

GUÍA PARA LA VIGILANCIA POR LABORATORIO DE *Vibrio cholerae*

DIRECCIÓN DE REDES EN SALUD PÚBLICA
SUBDIRECCIÓN LABORATORIO NACIONAL DE
REFERENCIA

GRUPO DE MICROBIOLOGÍA

2017



GOBIERNO DE COLOMBIA



Dirección

Martha Lucia Ospina Martínez
Directora General Instituto Nacional de Salud

Coordinación

Esther Cristina Barros Linan
Director Técnico (E)
Redes en Salud Pública

María Alexandra Durán Romero
Subdirectora
Laboratorio Nacional de Referencia

Coordinador del Grupo de Microbiología
Carolina Duarte Valderrama
Subdirección Laboratorio Nacional de Referencia
Dirección Redes en Salud Pública

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

Elaborado por

Lucy Angeline Montaña Valencia
Profesional del Grupo de Microbiología
Subdirección Laboratorio Nacional de Referencia
Dirección Redes en Salud Pública

Tabla de contenido

OBJETIVOS DE LA GUÍA	4
ALCANCE	4
DEFINICIONES, SIGLAS, ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS	4
1. GENERALIDADES	5
1.1 Agente etiológico	6
1.2 Modo de transmisión	6
1.3 Prevención.....	7
2 DIAGNÓSTICO POR LABORATORIO	7
2.1 Bioseguridad (11)	7
2.2 Toma de muestras (12)	8
2.3 Tipo de muestra, conservación, almacenamiento y transporte:.....	8
2.4 Documentación requerida	9
2.5 Métodos de laboratorio empleados para el diagnóstico.....	9
3 CONTROL DE CALIDAD.....	14
4 VIGILANCIA DE LOS AGENTES INFECCIOSOS <i>Vibrio cholerae</i>	14
5 ESTRUCTURA Y FUNCIONES DE LA RED NACIONAL DE LABORATORIOS (RNL) PARA EL EVENTO	14
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	17

OBJETIVOS DE LA GUÍA

- Describir los lineamientos y el proceso de vigilancia por laboratorio para el desarrollo de la vigilancia por laboratorio del evento de cólera.
- Establecer los procesos de obtención, recolección, transporte y conservación de las muestras.
- Describir los fundamentos técnicos y científicos de los ensayos de laboratorio para el diagnóstico de cólera.
- Describir los criterios técnicos y operativos para la participación en los programas de evaluación del desempeño directa e indirecta de cólera.
- Precisar la organización de la Red Nacional de Laboratorios (RNL) para la vigilancia de cólera, así como describir las funciones en cada uno de los niveles.

ALCANCE

La presente guía aplica para la identificación de *Vibrio cholerae* de muestras de origen biológico recibidos dentro de la vigilancia por laboratorio de Enfermedad Diarreica Aguda (EDA) y Enfermedad Transmitida por alimentos (ETA) y los métodos con los cuales se diagnostica en el laboratorio de microbiología.

DEFINICIONES, SIGLAS, ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS

DEFINICIONES

Antígeno Bacteriano: molécula capaz de ser reconocida por un anticuerpo (Ac), por células presentadoras de antígenos (Ag) y que tiene la capacidad de inducir una respuesta inmune.

Antimicrobiano: producto farmacológico que tiene capacidad de eliminar el agente etiológico.

Cólera: enfermedad diarreica aguda, cuyo agente causal es el *Vibrio cholerae* serotipo O1 u O139 toxigénico, se ha manifestado como una enfermedad epidémica desde la antigüedad.

Coprocultivo: método de diagnóstico microbiológico que permite identificar los agentes bacterianos causantes de enfermedad gastrointestinal, mediante la siembra de un medio de cultivo selectivo de materia fecal.

Factor TOR: factor de virulencia implicado en la adherencia de *V. cholerae* a células intestinales.

Pruebas bioquímicas: medios de cultivos líquidos o sólidos que contienen sustancias especiales de enriquecimiento, suplemento, que al ser inoculados permiten la diferenciación de la bacteria.

Serogrupo: lipopolisacarido -antígeno somático "O"-, es una subpoblación de un microorganismo infeccioso que se diferencia de otras subpoblaciones de la misma especie por medio de pruebas serológicas, con base a diferencias en el *V. cholerae* ha sido clasificado en numerosos serogrupos, de estos serogrupos, sólo el O1 y el O139 han causado epidemias de cólera.

Serotipo: o serovar es un tipo de microorganismo infeccioso clasificado según los antígenos que presentan en su superficie celular. Los serotipos permiten diferenciar organismos a nivel de subespecie, algo de gran importancia en epidemiología. El serogrupo O1 de *V. cholerae* se ha dividido en otros tres serotipos: Inaba, Ogawa y Hikojima (el cual es muy raro).

Serotipificación: proceso de reacción antígeno - anticuerpo que pone en evidencia la presencia de antígenos ya sean somáticos o flagelares.

