



Centro Nacional de Referencia de Bacteriología

**Guía para la vigilancia de laboratorio de enfermedades bacterianas
y otros eventos de importancia en salud pública**

Elena Campos, Hilda Ma. Bolaños, Grettel Chanto, Antonieta Jiménez,
María Teresa Acuña, Francisco Duarte

Cita sugerida: Campos E, Bolaños H, Chanto G, Jiménez A, Acuña MT, Duarte F. Guía para la vigilancia de laboratorio de enfermedades bacterianas y otros eventos de importancia en salud pública: Tres Ríos, Costa Rica: INCIENSA, 2010.

Tres Ríos, Costa Rica

Mayo 2010

Contenidos

Tema tratado	Páginas
I. Introducción	4 - 5
II. Agentes o eventos a vigilar	
1. Enteropatógenos bacterianos causantes de diarreas, intoxicaciones alimentarias y otras infecciones de importancia en salud pública transmitidas por alimentos y su resistencia a los antibióticos	6 - 7
a. Diagnóstico de agentes causantes de diarrea e intoxicaciones alimentarias	
▪ Casos asociados a brotes	8 - 9
▪ Defunciones con antecedentes de diarrea, vómito y/o deshidratación	10
▪ Manipuladores de alimentos	11
▪ Análisis microbiológico de alimentos sospechosos	12
▪ Instrucciones para la recolección y transporte de muestras de alimentos relacionadas a brotes	13 - 14
b. Confirmación / tipificación de enteropatógenos, con énfasis en:	
▪ <i>Salmonella</i>	15 - 17
▪ <i>Shigella</i>	18
▪ <i>Vibrio cholerae</i> O1 y O139	19
▪ <i>Escherichia coli</i> O157:H7	20 – 21
▪ Otros enteropatógenos	22
c. Confirmación / tipificación de <i>Listeria monocytogenes</i>	23 - 24
d. Diagnóstico de brucelosis humana	25 - 26
2. Bacterias responsables de neumonías, meningitis y otras infecciones invasivas y su resistencia a los antibióticos, con énfasis en:	27 - 28
▪ <i>Neisseria meningitidis</i>	29
▪ <i>Streptococcus pneumoniae</i>	30
▪ <i>Haemophilus influenzae</i>	30
3. Agentes causantes de tos ferina	31 - 32
4. Resistencia a los antibióticos en gérmenes comunitarios y nosocomiales	33 - 36
I. Anexos	
Anexo 1. Servicios de diagnóstico y confirmación diagnóstica / tipificación que realiza el CNR-Bacteriología	37 - 41
Anexo 2. Boleta de notificación colectiva VE-02	42
Anexo 3. Boleta de notificación individual VE-01	43
Anexo 4. Embalaje y envío de material infeccioso al INCIENSA	44 - 45
Anexo 5. Boleta "Para diagnóstico de situación inicial"	46 - 47
Anexo 6. Boleta de notificación de brotes	48 - 50
Anexo 7. Obtención de muestras para estudio de <i>Bordetella pertussis</i>	51

Glosario de siglas

BLEE	β -lactamasa de espectro extendido
CA-MRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> meticilina resistente de la comunidad
CCSS	Caja Costarricense de Seguro Social
CIM	Concentración inhibitoria mínima
CEI-10	Clasificación Internacional de Enfermedades, 10ª revisión
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
CNRB:	Centro Nacional de Referencia en Bacteriología, INCIENSA
ETA	Enfermedad transmitida por alimentos
HA-MRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> meticilina resistente intrahospitalario
hVISA	<i>Staphylococcus aureus</i> vancomicina intermedio heterogéneo
INCIENSA	Instituto Costarricense de Investigación y Enseñanza en Nutrición y Salud
MBL	Metalo- β -lactamasa
OMS	Organización Mundial de la Salud
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa
PFGE	Electroforesis de campo pulsado
RNLB	Red Nacional de Laboratorios de Bacteriología
RBT	Aglutinación de Rosa de Bengala en lámina
RSI	Reglamento Sanitario Internacional
SAT	Aglutinación en microplaca
VISA	<i>Staphylococcus aureus</i> vancomicina intermedio
VRE	<i>Enterococcus</i> vancomicina resistente
VRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> vancomicina resistente

I. Introducción

El Centro Nacional de Referencia en Bacteriología (CNRB) del Instituto Costarricense de Investigación Enseñanza en Nutrición y Salud (INCIENSA), es el responsable de coordinar a nivel nacional la vigilancia de laboratorio de enfermedades bacterianas de importancia en la salud pública, como son: las diarreas e intoxicaciones alimentarias y otras enfermedades transmitidas por alimentos (ETA), meningitis, infecciones respiratorias e infecciones bacterianas invasivas, la resistencia a los antibióticos, tanto en gérmenes nosocomiales como comunitarios, así como de enfermedades emergentes de origen bacteriano, incluyendo agentes relacionados al bioterrorismo y otros sujetos a Reglamento Sanitario Internacional (RSI-2005).

Para ello, el CNRB coordina la Red Nacional de Laboratorios de Bacteriología (RNLB), integrada por más de 75 laboratorios, incluyendo clínicos y ambientales, tanto públicos como privados.

Dentro de la RNLB, la competencia de cada uno de los participantes en la vigilancia, se ha organizado de manera que se logre mayor equidad en el acceso a un diagnóstico oportuno y de calidad para la toma de decisiones, tanto terapéuticas, como de prevención y control de eventos prioritarios de salud pública. A la vez, gracias al trabajo en redes es posible centralizar en el CNRB aquellos análisis de interés desde la perspectiva de la salud pública y que por su alto grado de complejidad, su costo, o la prevalencia de la enfermedad, no amerita que se realicen en el nivel local (Anexo 1).

El CNRB también brinda capacitación continua a los funcionarios que participan en las redes de vigilancia y en el desarrollo de programas de mejoramiento continuo de la calidad para la RNLB. Además, realiza análisis de la calidad microbiológica de alimentos para investigaciones de brotes ETA y para los programas de regulación del Ministerio de Salud.

Además, el CNRB es el punto focal de país de las redes de vigilancia internacional del área de su competencia, lo que permite homologar y vincular la vigilancia de país al contexto internacional y dar cumplimiento a los compromisos en el marco del RSI-2005. En el 2009, el CNRB fue designado por la Organización Mundial de la Salud (OMS), como Centro de Excelencia Regional de la Red Global Foodborne Infections para México, Centroamérica y El Caribe de habla hispana, con lo que asume la coordinación de la red regional de laboratorios de salud pública (de clínica humana, veterinaria y alimentos) y su vinculación con los epidemiólogos.

Esta guía tiene el objetivo de facilitar la coordinación entre el CNRB, la RNLB y los establecimientos de salud en el quehacer de la vigilancia de laboratorio de enfermedades bacterianas de importancia en salud pública. El documento está organizado por tipo de enfermedad o evento bajo vigilancia, tomando en cuenta la Clasificación Internacional de Enfermedades (10ª revisión, 1995) y el Decreto de Enfermedades de Notificación Obligatoria (Decreto No. 30945-S, La Gaceta No. 18, lunes 27 de enero de 2003). Incluye una breve descripción del problema de salud bajo vigilancia e indicaciones específicas para la recolección y referencia de muestras o cepas bacterianas de diferentes orígenes al CNRB, de acuerdo a las competencias establecidas.

Para cumplir con su rol coordinador de la vigilancia basada en el laboratorio, el CNRB debe seleccionar, recolectar, analizar, interpretar y comunicar, información y conocimiento actualizado, oportuno y de calidad para la toma de decisiones y para la generación de políticas públicas, orientadas a la promoción de la salud, prevención, tratamiento y control de enfermedades y eventos de importancia en salud pública. Para esta labor, son fundamentales los procesos de **diagnóstico** (que consisten en llevar a cabo los análisis de laboratorio especializados a muestras referidas ya sea por la RNLB o por los establecimientos de salud) y **confirmación / tipificación** (consiste en complementar con análisis especializados de interés para la vigilancia, los diagnósticos establecidos rutinariamente por los laboratorios de la RNLB).

Para que la vigilancia de laboratorio pueda ser de utilidad para la toma de decisiones de prevención, tratamiento y control, es indispensable que las muestras o cepas referidas al CNRB se acompañen de la información clínico epidemiológica correspondiente, preferiblemente en las boletas del INCIENSA diseñadas para tal fin que se indican a continuación, las cuales se pueden obtener en la sección “Boletas y formularios” del sitio web del INCIENSA, cuya dirección es <http://www.inciensa.sa.cr>.

