia permite mejorar el conocimiento enfermedades invasoras producidas por estos patógenos y fortalece el desarrollo de la capacidad de los laboratorios a nivel nacional (21, 22).

5. ESTRUCTURA Y FUNCIONES DE LA RED NACIONAL DE LABORATORIOS (RNL) PARA EL EVENTO

5.1 Funciones del Laboratorio Nacional de Referencia (LNR)

Dentro de las funciones enmarcadas en la vigilancia por laboratorio del evento se encuentran:

- El Grupo de Microbiología realizará la confirmación, serotipificación y susceptibilidad antimicrobiana de todos los aislamientos de *S. pneumoniae*, *H. influenzae* y *N. meningitidis* obtenidos de muestras invasivas que sean enviados por los LSP del país.
- Se realizaran ensayos en LCR por la técnica de PCR en tiempo real cuando no se haya obtenido crecimiento del microorganismo ó el diagnóstico no haya sido definido, en cultivos negativos por tratamiento previo ó porque el laboratorio no cuenta con los reactivos, medios o la infraestructura para realizar la prueba. Para el procesamiento de estos LCR es necesario el envío de la información del examen físico-químico (Glucosa, proteínas, recuento de leucocitos).
- Apoyar a los LSPD con asesoría técnica, medios de transporte y medio de cultivo en el caso de brotes o cuando se presente emergencias.
- Realización de la Evaluación Externa del Desempeño en Bacteriología y Resistencia a los Antimicrobianos EED-B-RA.
- Fortalecer la red nacional de laboratorios para la identificación *S. pneumoniae*, *H. influenzae* y *N. meningitidis*.

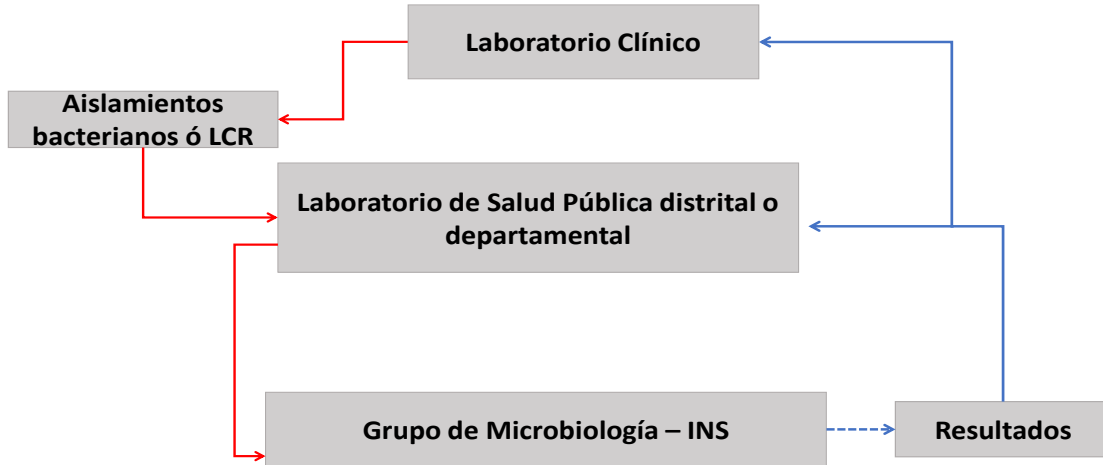
5.2 Funciones del laboratorio de Salud Pública (LSP)

- Recibir, confirmar y remitir al Grupo de Microbiología del Instituto Nacional de Salud los aislamientos de *S. pneumoniae*, *H. influenzae* y *N. meningitidis* obtenidos de muestras invasivas, junto con el formato totalmente diligenciado
- Participar Evaluación Externa del Desempeño en Bacteriología y Resistencia a los Antimicrobianos EED-B-RA.
- Mantener una base de datos actualizada con los aislamientos recibidos por municipios y los resultados luego del procesamiento del mismo.
- Retroalimentar los resultados de los casos a las IPS, direcciones locales y departamentales de salud para realizar las acciones necesarias con el paciente y ajustar los casos en el sistema de vigilancia

5.3 Funciones de los laboratorios públicos y privados o referentes para el evento en el nivel municipal y/o local según corresponda

- El laboratorio clínico debe asegurarse que la muestra haya sido tomada correctamente por personal idóneo y capacitado para tal fin y procesar la muestra de acuerdo al protocolo establecido, asegurándose de guardar el sobrante o de ser posible un duplicado para posibles eventualidades o tener la posibilidad de confirmar los resultados o realizar pruebas adicionales.
- En el caso de obtener crecimiento de uno de los tres patógenos pertenecientes a la vigilancia por laboratorio debe ser identificado mediante las pruebas diagnósticas establecidas y remitirlo en el medio de transporte de amies con carbón y acompañado del formato completamente diligenciado.
- Hacer la notificación del caso según sea de forma inmediata al área de epidemiología.
- De ser necesario, pueden solicitar apoyo técnico para el análisis de los casos a las autoridades locales, departamentales o nacionales. prestando toda la colaboración y poniendo a disposición la información necesaria.
- Capacitar y actualizar permanentemente a los profesionales de la salud en el diagnóstico, tratamiento, seguimiento y vigilancia de *S. pneumoniae*, *H. influenzae* y *N. meningitidis*
- En caso que se se necesite apoyo diagnóstico el laboratorio debe enviar le LCR al Grupo de Microbiología a través de los LSP con la información del examen físico-químico (Glucosa, proteínas, recuento de leucocitos).