Toxigénico: microorganismo productores de toxinas, la enterotoxina de *Vibrio cholerae*, ocasiona diarrea secretoria masiva con rápida disminución de fluido extracelular y electrolitos, lo que puede llevar a deshidratación severa en cuestión de horas a menos que sea tratada rápidamente

SIGLAS, ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS

EDA: Enfermedad Diarréica Aguda

ETA: Enfermedad Transmitida por Alimentos

Sivigila: Sistema Nacional de Vigilancia en Salud Pública

INS: Instituto Nacional de Salud.

LNR: Laboratorio Nacional de Referencia

LSP: Laboratorio de Salud pública

LSPD: Laboratorio de Salud Pública Departamental o Distrital

OMS: Organización Mundial de la Salud

PCR: Reacción en Cadena de la Polimerasa

1. GENERALIDADES

El cólera es una enfermedad que representa un alto riesgo para la salud pública, en septiembre de 2016 el reporte semanal de la OMS informa que para 2015 a nivel mundial se notificaron 172.454 casos, con 1304 defunciones, donde la región de la Américas aportó 34.664 casos con 337 fallecimientos, todos de Haití; convirtiendo este dato en un indicador esencial de la falta de desarrollo social de los países en desarrollo; donde el mayor riesgo se registra en las comunidades y entornos sobrepoblados con saneamiento básico deficiente, con agua para consumo humano insalubre; aumentando la posibilidad de transmisión al resto de la población. Citar

Aunque países que tienen condiciones adecuadas de saneamiento y acceso a agua potable, no lo consideren el cólera una amenaza, es fundamental que se plantee respuestas a posibles brotes, acciones que deben ser coordinadas, oportunas y eficaces (1)

1.1 Agente etiológico

Vibrio cholerae pertenece a la familia *Vibrionaceae* a la cual pertenecen los géneros: *Vibrio*, *Photobacterium*, *Salinivibrio*, *Enterovibrio*, *Grimontia* y *Alivibrio*. Al género *Vibrio* pertenecen alrededor de 30 especies de las sólo 12 se han aislado de muestras clínicas humanas (2,3) (Tabla 1).

Tabla 1. Asociación de las especies de *Vibrio* con diferentes síndromes clínicos

Especies de vibrios causantes de infección en humanos	Síndromes clínicos			
	Gastroenteritis	Infección de heridas	Infección de ojo	Septicemia
<i>V. cholerae</i> O1	+++	-	+	-
<i>V. cholerae</i> no O1	+++	++	+	+
<i>V. mimicus</i>	++	-	-	-
<i>V. fluvialis</i>	++	-	-	-
<i>V. parahaemolyticus</i>	+++	-	-	+
<i>V. alginolyticus</i>	+	++	++	+
<i>V. cincinnatiensis</i>	-	-	-	+
<i>V. vulnificus</i>	+	++	-	++
<i>V. furnisii</i>	+	-	-	-
<i>V. damsela</i>	-	++	-	+
<i>V. metschnikovii</i>	+	-	-	+
<i>V. carchariae</i>	-	+	-	-

Adaptado de: *Manual of Clinical Microbiology. Seven Editions. PR Murray, EJ Baron, MA Tenover, RH Tenover (eds). American Society for Microbiology. Washington D.C.2001.*

Vibrio cholerae es un bacilo Gram negativo, anaerobio facultativo y móvil, descrito por primera vez en 1854 por Pacini en Italia y en 1883 por Robert Koch, las manifestaciones clínicas que se le atribuyen se deben a la presencia de la toxina de cólera (CT) y un factor de virulencia adicional, implicado en la adherencia de este patógeno a células intestinales el cual se denomina “toxin coregulated pilus” (TCP). De acuerdo a la composición del antígeno de lipopolisacárido (somático O), este se ha clasificado en varios serogrupos, siendo reconocidos más de 200. De estos serogrupos sólo el O1 y O139 están implicados en epidemias, dentro del grupo O1 se incluyen los serotipos: Ogawa, Inaba y Hikojima. (4).

El cólera causa una diarrea abundante, indolora y acuosa debido a la acción de la enterotoxina que promueve la secreción de agua y electrolitos hacia la luz del intestino delgado, se presentan vómitos; la pérdida de grandes cantidades de líquido y sales puede causar una deshidratación grave y provocar la muerte si no se trata oportunamente, el 80% a 90% de los pacientes presentan estos síntomas, pero cuando la sintomatología es leve o moderada se dificulta distinguir clínicamente de otras formas de EDA. Hasta el 80% de los casos se pueden tratar satisfactoriamente con sales de rehidratación oral. (3,4,5)