- **Diagnóstico:** Solicitud de Diagnóstico por Centro Nacional de Referencia de INCIENSA
- **Confirmación diagnóstica / tipificación:** Solicitud de Confirmación y/o Tipificación por Centro Nacional de Referencia de INCIENSA
- **Alimentos:** Solicitud de Diagnóstico, Confirmación y/o Tipificación para Análisis Microbiológico de Alimentos por Centro Nacional de Referencia de INCIENSA

Agentes o eventos a vigilar

1. Enteropatógenos causantes de diarreas, intoxicaciones alimentarias y otras infecciones de importancia en salud pública transmitidas por alimentos

Importancia de esta vigilancia: En Costa Rica la enfermedad diarreica aguda constituye un problema de salud pública, siendo la segunda causa de consulta hospitalaria. Por otra parte, entre las enfermedades infecciosas de notificación obligatoria la muerte por diarrea ocupa el segundo lugar después del SIDA. Se estima que aproximadamente el 70% de las diarreas se deben al consumo de alimentos y agua contaminados.

La enfermedad diarreica de origen infeccioso es causada por agentes tanto bacterianos, como virales y parasitarios. Los mecanismos mediante los cuales estos agentes logran producir el cuadro diarreico son muy variados; sin embargo, la mayor parte de la sintomatología que presenta el paciente, responde en gran medida a los factores de virulencia del patógeno involucrado. Sin embargo, se debe tener presente que diferentes patógenos pueden producir un cuadro clínico similar, por ejemplo, las diarreas secretoras pueden ser causadas por rotavirus, *Escherichia coli* enterotoxigénica, *Vibrio cholerae*, otros vibrios, *Aeromonas*, etc., mientras que los cuadros disenteriformes se asocian a *Shigella*, *Campylobacter* y *Escherichia coli* enteroinvasiva, entre otros.

De ahí que los laboratorios tienen un papel fundamental en la vigilancia de las diarreas, ya que para determinar el agente etiológico es indispensable el análisis microbiológico. Esto permite determinar la circulación de patógenos prevalentes, así como detectar y dar respuesta a la emergencia y re-emergencia de microorganismos. De igual manera, la identificación del agente etiológico es una información de apoyo a la investigación epidemiológica de brotes, para encaminar la búsqueda de las fuentes de infección y mecanismos de transmisión.

Los laboratorios además deben mantener una vigilancia activa sobre la aparición de nuevos patrones de resistencia a los antimicrobianos en estos enteropatógenos, con el fin de concebir planes de tratamiento exitosos para cada paciente. Además, desde la perspectiva de salud pública, cuando esta información es consolidada y analizada, es de mucho valor para las autoridades de salud en la elaboración de normas de tratamiento empírico y nuevas políticas sobre el uso de antimicrobianos.

En Costa Rica, los casos de diarrea e intoxicaciones alimentarias, se deben notificar al Ministerio de Salud, en la boleta colectiva VE-02 (Anexo 2).

Además, los casos de diarrea e intoxicaciones alimentarias debidos a algunos agentes infecciosos específicos también están incluidos en el Decreto de Notificación Obligatoria (Decreto No. 30945-S, La Gaceta No. 18, lunes 27 de enero de 2003), por lo que **el laboratorio deberá realizar la notificación correspondiente al Ministerio de Salud en la boleta individual VE-01** (Anexo 3), como se indica en los cuadros que se presentan más adelante.

Considerando lo anterior, en el CNRB se realiza:

- a. **Diagnóstico de agentes causantes de diarrea e intoxicaciones alimentarias:** El diagnóstico rutinario de las diarreas lo realizan los laboratorios de la RNLB; sin embargo, el CNRB funciona como “*laboratorio de diagnóstico*”, principalmente cuando por la ocurrencia de un brote de diarrea o intoxicación alimentaria, se genera un número inusual de muestras que rebasa la capacidad de respuesta del nivel local. Para esto, el CNRB recibe muestras clínicas (de pacientes y de manipuladores de alimentos) y las analiza utilizando metodologías para el diagnóstico de enteropatógenos, que por su baja prevalencia, costo o nivel de complejidad aún no están disponibles en el nivel local, como son la determinación de factores de virulencia de *Escherichia coli*, la detección de toxinas de *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus aureus* y *Bacillus cereus* y agentes virales como rotavirus y norovirus, los que frecuentemente se asocian a brotes. El CNRB además realiza análisis microbiológicos de alimentos y ambiente, para determinar posibles fuentes o vehículos de transmisión, a fin de instaurar de manera oportuna las medidas de prevención y control.

El CNRB también apoya el **diagnóstico de enteropatógenos en muestras *post-mortem* de de fallecidos con antecedentes de diarrea, vómito, deshidratación.**

- b. **Confirmación y tipificación de los enteropatógenos:** corresponde a la confirmación, tipificación (serológica y/o molecular) y vigilancia de la sensibilidad a los antibióticos de los enteropatógenos que rutinariamente diagnostican los laboratorios de la red, asociados a diarreas, intoxicaciones alimentarias y otros cuadros (fiebres, septicemias, abscesos, entre otros).

Diagnóstico de agentes causantes de diarrea e intoxicaciones alimentarias

Una vez reconocida la ocurrencia de un brote de diarrea en una comunidad o en un establecimiento, el personal de salud debe proceder a recolectar con carácter de urgencia y previo a la administración de antibióticos entre 10 y 20 muestras de heces de pacientes que presenten los signos y síntomas representativos del problema. Una vez confirmado un patógeno asociado a un brote, las muestras para laboratorio se deben recolectar de manera selectiva para no saturar estos servicios. Para esto, se recomienda trabajar con una definición de caso y tomar muestras para laboratorio de casos que no sean evidentemente asociados, a fin de detectar nuevos focos de la enfermedad.

En brotes de diarrea	Muestra a referir al INCIENSA	Exámenes que realiza el INCIENSA	Observaciones
<p>Casos asociados al brote</p>	<p>Heces diarreicas para coprocultivo, recolectadas en la etapa aguda de la enfermedad (en los primeros días de iniciada la sintomatología y previo a la administración de antimicrobianos), siguiendo las medidas de bioseguridad recomendadas (Anexo 4).</p> <p>Utilice un recipiente estéril de boca ancha con tapa hermética a prueba de derrames, que no contenga desinfectantes ni residuos de detergentes. No se debe emplear papel absorbente o muestras de heces de pañales, porque pueden contener residuos de desinfectantes u otros contaminantes.</p> <p>Las muestras se deben transportar al laboratorio en el menor tiempo posible, a 4-8°C (NO SE DEBEN CONGELAR). Lo ideal es obtener una muestra fecal fresca, en lugar de un hisopado rectal, pero si no es posible, se puede enviar un hisopo fecal colocado en medio de transporte Cary Blair a temperatura ambiente; teniendo presente que esta muestra limita la búsqueda de patógenos.</p> <p>En general las muestras clínicas conteniendo probables agentes bacterianos no se deben almacenar por más de 24 horas, mientras que las que contienen agentes virales pueden permanecer almacenadas por 2 – 3 días a 4°C.</p> <p>Cada muestra enviada al CNRB se debe acompañar con la boleta Solicitud de Diagnóstico por Centro Nacional de Referencia de INCIENSA (disponible en la página web del INCIENSA). Junto con las muestras, para cada brote se debe enviar al CNRB la Boleta Para Diagnóstico de Situación Inicial (Anexo 5).</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Estudio de heces, que incluye frotis y tinciones, coprocultivo, estudio por rotavirus, norovirus y análisis coproparasitológico (por inter-consulta al Centro Nacional de Referencia de Parasitología de INCIENSA) • Diagnóstico de enterotoxinas bacterianas por métodos inmunológicos • Detección y caracterización de factores de virulencia de enteropatógenos por métodos moleculares (reacción en cadena de la polimerasa-PCR) • Determinación de la relación genética entre aislamientos bacterianos de diferentes orígenes, por métodos moleculares (electroforesis de campo pulsado-PFGE) <p>NOTA: La búsqueda de los diferentes enteropatógenos dependerá de las características de la muestra y de la información clínico-epidemiológica contenida en la boleta de solicitud de análisis.</p>	<p>Los brotes de diarrea e intoxicaciones son sujeto de notificación obligatoria inmediata al Ministerio de Salud y a las comisiones locales de vigilancia epidemiológica, a fin de realizar la investigación epidemiológica y tomar las medidas de prevención y control correspondientes (Anexo 6).</p> <p>Si el laboratorio clínico identifica <i>Shigella</i>, <i>Salmonella</i>, <i>Vibrio cholerae</i> O1 u O139, en las muestras de pacientes, se debe realizar la notificación de cada caso en la boleta individual VE-01 (Anexo 3).</p>

En el caso de sospecha de brotes de cólera o que se desee conocer la exposición previa de una población a este agente, en el CNRB se dispone de pruebas serológicas, como se indica a continuación:

Agente o evento bajo vigilancia ¹	Muestra para análisis en laboratorio clínico (diagnóstico)	Muestra para referir al CNRB	Exámenes que realiza el INCIENSA	Observaciones
<p>A00 Cólera, incluye: A00.1 Cólera debido a <i>Vibrio cholerae</i> O1, biotipo El Tor</p>	<p>Sangre sin anticoagulante para estudio serológico</p>	<p>Suero agudo (recolectado en el período agudo de la enfermedad) y convaleciente (obtenido 15 a 21 días después de iniciados los síntomas), siguiendo las medidas de bioseguridad recomendadas (Anexo 4). Las muestras se deben acompañar con la Boleta Solicitud de Diagnóstico por Centro Nacional de Referencia de INCIENSA (disponible en la página web de INCIENSA).</p>	<p>Diagnóstico serológico de la infección por <i>V. cholerae</i> O1:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Determinación de anticuerpos vibriocidas 	<p>Este análisis se realiza en caso de pacientes en los que no fue posible obtener una muestra de heces adecuada para cultivo y/o en apoyo a las investigaciones de brotes de cólera.</p>

Contactos en el CNR-Bacteriología:

Dra. Hilda Ma. Bolaños, Responsable,
 Laboratorio de Enteropatógenos
 e-mail: hbolanos@inciensa.sa.cr
 Teléfono: (506) 2279 99 11, ext 126

Dra. Elena Campos, Coordinadora,
 Centro Nacional de Referencia de Bacteriología
 e-mail: ecampos@inciensa.sa.cr
 Teléfono: (506) 2279 99 11, ext 126

¹ Organización Panamericana de la Salud / Organización Mundial de la Salud. Clasificación estadística internacional de enfermedades y problemas relacionados con la salud. – 10ª revisión. Washington, D.C.:OPS, © 1995.