5.4 Diagrama describiendo el flujo de información



6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. World Health Organization, Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Manual para la identificación y Prueba de Susceptibilidad a los antimicrobianos de Patógenos Bacterianos de Importancia en Salud Pública en el Mundo en Desarrollo. Disponible en: <https://www.cdc.gov/meningitis/lab-manual/full-manual.pdf>
2. Preado V. Conceptos microbiológicos del *Streptococcus pneumoniae*. Rev Chil Infectol. 2001;18 (1):6-9.
3. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Laboratory Methods for the Diagnosis of Meningitis caused by *N. meningitidis*, *S. pneumoniae* and *H. influenzae* Manual 2 nd edition. Disponible en: <https://www.cdc.gov/meningitis/lab-manual/full-manual.pdf>
4. Hausdorff, W. P, J. Bryant, P. R. Paradiso, and G. R. Siber. Which pneumococcal serogroups cause the most invasive disease: implications for conjugate vaccine formulation and use, part I. Clin Infect Dis. 2000;30:100-21.
5. Organización Panamericana de la Salud/ Organización Mundial de la Salud Infección meningocócica y meningitis meningocócica.. El control de las enfermedades transmisibles en el hombre. Publicación científica nº 635. Decimonovena edición 2011 Pag 516-523.
6. Vedros, N.A., Development of meningococcal serogroups, in Evolution of meningococcal disease, N.A. Vedros, Editor. 1987, CRC Press Inc.: Boca Raton, FL. p. 33-37.
7. World Health Organization. Pneumococcal conjugate vaccine for childhood immunization – WHO position paper. WMRD 2007;12:93–104
8. Vesikari T, Wysocki J, Chevallier B, Karvonen A, Czajka H, Arsène JP, et al. Immunogenicity of the 10-valent pneumococcal non-typeable *Haemophilus influenzae* protein D conjugate vaccine (PHiD-CV) compared to the licensed 7vCRM vaccine. Pediatr Infect Dis J. 2009;28(4):S66-76
9. Chevallier B, Vesikari T, Brzostek J, Knuf M, Bernal N, Aristegui J, et al. Safety and reactogenicity of the 10-valent pneumococcal non-typeable *Haemophilus influenzae* protein D conjugate vaccine (PHiD-CV) when coadministered with routine childhood vaccines. Pediatr Infect Dis J. 2009; 28(4):S109-18.
10. Bernatoniene J., Finn A. Advances in pneumococcal vaccines: advantages for infants and children. Drugs. 2005;65:229-55
11. De la Hoz F. Introducción en Colombia de una nueva vacuna conjugada contra *Streptococcus pneumoniae*. IQEN. 2001; 6:97-8.
12. Granoff, D., et al., *Review of Meningococcal Group B Vaccines*. Clin Infect Dis. 2010. 1(50):S2- S54.
13. Harrison, L., et al., *Prospects for Vaccine Prevention of Meningococcal Infection*. Clinical microbiology reviews, 2006 19(1): 142–164
14. Zimmer, SM., et al., Serogroup B meningococcal vaccines. Curr Opin Investig Drugs. 2006 .7(8):733-9.
15. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. Centers for Disease Control and Prevention. 5th edition, 2009. Pag:149-151.
16. Manual de Bioseguridad para el procesamiento de muestras y cepas relacionadas con el diagnóstico de laboratorio de las Neumonías y Meningitis Bacterianas por *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae* y *Haemophilus influenzae*. Organización Panamericana de la Salud, 2008. Pag: 8.

17. Instituto Nacional de Salud. Circular 1000-0050/ 22 de octubre de 2015. Buenas prácticas de bioseguridad en el procesamiento de líquidos cefalorraquídeos (LCR) y aislamientos que provengan de pacientes con probable diagnóstico de meningitis bacteriana por *Neisseria meningitidis*. Disponible en: <http://www.ins.gov.co/normatividad/Circulaes/CIRCULAR%20EXTERNA%200051%20DE%202015.pdf>
18. World Health Organization, Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Manual para la identificación y Prueba de Susceptibilidad a los antimicrobianos de Patógenos Bacterianos de Importancia en Salud Pública en el Mundo en Desarrollo. Disponible en: http://www.who.int/drugresistance/infosharing/WHOCDS_CSR_RMD_2003_6_Manual_Laboratorio.pdf
19. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Streptococcus Laboratory Protocols Disponible en: <https://www.cdc.gov/streplab/protocols.html>
20. Organización Panamericana de la Salud. Diagnóstico de laboratorio de las Meningitis Bacterianas causadas por *Neisseria meningitidis* Manual de procedimientos de laboratorio de la red SIREVA II 2011. Disponible en: [file:///C:/Users/cduarte/Downloads/PAHO-Manual-Meningo-Esp-2011%20\(2\).pdf](file:///C:/Users/cduarte/Downloads/PAHO-Manual-Meningo-Esp-2011%20(2).pdf)
21. Rodriguez MK, Agudelo CI, Duarte C. Aislamientos invasores de Haemophilus influenzae en menores de 5 años: distribución de los serotipos y de la sensibilidad antimicrobiana, SIREVA II, Colombia 2002-2013. Infectio. 2015;19(2):67---74
22. Ministerio de Salud y Protección Social 0000033/13 de junio de 2016. Intensificación de las acciones de vigilancia y control en salud pública para enfermedad meningocócica en Colombia. Disponible en: https://www.minsalud.gov.co/Normatividad_Nuevo/Circular%20Externa%200033%20del%202016.pdf