1.2 Modo de transmisión

Las cepas epidémicas de *V. cholerae* están ampliamente distribuidas en el medio ambiente en áreas tropicales o durante las estaciones templadas. Se encuentra en aguas de una gran variedad de salinidad, también se pueden hallar en aguas dulces y en el contenido intestinal de animales marinos; es susceptible a la desecación, ebullición, al cloro y a otros desinfectantes. (4,5)

El cólera se transmite vía fecal-oral produciendo EDA o ETA causada por la ingestión de agua o alimentos contaminados consumidos crudos o insuficientemente cocidos, la transmisión persona a persona es poco

frecuente. Tiene un breve periodo de incubación, que fluctúa entre dos horas a cinco días, puede ser mortal en cuestión de horas en pacientes considerados sanos. Las personas con inmunidad reducida (niños, adultos mayores y pacientes con sida), tienen un mayor riesgo de adquirir la enfermedad y morir si se infectan. (5,6)

1.3 Prevención

Las medidas para prevenir el cólera consisten principalmente en implementar actividades de carácter multidisciplinario basadas en la vigilancia, saneamiento básico, calidad del agua para consumo, manipulación de alimentos y la educación a la población (prácticas de higiene apropiadas, que usualmente requieren cambios en los comportamientos personales y sociales). Los medios de información, como la radio, la televisión o los periódicos, deben participar en la difusión de los mensajes educativos. Los líderes comunitarios y religiosos también deben participar en las campañas de movilización social. (7)

Todos los esfuerzos que se realicen deben ser sostenibles y así obtener alertas tempranas que permita detectar los primeros casos y a poner en práctica las medidas de control. (8,9)

2 DIAGNÓSTICO POR LABORATORIO

El diagnóstico por laboratorio de *Vibrio cholerae* se realiza teniendo en cuenta la capacidad de respuesta de los laboratorios en cada nivel y de acuerdo a las acciones que deben realizar dentro de la vigilancia por laboratorio del evento. Tabla No. 2

Tabla 2. Responsabilidad de los laboratorios frente al evento en cada uno de los niveles

IPS Primer nivel	IPS segundo nivel	IPS Tercer nivel	LSP	INS
Toma y envío de muestras al siguiente nivel	Coprocultivo e identificación bacteriana	Coprocultivo e identificación bacteriana	Confirmación a nivel de género, especie, y pruebas serológicas, si aplica.	Confirmación, serotipificación, pruebas de sensibilidad antimicrobiana, pruebas moleculares para determinación de toxigenicidad.

Nota: tener en cuenta el reenvío al siguiente nivel si no se cuenta con capacidad diagnóstica.

Teniendo en cuenta las responsabilidades que cada actor tiene, el Grupo de Microbiología del Laboratorio Nacional de Referencia del INS, es quien realiza a través de la técnica reacción en cadena de la polimerasa (PCR) (10), realiza el diagnóstico de cólera epidémico, el cual requiere para análisis el aislamiento bacteriano de *Vibrio cholerae*, obtenido en uno de los niveles de la red de laboratorios. Por lo tanto el INS es el único que puede confirmar la circulación de cólera en el país.

2.1 Bioseguridad (11)

- El personal de laboratorio debe recibir adiestramiento específico en cuanto al manejo de los agentes patógenos y estar dirigido por profesionales competentes.
- El acceso al laboratorio tiene que ser limitado en horas de trabajo.
- El personal que realiza ciertos procedimientos que requieren la creación de aerosoles infecciosos o salpicaduras tiene que utilizar los elementos de protección personal correspondientes.

2.2 Toma de muestras (12)

Muestras adecuadas

- No contaminada con orina
- Fresca: menor a 2 horas después de su evacuación.
- Recolectada por frotis rectal, no se recomienda de rutina.
- Contenido duodenal, de colostomía o ileostomía.

Muestras inadecuadas

- Que no ha sido preservada en un medio de transporte adecuado y que tiene más de 2 horas de haber sido recolectada.
- Hisopos secos con muestras de frotis rectal

Nota: las muestras ambientales deben tener en cuenta lo descrito en la Guía de para la toma de muestras de agua para análisis microbiológico de *V. cholerae*.

2.3 Tipo de muestra, conservación, almacenamiento y transporte:

Los laboratorios deben enviar todos los aislamientos bacterianos (independiente del origen de la muestra: materia fecal agua) que fueron obtenidos de casos de cólera dentro del sistema de referencia y contra-referencia del LNR, para su confirmación.

Tipo de muestra

Las muestras para el diagnóstico de cólera son:

- Biológicas: materia fecal o hisopado rectal
- Ambientales: agua

Recolección de la muestra

- La muestra de materia fecal debe ser recolectada en un recipiente limpio, libre de preservativos y detergentes, seco, de boca ancha con tapa. No es necesario que sea estéril.
- En algunos casos el frotis rectal es más eficaz que las heces, particularmente en los pacientes adultos severamente debilitados.
- Con relación al volumen de 1 a 2 gramos de materia fecal son suficientes.