Apoyo diagnóstico del CNRB a la investigación de defunciones con antecedentes de diarrea, vómito y/o deshidratación

Evento bajo vigilancia	Muestra a referir al INCIENSA	Exámenes que realiza el INCIENSA	Observaciones
<p>Defunciones con antecedentes de diarrea, vómito, deshidratación</p>	<p>Muestras <i>post-mortem</i>: contenido intestino delgado, contenido intestino grueso, hisopado rectal en medio de transporte Cary Blair, siguiendo las medidas de bioseguridad recomendadas (Anexo 4).</p> <p>Utilice un recipiente estéril de boca ancha con tapa hermética a prueba de derrames, que no contenga desinfectantes ni residuos de detergentes.</p> <p>En general las muestras clínicas conteniendo probables agentes bacterianos no se deben almacenar por más de 24 horas, mientras que las que contienen agentes virales pueden permanecer almacenadas por 2 – 3 días a 4°C.</p> <p>Las muestras se deben acompañar con la Boleta Solicitud de Diagnóstico por Centro Nacional de Referencia de INCIENSA (disponible en la página web de INCIENSA) y con el Informe de Defunción (Filiación del fallecido) correspondiente.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Estudio de heces, que incluye frotis y tinciones, coprocultivo, estudio por rotavirus, norovirus y análisis coproparasitológico (por interconsulta con el Centro Nacional de Referencia de Parasitología de INCIENSA) • Diagnóstico molecular de enteropatógenos por reacción en cadena de la polimerasa (PCR) • Diagnóstico de enterotoxinas bacterianas por métodos inmunológicos 	<p>En vista de que la muerte por diarrea se considera evitable, toda defunción por esta causa debe ser investigada.</p> <p>Por esto, toda muerte con antecedentes de diarrea con agente identificado debe ser comunicada a la Dirección Regional correspondiente y a la Dirección de Vigilancia de la Salud del Min. Salud. En el caso de defunciones en menores de un año de edad también se notifica a las Direcciones de Vigilancia de la Salud y de Garantía de Acceso del Min. Salud.</p> <p>Toda defunción en la que se confirme <i>Shigella</i>, <i>Salmonella</i>, <i>Vibrio cholerae</i> O1 u O139, se debe notificar al Ministerio de Salud en la boleta individual VE-01 (Anexo 3).</p>

Contactos en el CNR-Bacteriología

Dra. Hilda Ma. Bolaños, Responsable,
Laboratorio de Enteropatógenos
e-mail: hbolanos@inciensa.sa.cr
Teléfono: (506) 2279 99 11, ext 126

Dra. Elena Campos, Coordinadora,
Centro Nacional de Referencia de Bacteriología
e-mail: ecampos@inciensa.sa.cr
Teléfono: (506) 2279 99 11, ext 126

Apoyo diagnóstico del CNRB a la investigación de brotes de diarrea e intoxicaciones alimentarias

En brotes de diarrea	Muestra a referir al INCIENSA	Exámenes que realiza el INCIENSA	Observaciones
<p>Manipuladores de alimentos</p>	<p>En vista de que los manipuladores de alimentos pueden ser sintomáticos (casos) o asintomáticos (portadores), es fundamental anotar esta información en la boleta. Por lo anterior, la muestra a referir para coprocultivo puede ser diarreica o formada, recolectada en recipientes estériles de boca ancha con tapa hermética a prueba de derrames, que no contengan desinfectantes ni residuos de detergentes. Las muestras se deben transportar al laboratorio en el menor tiempo posible, en refrigeración (4 - 8 °C), NO SE DEBEN CONGELAR. De lo contrario, se deben colocar en un medio de transporte (Cary Blair y mantener a temperatura ambiente); sin embargo, este tipo de muestra limita la búsqueda de patógenos.</p> <p>Cada muestra enviada al CNRB se debe acompañar con la boleta Solicitud de Diagnóstico Tipificación por Centro Nacional de Referencia de INCIENSA (disponible en la página web de INCIENSA).</p> <p>Para la recolección de otras muestras de los manipuladores (uñas, hisopado faríngeo, lesiones en piel), se debe coordinar con el responsable en el CNRB.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Estudio de heces, que incluye frotis y tinciones, coprocultivo, estudio por rotavirus, norovirus y análisis coproparasitológico (por interconsulta al Centro Nacional de Referencia de Parasitología de INCIENSA) • Diagnóstico de enterotoxinas bacterianas por métodos inmunológicos • Detección y caracterización de factores de virulencia de enteropatógenos por métodos moleculares (reacción en cadena de la polimerasa-PCR) • Determinación de la relación genética entre aislamientos bacterianos de diferentes orígenes, por métodos moleculares (electroforesis de campo pulsado-PFGE) 	<p>Si se confirma <i>Shigella</i>, <i>Salmonella</i>, <i>Vibrio cholerae</i> O1 u O139, en un manipulador sintomático, se debe realizar la notificación correspondiente en la boleta individual VE-01 (Anexo 3).</p> <p>Los manipuladores de alimentos positivos por alguno de estos agentes deben recibir el tratamiento o profilaxis recomendado. Además, se deberán separar de su cargo (incapacitar) hasta tanto se negativice el coprocultivo.</p>

Contactos en el CNRB-Bacteriología

Dra. Hilda Ma. Bolaños, Responsable,
Laboratorio de Enteropatógenos
e-mail: hbolanos@inciensa.sa.cr
Teléfono: (506) 2279 99 11, ext 126

Dra. Elena Campos, Coordinadora,
Centro Nacional de Referencia de Bacteriología
e-mail: ecampos@inciensa.sa.cr
Teléfono: (506) 2279 99 11, ext 126

Apoyo diagnóstico del CNRB a la investigación de brotes de diarrea e intoxicaciones alimentarias

En brotes de diarrea	Muestra a referir al INCIENSA	Exámenes que realiza el INCIENSA	Observaciones
Alimentos sospechosos	<p>Muestras de alimentos sospechosos (ver instrucciones de recolección y transporte de muestras de alimentos en los cuadros a continuación).</p> <p>En el caso de brotes de diarrea e intoxicaciones alimentarias, las muestras de alimentos se procesan únicamente cuando se cuenta con evidencia epidemiológica que implique al alimento como sospechoso.</p> <p>Cada una de las muestras se debe acompañar con la Boleta Solicitud de Diagnóstico, Confirmación y/o Tipificación para Análisis Microbiológico de Alimentos por Centro Nacional de Referencia de INCIENSA (disponible en la página web de INCIENSA), en la que se debe realizar una descripción detallada del alimento, así como de las condiciones de almacenamiento al momento del muestreo, fecha de recolección, lugar de muestreo, etc.</p>	<p>1. Presencia de:</p> <ul style="list-style-type: none"> • <i>Salmonella</i> spp. • <i>Listeria monocytogenes</i> • <i>Vibrio cholerae</i> y otros vibrios • <i>Escherichia coli</i> O157:H7 • <i>Escherichia coli</i> patógena • <i>Staphylococcus aureus</i> • <i>Clostridium perfringens</i> • <i>Enterobacter sakazakii</i> <p>2. Diagnóstico molecular de enteropatógenos por reacción en cadena de la polimerasa (PCR)</p> <p>3. Diagnóstico de enterotoxinas bacterianas en alimentos por métodos inmunológicos</p> <p>NOTA: Los análisis a realizar dependerán del tipo de alimento y del agente identificado en las muestras clínicas relacionadas al brote ETA.</p>	<p>Las muestras de alimentos se analizarán en el CNRB únicamente en aquellos casos en los que haya mediado coordinación y valoración previa por el CNRB. Esto con el fin de maximizar los recursos y dirigir adecuadamente la investigación del agente involucrado en los alimentos más sospechosos.</p>