El transporte de la muestra se debe realizar en medio de transporte Cary- Blair en un rango entre 0°C a 23°C, siguiendo las normas de bioseguridad establecidas y utilizando el sistema de triple empaque.

Nota: las muestras ambientales deben tener en cuenta lo descrito en la Guía de para la toma de muestras de agua para análisis microbiológico.

Luego del procesamiento de muestras y obtención de aislamientos presuntivos de *Vibrio* spp., se realiza el envío de los aislamientos al LNR

Procedimiento



- Realice una siembra masiva del aislamiento presuntivo en un medio no selectivo (Agar BHI o Agar Tripticasa soya) e incúbela de 18 a 24 horas a $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$.
- Recoja con el escobillón que viene en el paquete el crecimiento bacteriano.
- Inserte el escobillón en el medio y cierre el tubo herméticamente.
- Rotule el tubo con la identificación de paciente y envíelo al Laboratorio de Referencia junto con el ficha de envío.
- Enviar en sistema triple embalaje de acuerdo a las normas IATA
- Las muestras y aislamientos enviados al Grupo de Microbiología son: Sustancias Infecciosas Categoría B, "muestra para diagnóstico"



Imágenes: fuente Grupo Microbiología INS

2.4 Documentación requerida

Todo aislamiento presuntivo de *Vibrio* spp., debe ser enviado con la siguiente documentación:

- Carta de solicitud del ensayo.
- Ficha de envío de aislamientos Programas EDA, vigente y debidamente diligenciado

2.5 Métodos de laboratorio empleados para el diagnóstico

Examen directo

No se realiza.

Medios y reactivos empleados en el procesamiento de identificación de Vibrio spp.

Medio de transporte Cary-Blair

Este medio es utilizado para el transporte de muestras de materia fecal o de aislamientos, de microorganismos Gram negativos entéricos. El medio de transporte Cary-Blair es adecuado para el transporte de este tipo de muestra, debido a que sus escasos nutrientes y el pH de 8,4 mantienen al microorganismo viable y evita su replicación.

Caldo de enriquecimiento - agua peptonada alcalina pH 8,4

Es un caldo de enriquecimiento e inhibición para las muestras de materia fecal. Es utilizado en el procesamiento de muestras sospechosas de *Vibrio cholerae* por su pH alcalino que inhibe la flora acompañante favoreciendo su recuperación. Es útil cuando la cantidad de microorganismos presentes en la muestra es pequeña debido a la antibióticoterapia o en caso de portadores sanos.

Agar TCBS

Es un medio altamente selectivo para *Vibrio spp.*, por su contenido de sales biliares, inhibe el crecimiento de las bacterias Gram positivas y otros Gram negativos. Además contiene sucrosa (sacarosa) como carbohidrato fermentable debido a que la mayoría de integrantes del género *Vibrio* fermenta este azúcar. El pH alcalino del medio favorece el aislamiento de *V.cholerae*. El azul de timol y de bromotimol están incluidos como indicadores de pH.

Agar BHI (Brain Heart Infusion Agar- Agar infusión cerebro corazón) o Trypticasa de Soya

Son medios enriquecidos que contiene infusión altamente nutritiva, para el aislamiento de microorganismos pocos exigentes; por no ser selectivo, está libre de inhibidores lo que facilita su uso para pruebas de serotipificación, recolección de cepas, etc.

Agar nutritivo al 0,5% de NaCl

Es un medio para el cultivo de microorganismos no fastidiosos que se usa para muestras de aguas y alimentos, el medio contiene extracto de carne que aporta carbohidratos, vitaminas, compuestos de nitrógeno orgánico y sales, también contiene peptona que es fuente de nitrógeno. La adición de 0.5% de NaCl es necesaria para potenciar el crecimiento de *Vibrio cholerae* por su naturaleza halófila.

Prueba de la oxidasa

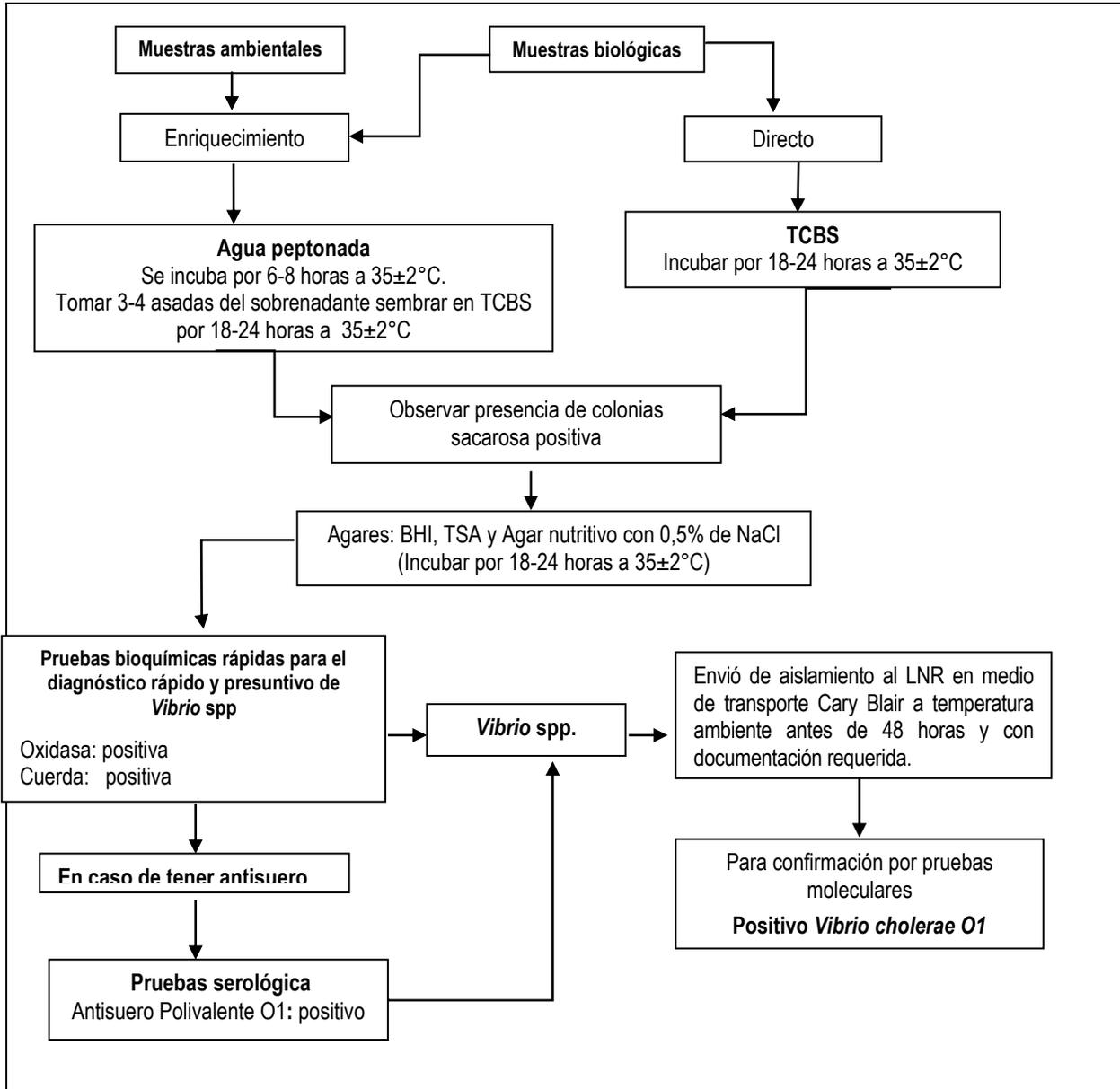
El dehidrocloruro de tetrametil-parafenilendiamina al 1% se emplea para la determinación de la citocromo oxidasa. Este reactivo actúa como aceptor artificial de electrones sustituyendo al oxígeno. En su estado reducido es incoloro pero en la presencia de la citocromo oxidasa C del microorganismo y el oxígeno atmosférico se oxida formando el azul de indofenol.

Prueba de la cuerda

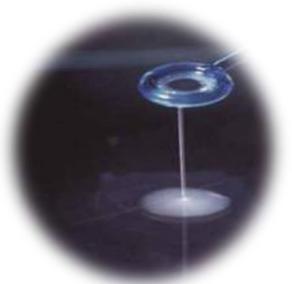
Esta prueba se realiza para diferenciar el género *Vibrio* de otros géneros como *Plesiomonas* y *Aeromonas*. La actividad lítica del ácido desoxicólico sobre la pared de los *Vibri*os favorece la liberación del ADN que al contacto con el ácido desoxicólico forma una suspensión adherente o mucóide.

Procesamiento de coprocultivo para el diagnóstico de *Vibrio cholerae*

Diagrama de flujo para identificación de *Vibrio cholerae*



Características macroscópicas de pruebas

		
Agar TCBS: colonia sacarosa positiva ^a	Prueba de la oxidasa: positiva ^b	Prueba de la cuerda: positiva ^b

Imágenes: ^a Fuente Grupo Microbiología INS; ^b Fuente Perilla, M. J. (2003). Manual de laboratorio para la identificación y prueba de susceptibilidad a los antimicrobianos de patógenos bacterianos de importancia para la salud pública en el mundo en desarrollo.

Reacciones Bioquímicas

En las tablas 3 y 4 se muestran las reacciones bioquímicas que son necesarias para la identificación de *Vibrio cholerae*, no obstante es obligatorio el uso del antisuero polivalente O1 para confirmar *V. cholerae* O1 (cólera pandémico); en caso de no tener los antisueros el aislamiento presuntivo se remite al laboratorio de referencia.