Contactos en el CNR-Bacteriología

Dra. María Teresa Acuña, Responsable,
Laboratorio de Alimentos
e-mail: macuna@inciensa.sa.cr
Teléfono: (506) 2279 99 11, ext 126

Dr. Francisco Duarte, Responsable,
Biología Molecular
e-mail: fduarte@inciensa.sa.cr
Teléfono: (506) 2279 99 11, ext 126

Instrucciones para la recolección y transporte de muestras de alimentos relacionadas a brotes

Tipo de muestra	Cantidad	Tipo de envase	Recolección de muestra	Manejo y transporte
<p>Alimentos preparados listos para consumir (pueden ser sobras de los alimentos servidos, ya sea que se consumen crudos o cocinados)</p>	<p>Mínimo 100 g o 100 ml de cada uno de los alimentos</p> <p>NOTA: el análisis de alimentos implica la destrucción de la muestra. Por lo que si se requiere hacer varios análisis a partir de un mismo alimento se recomienda recolectar la mayor cantidad de muestra posible.</p>	<p>Envase de boca ancha estéril o en bolsas de polietileno pre-esterilizadas o bolsas tipo “zip-lock”</p> <p>Use instrumentos estériles (cucharas, cuchillos, espátulas, pinzas) para obtener las muestras, o en su defecto bolsas tipo “zip-lock”</p>	<p>Se debe dar prioridad a la recolección de muestras de aquellos alimentos que fueron consumidos por las personas que enfermaron:</p> <p>Alimentos sólidos: transfiera porciones de diferentes partes del alimento para asegurar una muestra representativa</p> <p>Alimentos líquidos: homogenice la muestra y transfiera una porción (por lo menos de 100 ml) a un envase estéril.</p> <p>Si los alimentos están congelados, NO LOS DESCONGELE.</p> <p>IMPORTANTE: Rotule adecuadamente las muestras de alimentos, indicando el tipo de alimento muestreado, lugar, fecha y hora de recolección del mismo, responsable del muestreo, condiciones de almacenamiento, temperatura al momento del muestreo.</p>	<p>Cada muestra se debe enviar sellada y empacada de manera que el envase no se abra e introduzca contaminación externa.</p> <p>Las muestras se deben transportar en hielera con gel refrigerante (4 – 8°C), lo más pronto posible luego de su recolección. Si va a emplear hielo como refrigerante, empáquelo en bolsas herméticas, de tal forma que al derretirse, el agua no se introduzca en las bolsas o envases que contienen las muestras de alimentos.</p>

Contactos en el CNR-Bacteriología

Dra. María Teresa Acuña, Responsable,
Laboratorio de Alimentos
e-mail: macuna@inciensa.sa.cr
Teléfono: (506) 2279 99 11, ext 126

Dr. Francisco Duarte, Responsable,
Biología Molecular
e-mail: fduarte@inciensa.sa.cr
Teléfono: (506) 2279 99 11, ext 126

Instrucciones para la recolección y transporte de muestras de alimentos relacionadas a brotes

Tipo de muestra	Cantidad	Tipo de envase	Recolección de muestra	Manejo y transporte
Alimentos enlatados o envasados (pueden ser sobras del alimento en su envase original).	Mínimo 100 g o 100 ml del alimento en su envase original sellado y que corresponda al lote ingerido por los pacientes. Enviar también envases sellados (que no hayan sido abiertos) del alimento del mismo lote.	Tal como se comercializa (frasco, paquete, lata, botella)	Si se trata de un lote del producto es necesario contactar al laboratorio para realizar un muestreo representativo del producto.	<p>Las muestras mantenidas a temperatura ambiente se pueden transportar en esas mismas condiciones; sin embargo, los productos perecederos se deben transportar en hielera con gel refrigerante (4 – 8°C), lo más pronto posible luego de su recolección. Si va a emplear hielo como refrigerante, empáquelo en bolsas herméticas, de tal forma que al derretirse, el agua no se introduzca en las bolsas o envases que contienen las muestras de alimentos.</p> <p>Cada muestra se debe enviar sellada y empacada de manera que el envase no se abra e introduzca contaminación externa.</p>
Agua envasada	Recolecte de acuerdo a la presentación del producto (botella, litro, galón, botellón, etc.).	Envase sellado en su presentación original		
Agua de la red de distribución	<p>La recolección, manipulación y transporte de estas muestras debe ser realizada únicamente por personal debidamente capacitado.</p> <p>En el caso de brotes en que se sospeche transmisión hídrica, es necesario conocer el origen del agua del lugar (Acueductos y Alcantarillados, Municipal, Acueducto Rural). Además, en el caso de viviendas o establecimientos, es necesario verificar si cuenta con pozo y/o tanque de almacenamiento de agua. Lo anterior con el fin de dirigir de manera adecuada el muestreo de las aguas.</p>			

NOTA: para otro tipo de muestreos de alimentos (en bodegas, frigoríficos, por ejemplo), contacte al responsable en el Centro Nacional de Referencia en Bacteriología.

Confirmación / tipificación de enteropatógenos

Agente o evento bajo vigilancia ¹	Muestra para análisis en laboratorio clínico (diagnóstico)	Muestra para referir al CNRB (confirmación / tipificación)	Exámenes que realiza el INCIENSA	Observaciones
<p>A01 Fiebres tifoidea y paratifoidea, incluye</p> <p>A01.0 Fiebre tifoidea (infección debida a <i>Salmonella Typhi</i>)</p> <p>A01.1 Fiebre paratifoidea A</p> <p>A01.2 Fiebre paratifoidea B</p> <p>A01.3 Fiebre paratifoidea C</p> <p>A01.4 Fiebre paratifoidea, no especificada (infección debida a <i>Salmonella Paratyphi</i> sin agente especificado)</p>	<p>Sangre recolectada en pico febril para hemocultivo (preferiblemente durante las dos primeras semanas de iniciados los síntomas), coprocultivo (en la segunda y tercera semana de la enfermedad) médula ósea (de utilidad cuando el paciente ha recibido tratamiento antimicrobiano), orina.</p> <p>Nota importante: la prueba de Widal, que mide respuesta de anticuerpos a los antígenos H y O de <i>Salmonella</i> puede sugerir el diagnóstico, pero <u>los resultados no son definitivos</u> y tienen que ser interpretados con cautela, porque la prueba es poco específica y los títulos de anticuerpos (aún en sueros pareados), también pueden haber aumentado en respuesta a otras infecciones (incluyendo malaria)². Por lo anterior, para confirmar el diagnóstico de fiebre tifoidea o paratifoidea, es necesario aislar e identificar el agente hasta serovariedad.</p>	<p>Bacteria con características bioquímicas propias del género <i>Salmonella</i> spp. en cultivo puro y fresco, inoculada preferiblemente en agar tripticasa soya, agar nutritivo, agar semisólido o en algún medio de transporte (ejemplo Cary Blair).</p> <p>Las cepas se deben transportar preferiblemente a temperatura entre 4 y ≤ 25°C), siguiendo las medidas de bioseguridad recomendadas (Anexo 4).</p> <p>Cada muestra se debe acompañar preferiblemente con la boleta de Solicitud de Confirmación Diagnóstica / Tipificación por Centro de Referencia de INCIENSA (disponible en la página web de INCIENSA).</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Confirmación / tipificación hasta serovariedad • Vigilancia de la resistencia a los antimicrobianos por Kirby Bauer en agar Mueller Hinton 	<p>La fiebre tifoidea y paratifoidea son enfermedades de notificación obligatoria en boleta individual VE-01, tan pronto se establezca el diagnóstico (Anexo 3) y se debe comunicar a la comisión local de vigilancia epidemiológica, ya que la investigación epidemiológica de estos casos se debe realizar dentro de las 48 horas posteriores a la notificación, con el fin de determinar si se trata de un brote e identificar la fuente probable de infección.</p>

Contactos en el CNR-Bacteriología

Dra. María Teresa Acuña, Responsable, Laboratorio de Alimentos
e-mail: macuna@inciensa.sa.cr
Teléfono: (506) 2279 99 11, ext. 126

Dr. Francisco Duarte, Responsable, Biología Molecular
e-mail: fduarte@inciensa.sa.cr
Teléfono: (506) 2279 99 11, ext. 126

Dra. Elena Campos, Coordinadora, Centro Nacional de Referencia de Bacteriología
e-mail: ecampos@inciensa.sa.cr
Teléfono: (506) 2279 99 11, ext. 126

Dra. Antonieta Jiménez, Responsable, Laboratorio de Antimicrobianos
e-mail: ajimenez@inciensa.sa.cr
Teléfono: (506) 2279 99 11, ext. 126

² Organización Mundial de la Salud / USAID / CDC. 2004. Manual de laboratorio para la identificación y prueba de sensibilidad a los antimicrobianos de patógenos bacterianos de importancia para la salud pública en el mundo en desarrollo. WHO/CDS/RMD/2003.6.