Tabla 3. Pruebas bioquímicas para diferenciar a *Vibrio cholerae* de otros géneros y especies.

PRUEBA	Microorganismos						
	<i>Vibrio cholerae</i>	<i>Vibrio mimicus</i>	Vibrios halophilicos	<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Aeromonas veronii</i>	<i>Plesiomonas shigelloides</i>	Enterobacteriaceae
KIA	K/A	K/A	V	V	K/AG	K/A	V
TSI 1% NaCl	A/A	K/A	V	V	A/AG	K/A	V
Cuerda	+	+	+	-	-	-	-
Oxidasa	+	+	+	+	+	+	-
Gas de glucosa	-	-	-	+	+	-	V
Sacarosa	+	-	V	V	+	-	V
Lisina 1% NaCl	+	+	V	V	+	+	V
Arginina 1% NaCl	-	-	V	+	-	+	V
Ornitina 1% NaCl	+	+	V	-	+	+	V
VP 1% NaCl	V	-	V	V	+	-	V
Crecimiento en 0% de NaCl	+	+	-	+	+	+	+
Crecimiento en 1% de NaCl	+	+	+	+	+	+	+

V: Reacción variable, a: *V.parahaemolyticus*, *V.cincinnatiensis*, y *V.damsei* dan reacciones variables, b: *V.furnissi* y *V damsei* son variables para gas de glucosa, c: Base de caldo nutritivo (Difco)

Adaptación de: Métodos de laboratorio para el diagnóstico de *Vibrio cholerae*, CDC/OPS 1999

Tabla 4. Diferenciación de las especies del género *Vibrio*

Reacciones de la especie en grupo	Especie	Sacarosa	Crecimiento en NaCl		Oxidasa	Fermentación del <i>myo</i> -inositol	Dihidrolasa de arginina (Moller 1% de NaCl)	Descarboxilasa de lisina (Moller 1% de NaCl)	Descarboxilasa de ornitina (Moller 1% de NaCl)	Voges Proskauer (1% de NaCl;Barrit)	Producción de gas apartir de <i>D</i> -Glucosa	Motilidad 36°C	Celobiosa	<i>D</i> -sorbitol
			0%	1%										
Grupo 1	<i>V. cholerae</i>	100	100	100	100	0	0	99	99	75	0	99	8	1
	<i>V. mimicus</i>	0	100	100	100	0	0	100	99	9	0	98	0	0
Grupo 2	<i>V. metschnikovii</i>	100	0	100	0	40	60	35	0	96	0	74	9	45
Grupo 3	<i>V. cincinnatiensis</i>	100	0	100	100	100	0	57	0	0	0	86	100	0
Grupo 4	<i>V. hollisae</i>	0	0	99	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	<i>V. damsela</i>	5	0	100	95	0	95	50	0	95	10	25	0	0
Grupo 5	<i>V. fluvialis</i>	100	0	99	100	0	93	0	0	0	0	70	30	3
	<i>V. furnissi</i>	100	0	99	100	0	100	0	0	0	100	89	11	0
Grupo 6	<i>V. alginolyticus</i>	99	0	99	100	0	0	99	50	95	0	99	3	1
	<i>V. parahaemolyticus</i>	1	0	100	100	0	0	100	95	0	0	99	5	1
	<i>V. vulnificus</i> biogrupo 1	15	0	99	100	0	0	99	55	0	0	99	99	0
	<i>V. harveyi</i>	50	0	100	100	0	0	100	0	50	0	0	50	0

Adaptación de: Métodos de laboratorio para el diagnóstico de *Vibrio cholerae*, CDC/OPS 1994

Serotipificación de *Vibrio cholerae*

Consiste en una prueba serológica de tipo antígeno (microorganismo) anticuerpo (anti-suero). Esta reacción in vitro produce la formación de grumos macroscópicos denominada aglutinación. La reacción homóloga deseada es rápida, de unión fuerte (alta afinidad) y no disociativa (alta avidéz) Figura 1.

Figura 1. Serotipificación de *Vibrio cholerae*

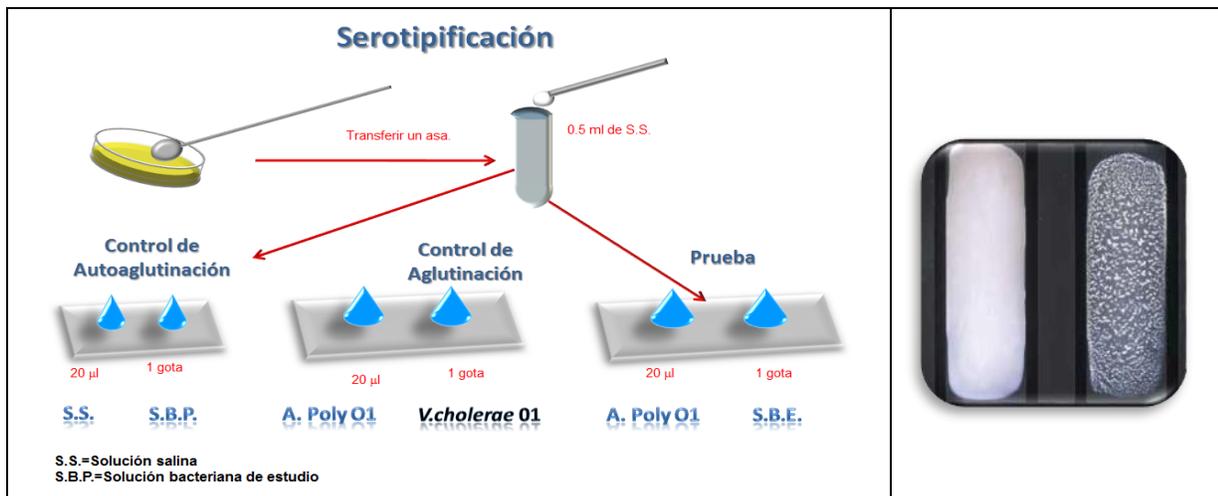


Imagen: fuente Grupo Microbiología INS

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 LSPD.

4 VIGILANCIA DE LOS AGENTES INFECCIOSOS *Vibrio cholerae*

La vigilancia de agente etiológico *Vibrio cholerae*, consiste en identificar y describir su circulación en variables relacionadas con sus características genotípicas, su estacionalidad y los sitios en donde circula con el fin de suministrar información que permita orientar las acciones de prevención en especial primaria y secundaria así como estrategias de control.

De igual manera se definirán indicadores que permitirán resumir estos aspectos y publicarlos en forma periódica en informes técnicos así como la construcción de repositorios institucionales donde fácilmente se puedan obtener los microdatos y permitir su uso por la comunidad científica, médica, académica, administrativa del sistema de salud y el público en general”.

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

Funciones del Laboratorio Nacional de Referencia (LNR)

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

- El laboratorio del Grupo de Microbiología del INS es el única entidad que podrá confirmar la circulación *Vibrio cholerae* toxigenico en el país.
- Una vez que se haya confirmado la presencia de cólera, **cada caso nuevo se confirma por clínica de acuerdo con la definición de caso¹**.
- Una vez se detecte la presencia de cólera en el país se vigilara su circulación de acuerdo a las siguientes competencias:

Nivel	Competencia
Nacional	INS
Departamental y municipal	LSPD

- El Grupo de Microbiología, apoyará al LSPD con asesoría técnica, medios de transporte y medio de cultivo en el caso de brotes o cuando se presente emergencias.
- Fortalecer la red nacional de laboratorios para la identificación de agentes bacterianos causantes de EDA.
- Realizar el control de calidad de la red a través del programa de evaluación del desempeño a los LSPD.

¹ <http://www.who.int/topics/cholera/control/es/index1.html>

Funciones del laboratorio de Salud Pública (LSP)

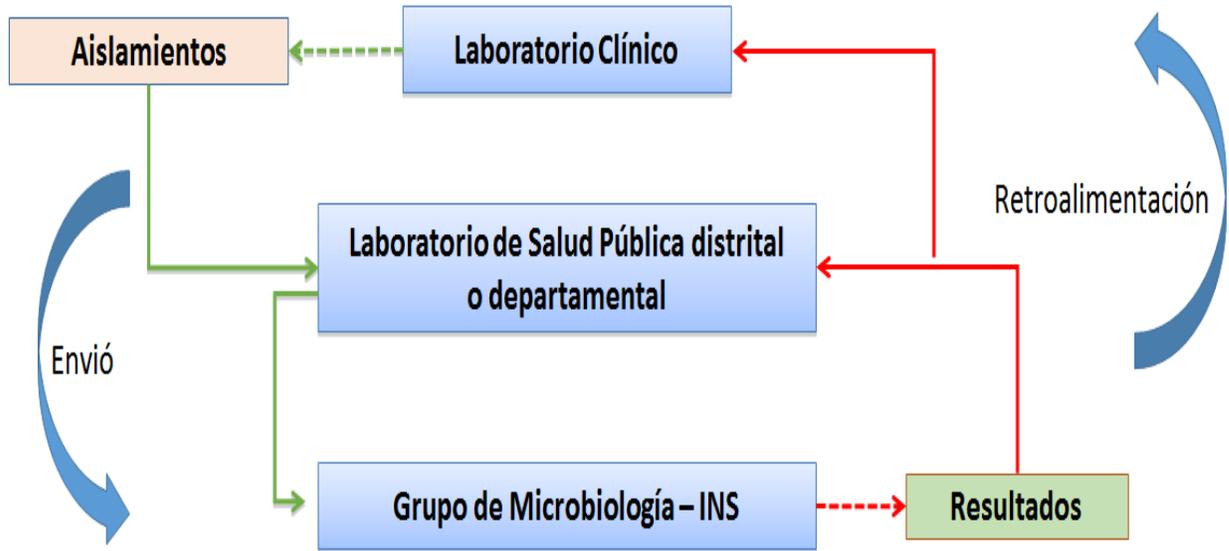
- Recibir, confirmar y remitir al Grupo de Microbiología del INS, los aislamientos de *Vibrio cholerae* obtenidos a partir de materia fecal, junto con la documentación requerida debidamente diligenciada.
- Participar en el programa de control de calidad que realiza el Grupo de Microbiología de la Subdirección Laboratorio Nacional de Referencia (SRNL).
- Mantener una base de datos actualizada con los aislamientos recibidos por municipios y los resultados luego del procesamiento de los mismos.
- 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.
- En caso de no poder realizar el procedimiento de identificación de acuerdo al protocolo establecido, solicitara apoyo diagnóstico y remitirá la muestra en medio de transporte adecuado, acompañado de la documentación requerida completamente diligenciado al Laboratorio del Grupo de Microbiología del INS.
- Verificar la capacidad diagnóstica de su red (insumos necesarios para recolección, envío, transporte y diagnóstico de muestras sospechosas de cólera por parte de las IPS), de acuerdo con la presente guía, siguiendo las especificaciones técnicas y normativas para el envío (utilizando el sistema de triple empaque).