Confirmación / tipificación de enteropatógenos

Agente o evento bajo vigilancia ¹	Muestra para análisis en laboratorio clínico (diagnóstico)	Muestra para referir al CNRB (confirmación / tipificación)	Exámenes que realiza el INCIENSA	Observaciones
<p>A02 Otras infecciones debidas a <i>Salmonella</i>, incluye:</p> <p>A02.0 Enteritis debida a <i>Salmonella</i> (salmonelosis)</p>	<p>Heces diarreicas para coprocultivo, recolectadas en la etapa aguda de la enfermedad (en los primeros días de iniciada la sintomatología y previo a la administración de antimicrobianos)</p> <p>Lo ideal es obtener una muestra fecal fresca, en lugar de un hisopado rectal, pero si no es posible, se puede enviar un hisopo fecal colocado en medio de transporte Cary Blair a temperatura ambiente; teniendo presente que esta muestra limita la búsqueda de otros patógenos.</p> <p>Utilice recipiente estéril de boca ancha con tapa hermética a prueba de derrames, que no contengan desinfectantes ni residuos de detergentes.</p> <p>No se debe emplear papel absorbente o muestras de heces de pañales, porque pueden contener residuos de desinfectantes u otros contaminantes</p> <p>Inicie el procesamiento a la mayor brevedad posible, de lo contrario mantenga a 4°C, NO CONGELE</p>	<p>Bacteria con características bioquímicas propias del género <i>Salmonella</i> sp. en cultivo puro y fresco, inoculada preferiblemente en agar tripticasa soya, agar nutritivo, agar semisólido o en algún medio de transporte (ejemplo Cary Blair).</p> <p>Las cepas se deben transportar preferiblemente a temperatura entre 4 y ≤ 25°C), siguiendo las medidas de bioseguridad recomendadas (Anexo 4).</p> <p>Cada muestra se debe acompañar preferiblemente con la boleta de Solicitud de Confirmación Diagnóstica / Tipificación por Centro de Referencia de INCIENSA (disponible en la página web de INCIENSA).</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Confirmación / tipificación hasta serovariedad • Vigilancia de la resistencia a los antimicrobianos por Kirby Bauer en agar Mueller Hinton 	<p>La enteritis debida a <i>Salmonella</i> (salmonelosis) es una enfermedad de notificación obligatoria en boleta VE-01 (Anexo 3) tan pronto se establezca el diagnóstico y se debe comunicar a la comisión local de vigilancia epidemiológica, en vista de que estos agentes la mayor parte de las veces se presentan en brotes.</p> <p>La investigación epidemiológica dentro de las 48 horas posteriores a la notificación, con el fin de determinar si se trata de un brote e identificar la fuente probable de infección.</p>

Contactos en el CNR-Bacteriología

Dra. María Teresa Acuña, Responsable,
Laboratorio de Alimentos
e-mail: macuna@inciensa.sa.cr
Teléfono: (506) 2279 99 11, ext. 126

Dr. Francisco Duarte, Responsable,
Biología Molecular
e-mail: fduarte@inciensa.sa.cr
Teléfono: (506) 2279 99 11, ext. 126

Dra. Elena Campos, Coordinadora,
Centro Nacional de Referencia de Bacteriología
e-mail: ecampos@inciensa.sa.cr
Teléfono: (506) 2279 99 11, ext. 126

Dra. Antonieta Jiménez, Responsable,
Laboratorio de Antimicrobianos
e-mail: ajimenez@inciensa.sa.cr
Teléfono: (506) 2279 99 11, ext. 126

Confirmación / tipificación de enteropatógenos

Evento bajo vigilancia según CIE-10 ¹	Muestra para análisis en laboratorio clínico (diagnóstico)	Muestra para referir al CNRB (confirmación / tipificación)	Exámenes que realiza el INCIENSA	Observaciones
<p>A02 Otras infecciones debidas a <i>Salmonella</i>, incluye:</p> <p>A02.1 Septicemia debida a <i>Salmonella</i></p> <p>A02.2 Infecciones localizadas debidas a <i>Salmonella</i> (artritis, enfermedad renal tubulointersticial, meningitis, neumonía, osteomielitis)</p> <p>A02.8 Otras infecciones especificadas como debidas a <i>Salmonella</i> (no incluidas en A02.2)</p> <p>A02.9 Infección debida a <i>Salmonella</i>, no especificada (o sea, las infecciones por <i>Salmonella</i> spp.)</p>	<p>La muestra a analizar dependerá del foco de infección (sangre recolectada en pico febril para hemocultivo, orina, líquido articular, líquido cefalorraquídeo, material de absceso, etc.).</p>	<p>Bacteria con características bioquímicas propias del género <i>Salmonella</i> sp. en cultivo puro y fresco, inoculada preferiblemente en agar tripticosa soya, agar nutritivo, agar semisólido o en algún medio de transporte (ejemplo Cary Blair).</p> <p>Las cepas se deben transportar preferiblemente a temperatura entre 4 y ≤ 25°C), siguiendo las medidas de bioseguridad recomendadas (Anexo 4).</p> <p>Cada muestra se debe acompañar preferiblemente con la boleta de Solicitud de Confirmación Diagnóstica / Tipificación por Centro de Referencia de INCIENSA (disponible en la página web de INCIENSA).</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Confirmación / tipificación hasta serovariedad • Vigilancia de la resistencia a los antimicrobianos por Kirby Bauer en agar Mueller Hinton 	<p>Ninguno de estos cuadros clínicos producidos por <i>Salmonella</i> están incluidos en el decreto de Enfermedades de notificación obligatoria, por lo que no se debe llenar la boleta VE-01. Sin embargo, si son objeto de la vigilancia basada en laboratorio, por lo que los aislamientos deben ser referidos al CNRB para su correspondiente serotipificación y vigilancia de la resistencia a los antibióticos.</p>

Contactos en el CNR-Bacteriología

Dra. María Teresa Acuña, Responsable,
Laboratorio de Alimentos
e-mail: macuna@inciensa.sa.cr
Teléfono: (506) 2279 99 11, ext. 126

Dr. Francisco Duarte, Responsable,
Biología Molecular
e-mail: fduarte@inciensa.sa.cr
Teléfono: (506) 2279 99 11, ext. 126

Dra. Elena Campos, Coordinadora,
Centro Nacional de Referencia de Bacteriología
e-mail: ecampos@inciensa.sa.cr
Teléfono: (506) 2279 99 11, ext. 126

Dra. Antonieta Jiménez, Responsable,
Laboratorio de Antimicrobianos
e-mail: ajimenez@inciensa.sa.cr
Teléfono: (506) 2279 99 11, ext. 126

Confirmación / tipificación de enteropatógenos

Agentes o evento bajo vigilancia ¹	Muestra para análisis en laboratorio clínico (diagnóstico)	Muestra para referir al CNRB (confirmación / tipificación)	Exámenes que realiza el INCIENSA	Observaciones
<p>A03 Shigelosis, incluye:</p> <p>A.03.0 Shigelosis debida a <i>Shigella dysenteriae</i></p> <p>A.03.1 Shigelosis debida a <i>S. flexneri</i></p> <p>A.03.2 Shigelosis debida a <i>S. boydii</i></p> <p>A.03.3 Shigelosis debida a <i>S. sonnei</i></p> <p>A.03.8 Otras shigelosis</p> <p>A.03.9 Shigelosis de tipo no especificado (incluye las infecciones por <i>Shigella</i> spp.)</p>	<p>Heces diarreicas para coprocultivo, recolectadas en la etapa aguda de la enfermedad (en los primeros días de iniciada la sintomatología y previo a la administración de antimicrobianos).</p> <p>Lo ideal es obtener una muestra fecal fresca, en lugar de un hisopado rectal, pero si no es posible, se puede enviar un hisopo fecal colocado en medio de transporte Cary Blair a temperatura ambiente; teniendo presente que esta muestra limita la búsqueda de otros patógenos.</p> <p>Utilice recipiente estéril de boca ancha con tapa hermética a prueba de derrames, que no contengan desinfectantes ni residuos de detergentes. No se debe emplear papel absorbente o muestras de heces de pañales, porque pueden contener residuos de desinfectantes u otros contaminantes.</p> <p>Inicie el procesamiento a la mayor brevedad posible, de lo contrario mantenga a 4°C, NO CONGELE.</p>	<p>Bacteria con características bioquímicas propias del género <i>Shigella</i> sp. en cultivo puro y fresco, inoculada preferiblemente en agar tripticasa soya, agar nutritivo, agar semisólido o en algún medio de transporte (ejemplo Cary Blair).</p> <p>Las cepas se deben transportar preferiblemente a temperatura entre 4 y ≤ 25°C, siguiendo las medidas de bioseguridad recomendadas (Anexo 4).</p> <p>Cada muestra se debe acompañar preferiblemente con la boleta de Solicitud de Confirmación Diagnóstica / Tipificación por Centro de Referencia de INCIENSA (disponible en página web de INCIENSA).</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Confirmación / tipificación hasta serotipo • Vigilancia de la resistencia a los antimicrobianos por Kirby Bauer en agar Mueller Hinton 	<p>Agentes de notificación obligatoria en boleta VE-01 (Anexo 3).</p> <p>En vista de que estas bacterias la mayor parte de las veces se presentan en brotes, es importante realizar la investigación epidemiológica dentro de las 48 horas posteriores a la notificación, con el fin de determinar si se trata de un brote e identificar la fuente probable de infección.</p> <p><i>Shigella</i> también puede producir otros cuadros como infección urinaria, meningitis</p>

Contactos en el CNR-Bacteriología

Dra. Hilda Ma. Bolaños, Responsable,
Laboratorio de Enteropatógenos
e-mail: hbolanos@inciensa.sa.cr
Teléfono: (506) 2279 99 11, ext 126

Dra. Elena Campos, Coordinadora,
Centro Nacional de Referencia de Bacteriología
e-mail: ecampos@inciensa.sa.cr
Teléfono: (506) 2279 99 11, ext 126

Dra. Antonieta Jiménez,
Responsable,
Laboratorio de Antimicrobianos
e-mail: ajimenez@inciensa.sa.cr
Teléfono: (506) 2279 99 11, ext. 126

Confirmación / tipificación de enteropatógenos

Agente o evento bajo vigilancia ¹	Muestra para análisis en laboratorio clínico (diagnóstico)	Muestra para referir al CNRB (confirmación / tipificación)	Exámenes que realiza el INCIENSA	Observaciones
<p>A00 Cólera, incluye:</p> <p>A00.0 Cólera debido a <i>Vibrio cholerae</i> O1, biotipo clásico</p> <p>A00.1 Cólera debido a <i>Vibrio cholerae</i> O1, biotipo El Tor</p> <p>A00.9 Cólera no especificado</p>	<p>Heces diarreicas para coprocultivo, recolectadas en la etapa aguda de la enfermedad (en los primeros días de iniciada la sintomatología y previo a la administración de antimicrobianos)</p> <p>Lo ideal es obtener una muestra fecal fresca, en lugar de un hisopado rectal, pero si no es posible, se puede enviar un hisopo fecal colocado en medio de transporte Cary Blair a temperatura ambiente; teniendo presente que esta muestra limita la búsqueda de patógenos.</p> <p>Utilice recipiente estéril de boca ancha con tapa hermética a prueba de derrames, que no contengan desinfectantes ni residuos de detergentes. No se debe emplear papel absorbente o muestras de heces de pañales, porque pueden contener residuos de desinfectantes u otros contaminantes</p> <p>Inicie el procesamiento a la mayor brevedad posible, de lo contrario mantenga a 4°C, NO CONGELE</p>	<p>Bacteria con características bioquímicas propias del género <i>Vibrio</i> sp. en cultivo puro y fresco, inculada preferiblemente en agar tripticasa soya, agar nutritivo, agar semisólido o en algún medio de transporte (ejemplo Cary Blair).</p> <p>Las cepas se deben transportar preferiblemente a temperatura entre 4 y ≤ 25°C, siguiendo las medidas de bioseguridad recomendadas (Anexo 4).</p> <p>Cada muestra se debe acompañar preferiblemente con la boleta de Solicitud de Confirmación Diagnóstica / Tipificación por Centro de Referencia de INCIENSA (disponible en página web de INCIENSA).</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Diagnóstico rápido utilizando el Cholera SMART • Confirmación / tipificación hasta serotipo • Determinación del gen de la toxina colérica (<i>ctxA</i>) • Vigilancia de la resistencia a los antimicrobianos por Kirby Bauer en agar Mueller Hinton 	<p><i>Vibrio cholerae</i> O1 y O139 son agentes de notificación obligatoria inmediata en boleta VE-01 (Anexo 3), ya que se trata de agentes de estricta vigilancia nacional e internacional.</p> <p>La investigación epidemiológica se debe realizar dentro de las 48 horas posteriores a la notificación, con el fin de determinar si se trata de un brote e identificar la fuente probable de infección.</p>

Contactos en el CNR-Bacteriología

Dra. Hilda Ma. Bolaños, Responsable,
Laboratorio de Enteropatógenos
e-mail: hbolanos@inciensa.sa.cr
Teléfono: (506) 2279 99 11, ext 126

Dra. Elena Campos, Coordinadora,
Centro Nacional de Referencia de Bacteriología
e-mail: ecampos@inciensa.sa.cr
Teléfono: (506) 2279 99 11, ext 126

Dra. Antonieta Jiménez,
Responsable,
Laboratorio de Antimicrobianos
e-mail: ajimenez@inciensa.sa.cr
Teléfono: (506) 2279 99 11, ext. 126

Confirmación / tipificación de enteropatógenos

Agente o evento bajo vigilancia ¹	Muestra para análisis en laboratorio clínico (diagnóstico)	Muestra para referir al CNRB (confirmación / tipificación)	Exámenes que realiza el INCIENSA	Observaciones
<p>A.04. <i>Escherichia coli</i> O157:H7, incluye</p> <p>A.04.3 Infección debida a <i>Escherichia coli</i> enterohemorrágica</p>	<p>Heces diarreicas para coprocultivo, recolectadas en la etapa aguda de la enfermedad (en los primeros días de iniciada la sintomatología y previo a la administración de antimicrobianos).</p> <p>Lo ideal es obtener una muestra fecal fresca, en lugar de un hisopado rectal, pero si no es posible, se puede enviar un hisopo fecal colocado en medio de transporte Cary Blair a temperatura ambiente; teniendo presente que esta muestra limita la búsqueda de patógenos.</p> <p>Utilice recipiente estéril de boca ancha con tapa hermética a prueba de derrames, que no contengan desinfectantes ni residuos de detergentes. No se debe emplear papel absorbente o muestras de heces de pañales, porque pueden contener residuos de desinfectantes u otros contaminantes</p> <p>Inicie el procesamiento a la mayor brevedad posible, de lo contrario mantenga a 4°C, NO CONGELE</p>	<p>Heces diarreicas para coprocultivo, recolectadas en la etapa aguda de la enfermedad (en los primeros días de iniciada la sintomatología y previo a la administración de antimicrobianos). Enviar las muestras antes de 24 horas después de recolectadas, a 4-8°C (NO CONGELE).</p> <p>También se puede enviar la placa de agar sangre o agar Mc Conkey lactosa y/o Mc Conkey sorbitol, correspondiente al cultivo original (el rayado con las heces diarreicas), mantenidas a 4-8°C (NO CONGELE).</p> <p>Diez colonias sugestivas de <i>Escherichia coli</i> obtenidas del aislamiento primario de un caso sospechoso.</p> <p>En el caso de este agente se deben extremar las medidas de bioseguridad recomendadas (Anexo 4).</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Confirmación / tipificación hasta serogrupo • Determinación de los genes de las verotoxinas (<i>stx1</i> y <i>stx2</i>) de <i>E. coli</i> enterohemorrágica • Determinación del gen <i>h7</i> de <i>E. coli</i> enterohemorrágica • Determinación del gen <i>hlyA</i> de <i>E. coli</i> enterohemorrágica • Determinación del gen <i>eae</i> de <i>E. coli</i> enterohemorrágica • Determinación del gen <i>rfbO157</i> de <i>Escherichia coli</i> O157 • Vigilancia de la resistencia a los antimicrobianos por Kirby Bauer en agar Mueller Hinton 	<p>La referencia de este agente al INCIENSA se justifica bajo las siguientes condiciones:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Caso de diarrea sanguinolenta en el que el laboratorio detecta <i>Escherichia coli</i> como único patógeno • Paciente con síndrome urémico hemolítico en el que se cultivó <i>E. coli</i> como único patógeno • Cepa asociada a diarrea identificada por los equipos automatizados como "probable <i>E. coli</i> O157:H7" • Cepa aislada de un alimento

Confirmación / tipificación de enteropatógenos

Agente o evento bajo vigilancia ¹	Muestra para análisis en laboratorio clínico (diagnóstico)	Muestra para referir al CNRB (confirmación / tipificación)	Exámenes que realiza el INCIENSA	Observaciones
<p>Continuación de:</p> <p>A.04.3 Infección debida a <i>Escherichia coli</i> enterohemorrágica</p>		<p>Cada muestra se debe acompañar preferiblemente con la boleta de Solicitud de Confirmación Diagnóstica / Tipificación por Centro de Referencia de INCIENSA (disponible en página web de INCIENSA).</p>		<p><i>E. coli</i> O157:H7 no aparece incluida en el Decreto de Notificación Obligatoria; sin embargo, por el riesgo que representa, una vez confirmada, <u>se debe dar aviso urgente a la comisión local de vigilancia, al CNRB y al Ministerio de Salud.</u></p> <p>En vista de que en otros países <i>E. coli</i> O157:H7 con frecuencia se presentan en brotes, es importante realizar la investigación epidemiológica dentro de las 48 horas posteriores a la notificación, con el fin de determinar si se trata de un brote e identificar la fuente probable de infección.</p>