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

- El laboratorio clínico debe asegurarse que la muestra haya sido tomada correctamente, procesar la muestra de acuerdo al protocolo establecido, asegurándose de guardar un duplicado del aislamiento obtenido para posibles eventualidades o tener la posibilidad de confirmar los resultados o realizar pruebas adicionales.
- En caso de no poder realizar el procedimiento de identificación de acuerdo al protocolo establecido, solicitara apoyo diagnóstico y remitirá la muestra en medio de transporte adecuado, acompañado de la documentación requerida y completamente diligenciada al LSPD.
- Hacer la notificación del caso según 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 cólera.

El flujo de la información se genera desde el laboratorio de la IPS (pública o privada) hacia el LSPD y de este a nivel Nacional, y desde el nivel nacional se envía retroalimentación a los departamentos, de los departamentos a las IPS, figura 2.

Figura 2. Sistema de referencia y contra referencia



REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Weekly Epidemiological Record, World Health Organization. 23-sep-2016; 91 (38): 432-440 <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/250142/1/WER9138.pdf>. (Consultado 2017-06-02)
2. Versalovic, J. American Society for Microbiology (2011) Manual of clinical microbiology.
3. Manual of Clinical Microbiology. Seven Editions. PR Murray, EJ Baron, MA Tenover, RH Tenover (eds). American Society for Microbiology. Washington D.C.2001.
4. Caffer, M. I., Terragno, R., Fonzález, F. A., Viñas, M. R., Pichel, M., & Binsztein, N. (2007). Aislamiento, identificación y caracterización de *Vibrio cholerae*.
5. Centers for Disease Control and Prevention Atlanta, Laboratory Methods for Diagnosis of Epidemic Dysentery and Cholera, Georgia 1999.
6. Pagina Cólera OMS-OPS (Consultada 2017-06-05). http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=category&layout=blog&id=3119&Itemid=3467&lang=es
7. Communication for behavioural impact (COMBI): A toolkit for behavioural and social communication in outbreak response. World Health Organization, & UNICEF. 2012; 41-51.
8. Van Loon FP, Clemens JD, Chakraborty J, Rao MR, Kay BA, Sack DA, Yunus M, Ali M, Svennerholm AM, Holmgren J. Field trial of inactivated oral cholera vaccines in Bangladesh: results from 5 years of follow-up. *Vaccine* 1996; 14(2):162-66.
9. Thiem VD, Deen JL, von Seidlein L, Canh DG, Anh DD, Park JK et.al. Long-term effectiveness against cholera of oral killed whole-cell vaccine produced in Vietnam. *Vaccine* 2006; 24:4297-4303.
10. III Curso Avanzado WHO Global Foodborne Infections Network. (WHO- GFN). Diagnóstico de *Vibrio cholerae* y *Salmonella* spp. por PCR. Inversión de fase en *Salmonella* spp. Año 2010. Servicio Enterobacterias. Departamento Bacteriología. Instituto nacional de enfermedades infecciosas.
11. Perilla, M. J. (2003). Manual de laboratorio para la identificación y prueba de susceptibilidad a los antimicrobianos de patógenos bacterianos de importancia para la salud pública en el mundo en desarrollo; *Haemophilus influenzae*, *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Salmonella* serotipo Typhi, *Shigella* y *Vibrio cholerae*.
12. DE, T. Y. E. D. M., & Estudios, H. P. Diagnósticos de *V. cholerae*. (PROCED ALA/93/25), Quito, Ecuador. 2010