Contactos en el CNR-Bacteriología

Dra. María Teresa Acuña, Responsable,
Laboratorio de Alimentos
e-mail: macuna@inciensa.sa.cr
Teléfono: (506) 2279 99 11, ext. 126

Dr. Francisco Duarte, Responsable,
Biología Molecular
e-mail: fduarte@inciensa.sa.cr
Teléfono: (506) 2279 99 11, ext. 126

Dra. Antonieta Jiménez, Responsable,
Laboratorio de Antimicrobianos
e-mail: ajimenez@inciensa.sa.cr
Teléfono: (506) 2279 99 11, ext. 126

El CNRB también apoya a los laboratorios de la red en la confirmación de otros enteropatógenos causantes de infecciones intestinales, que a pesar de no ser sujeto de notificación obligatoria, tienen importancia en salud pública y se encuentran asociados a casos y defunciones por enfermedad diarreica en nuestro país. Entre ellas:

A04.0 Infección debida a *Escherichia coli* enteropatógena (EPEC)

A04.1 Infección debida a *Escherichia coli* enterotoxigénica (ETEC)

A04.2 Infección debida a *Escherichia coli* enteroinvasiva (EIEC)

A04.3 Infección debida a *Escherichia coli* enterohemorrágica (EHEC)

A04.4 Otras infecciones intestinales debidas a *Escherichia coli* (enteritis debida a *Escheridha coli*)

A04.6 Enteritis debida a *Yersinia enterocolitica* (excluye yersiniosis extraintestinal A28.2)

A04.5 Enteritis debida a *Campylobacter*

A04.8 Otras infecciones intestinales bacterianas especificadas (por ejemplo: infecciones por especies de *Aeromonas*, *Plesiomonas shigelloides* y otras especies de *Vibrio* diferentes al *V. cholerae* (como *V. mimicus*, *V. parahaemolyticus*, *V. alginolyticus*, *V. vulnificus*, entre otros)

c. *Listeria monocytogenes*

Importancia de esta vigilancia: La infección causada por la bacteria *Listeria monocytogenes*, llamada listeriosis, había sido hasta hace pocos años una enfermedad poco común. Sin embargo, a partir de los 80, la enfermedad empezó a manifestarse como una enfermedad de transmisión alimentaria emergente. La listeriosis se puede presentar como casos aislados o en brotes asociados al consumo de alimentos contaminados, entre ellos: productos listos para consumir, vegetales crudos, leche, quesos frescos, patés y productos cárnicos crudos o insuficientemente cocidos, como por ejemplo salchichas. Estos alimentos rara vez son recalentados antes de ser consumidos, y si lo son, no se llega a las temperaturas ideales para la eliminación de las bacterias, por lo que son un peligro potencial si están contaminados por *Listeria monocytogenes*.

L. monocytogenes muestra resistencia a condiciones ambientales adversas tales como el pH bajo, las concentraciones elevadas de NaCl y las temperaturas muy bajas, pudiendo llegar a crecer a 4 – 8 °C, lo que incrementa las posibilidades de infección, aún cuando los alimentos se conserven en refrigeración.

La listeriosis, es una enfermedad de baja incidencia a nivel poblacional (4-8 casos por millón de habitantes) pero con tasas de letalidad importantes (de un 25 - 30%), principalmente en mujeres embarazadas, pacientes inmunosuprimidos (enfermos de SIDA, trasplantados, uso de corticoesteroides, etc.), ancianos, fetos (ya que *L. monocytogenes* tiene la habilidad de atravesar la placenta e infectar el producto) y niños menores de un año. En mujeres embarazadas se manifiesta como un cuadro pseudogripal (fiebre moderada acompañada o no de síntomas de ligera gastroenteritis), de evolución favorable. Es muy poco frecuente el desenlace fatal en la madre, pero si no se instaura el tratamiento adecuado puede producir la infección del feto, causando aborto, alumbramiento de un niño muerto o parto prematuro de un neonato que manifieste una infección septicémica general que afecta a varios órganos y con formación de lesiones granulomatosas (granulomatosis infantiséptica). En los adultos, sobre todo ancianos o inmunocomprometidos, *L. monocytogenes* puede producir septicemia, meningitis y encefalitis. Un pequeño porcentaje de los infectados presenta lesiones focales, que incluyen endoftalmitis, artritis séptica, osteomielitis, pericarditis y endocarditis, sin septicemia manifiesta.

El tratamiento con antibióticos en mujeres embarazadas o personas inmunocomprometidas que han ingerido alimentos contaminados por *L. monocytogenes* puede prevenir las consecuencias más serias de la listeriosis, pero sólo si la infección es diagnosticada a tiempo. Estos grupos de riesgo deben tomar precauciones para evitar la infección, tales como evitar el consumo de quesos blandos y de leche no pasteurizada, así como evitar comidas que no son calentadas antes del consumo.

Confirmación / serotipificación de *Listeria monocytogenes*:

Evento bajo vigilancia según CIE-10 ¹	Muestra para análisis en laboratorio clínico (diagnóstico)	Muestra para referir al CNRB (confirmación / tipificación)	Exámenes que realiza el INCIENSA	Observaciones
<p>A32 Listeriosis, incluye infección alimentaria debida a <i>Listeria</i>:</p> <p>A32.0 Listeriosis cutánea</p> <p>A32.1 Meningitis y meningoencefalitis listeriana</p> <p>A32.7 Septicemia listeriana</p> <p>A32.8 Otras formas de listeriosis (arteritis cerebral, endocarditis, listeriosis oculoglandular)</p> <p>A32.9 Listeriosis no especificada</p>	<p>Depende del foco de infección: líquido cefalorraquídeo, sangre para hemocultivo, etc.</p>	<p>Bacteria con características bioquímicas propias del género <i>Listeria</i> sp. en cultivo puro y fresco, inoculada preferiblemente en agar tripticasa soya, agar nutritivo, agar semisólido o en algún medio de transporte (ejemplo Cary Blair).</p> <p>Las cepas se deben transportar preferiblemente a temperatura entre 4 y ≤ 25°C, siguiendo las medidas de bioseguridad recomendadas (Anexo 4).</p>	<ul style="list-style-type: none"> Confirmación y tipificación del agente hasta serotipo 	<p>Ninguno de estos cuadros clínicos producidos por <i>Listeria monocytogenes</i> están incluidos en el decreto de Enfermedades de notificación obligatoria, por lo que no se debe llenar la boleta VE-01. Sin embargo, estos agentes sí son objeto de la vigilancia basada en laboratorio, por lo que los aislamientos deben ser referidos al CNRB para su correspondiente serotipificación y vigilancia de la resistencia a los antibióticos.</p>
<p>P37.2 Listeriosis congénita diseminada</p>		<p>Cada muestra se debe acompañar preferiblemente con la boleta de Solicitud de Confirmación Diagnóstica / Tipificación por Centro de Referencia de INCIENSA (disponible en página web de INCIENSA).</p>		

Contactos en el CNR-Bacteriología

Dra. María Teresa Acuña, Responsable, Laboratorio de Alimentos

Teléfono: 2279 99 11, exT 126

e-mail: macuna@inciensa.sa.cr

d. Brucelosis humana

Importancia de esta vigilancia: La brucelosis, fiebre de Malta o fiebre del Mediterráneo es una enfermedad bacteriana zoonótica causada por diferentes especies del género *Brucella* (*B. melitensis*, *B. abortus*, *B. suis* y *B. canis*). El cuadro clínico es generalizado, de comienzo agudo o insidioso, caracterizado por fiebre continua, intermitente o irregular, de duración variable, cefalea, debilidad, sudoración profusa, escalofríos, artralgias, depresión, pérdida de peso y malestar general. Ocasionalmente surgen infecciones supurativas localizadas en órganos, como el hígado y el bazo. También se han documentado cuadros sub-clínicos e infecciones crónicas localizadas.

El reservorio de la infección humana lo constituye principalmente el ganado vacuno, porcino, caprino y ovino, aunque también se han dado casos por el contacto con perros.

El riesgo de contraer esta zoonosis es principalmente ocupacional, siendo los peones de ganadería, granjeros, veterinarios y los trabajadores de mataderos los más expuestos. En este caso la transmisión se da a través del contacto directo con materiales infectados con sangre o secreciones animales. También es posible la transmisión indirecta de la enfermedad, a través de la ingestión de leche o productos lácteos no pasteurizados.

Las “*fiebres de origen desconocido*” constituyen una causa importante de morbilidad en el país. Actualmente la RNLB realiza la prueba de screening (antígenos febriles), la cual tiene baja sensibilidad y especificidad. Por lo anterior, el CNRB apoya a los servicios de salud del país en el diagnóstico y la vigilancia de esta enfermedad, utilizando técnicas serológicas más confiables como son las técnicas serológicas de **aglutinación de Rosa Bengala en lámina (RBT)** (Díaz 1989) y la **aglutinación en microplaca (SAT, Serum Agglutination Test)**(Alton, 1988) para determinar los títulos de anticuerpos (*IgM* e *IgG*).

En el caso de la serología para diagnóstico de la brucelosis humana, un resultado positivo puede indicar:

- Infección activa
- Anticuerpos que persisten después de la recuperación
- Contacto accidental con el germen, no necesariamente seguido de enfermedad
- Exposición a un microorganismo que presente reacción cruzada con *Brucella sp.*

En vista de lo anterior, los resultados serológicos se deben analizar en muestras pareadas y en conjunto con los datos clínicos y epidemiológicos.

Se recomienda que toda muestra que presente un resultado positivo para *Brucella* por prueba de antígenos febriles sea referida al CNRB para su confirmación.

Apoyo del CNRB al diagnóstico de la brucelosis

Evento bajo vigilancia según CIE-10 ¹	Muestra para análisis en laboratorio clínico (diagnóstico)	Muestra para referir al CNRB (confirmación / tipificación)	Exámenes que realiza el INCIENSA	Observaciones
<p>A23 Brucelosis, incluye:</p> <p>A23.1 Brucelosis debida a <i>B. abortus</i></p> <p>A23.9 Brucelosis no especificada</p>	<p>Sangre sin anticoagulante recolectada en pico febril para estudio serológico</p>	<p>Sueros pareados (para demostrar seroconversión), siguiendo las medidas de bioseguridad recomendadas (Anexo 4). Los sueros se deben acompañar por la boleta Solicitud de Diagnóstico por Centro Nacional de Referencia de INCIENSA (disponible en página web de INCIENSA).</p>	<p>Diagnóstico serológico de la brucelosis:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Aglutinación de Rosa de Bengala en lámina (RBT) • Micro-aglutinación en placa (SAT) 	<p>Enfermedad de notificación obligatoria en boleta VE-01 (Anexo 3). La investigación epidemiológica se debe realizar dentro de las 48 horas posteriores a la notificación, con el fin de determinar la fuente probable de infección.</p>

Contactos en el CNR-Bacteriología

Dra. Grettel Chanto, Responsable,
Laboratorio de Bacteriología Especial
e-mail: gchanto@inciensa.sa.cr
Teléfono: 2279 99 11, ext. 126

Dra. Elena Campos, Coordinadora,
CNR-Bacteriología
e-mail: ecampos@inciensa.sa.cr
Teléfono: 2279 99 11, ext. 126

1. Bacterias responsables de neumonía, meningitis y otras infecciones invasivas, incluyendo:

- *Streptococcus pneumoniae*
- *Haemophilus influenzae*
- *Neisseria meningitidis*

Importancia de esta vigilancia: Según la Organización Mundial de la (OMS), más de 1.6 millones de personas mueren cada año de neumonía o meningitis, de las cuales, un millón son niños menores de cinco años. Un estudio realizado por la OMS muestra que, entre 2000 y 2003, 73% de 10.6 millones de muertes anuales entre los niños menores de cinco años son debidas a seis causas principales: la neumonía (19%), diarrea (18%), sepsis o neumonía neonatal (10%), partos prematuros (10%), malaria (8%) y asfixia al nacimiento (8%).

En América Latina y el Caribe anualmente mueren más de 80.000 niños menores de cinco años a causa de infecciones respiratorias bajas, de ellas, un 85% son debidas a neumonía e influenza. Esta mortalidad llega a representar para algunos países de la Región más del 20% de las defunciones en este grupo de edad.

Antes de la introducción de las nuevas vacunas conjugadas, los cuadros de neumonía más graves se asociaban con causas bacterianas, con predominio de *Streptococcus pneumoniae*, seguido por *Haemophilus influenzae*. En el caso de las meningitis, el 95% de los casos en niños menores de dos años era causado por *H. influenzae* tipo b (principalmente en los menores de 3 a 15 meses); *Neisseria meningitidis* (en menores de seis meses) y *S. pneumoniae* en niños mayores de dos meses. Sin embargo, con la aparición de nuevas vacunas conjugadas contra *S. pneumoniae* y *H. influenzae* tipo b, el rol de *N. meningitidis* ha tomado mayor relevancia en los procesos invasores en estos últimos años.

A la alta morbi-mortalidad asociada a estos agentes, se suma la emergencia de nuevos patrones de resistencia a los antibióticos de primera elección, dificultando cada día más el tratamiento de las neumonías y meningitis, principalmente las causadas por *S. pneumoniae*.

En este contexto y considerando que la reducción de la mortalidad infantil corresponde a uno de los Objetivos de Desarrollo del Milenio, la vigilancia y el control de las neumonías y meningitis bacterianas debería convertirse en un compromiso urgente de los países para cumplir con las metas propuestas.

El objetivo fundamental de esta vigilancia de laboratorio es generar la información necesaria que apoye a las autoridades de salud:

- En la valoración y toma de decisiones para la introducción de nuevas vacunas en los esquemas nacionales o modificación de las mismas
- En la elaboración de normativas relacionadas con el uso de antimicrobianos para el tratamiento y/o profilaxis de estas infecciones.

Vigilancia de laboratorio: Entre los laboratorios que conforman la RNLB, los de hospitales son los que en general realizan el diagnóstico rutinario (aislamiento e identificación) de las neumonías, meningitis y otras infecciones bacterianas causadas por *S. pneumoniae*, *H. influenzae* y *N. meningitidis*. Sin embargo, por la importancia de estos agentes, además se han designado los hospitales San Vicente de Paúl, Nacional de Niños, Max Peralta y Blanco Cervantes, como sitios centinela para la vigilancia integral de estas infecciones. En estos sitios centinela se debe seguir el protocolo establecido para tal propósito.

El CNRB coordina a nivel nacional la vigilancia de laboratorio de estos agentes, realiza la confirmación, tipificación, vigilancia de la resistencia a los antibióticos y funciona como laboratorio diagnóstico en caso de brotes. A la vez es el punto focal de país para coordinar la vigilancia de estas enfermedades a nivel internacional, dentro del Programa Regional de Vigilancia de Enfermedades Producidas por *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* y *Neisseria meningitidis* (SIREVA II).

Confirmación y tipificación de *S. pneumoniae*, *H. influenzae* y *N. meningitidis*: Todos los laboratorios clínicos, incluyendo los designados como sitio centinela, deben referir al CNRB los aislamientos de estos agentes, acompañado por la boleta Solicitud de Confirmación Diagnóstica por Centro de Referencia de INCIENSA (disponible en la página web del INCIENSA), cuya información clínico-epidemiológica es indispensable para la interpretación de resultados.

Confirmación / serotipificación de bacterias causantes de neumonías, meningitis y otras infecciones invasivas

Evento bajo vigilancia según CIE-10 ¹	Muestra para análisis en laboratorio clínico (diagnóstico)	Muestra para referir al CNRB (confirmación / tipificación)	Exámenes que realiza el INCIENSA	Observaciones
<p>A39 Infección meningocócica, incluye:</p> <p>A39.0 Meningitis meningocócica</p> <p>A39.1 Síndrome de Waterhouse-Friderichsen</p> <p>A39.2 Meningococcemia aguda</p> <p>A39.3 Meningococcemia crónica</p> <p>A39.4 Meningococcemia, no especificada</p> <p>A39.5 Enfermedad cardíaca debida a meningococo (carditis, endocarditis, miocarditis, pericarditis)</p> <p>A39.8 Otras infecciones meningocócicas (artritis pos-meningocócica, artritis, conjunctivitis, encefalitis, neuritis retrobulbar)</p> <p>A39.2 Infección meningocócica no especificada</p>	<p>Depende del foco de infección: líquido cefalorraquídeo, sangre para hemocultivo, líquido articular, etc.</p>	<p>Cultivo puro y fresco en agar sangre o agar chocolate, siguiendo las medidas de bioseguridad recomendadas (Anexo 4). Cada cultivo se debe acompañar de la boleta de Solicitud de Confirmación Diagnóstica / Tipificación por Centro de Referencia de INCIENSA (disponible en la página web de INCIENSA).</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Confirmación / tipificación hasta serogrupo • Vigilancia de la resistencia a los antimicrobianos (CIM por microdilución o E-test en sangre de carnero) • Determinación de β-lactamasa 	<p>Las meningitis bacterianas son enfermedades de notificación obligatoria en boleta individual VE-01 (Anexo 3). En vista de que se pueden presentar brotes de esta enfermedad, la investigación epidemiológica se debe realizar dentro de las 48 horas posteriores a la notificación, con el fin de implementar las medidas de prevención y control correspondientes.</p>

Contacto en el CNR-Bacteriología

Dra. Grettel Chanto, Responsable,
Laboratorio de Bacteriología Especial
e-mail: gchanto@inciensa.sa.cr
Teléfono: (506) 2279 99 11, ext. 126

Dra. Antonieta Jiménez, Responsable,
Laboratorio de Antimicrobianos
e-mail: ajimenez@inciensa.sa.cr
Teléfono: (506) 2279 99 11, ext. 126

Confirmación / serotipificación de bacterias causantes de neumonías, meningitis y otras infecciones invasivas

Evento bajo vigilancia según CIE-10 ¹	Muestra para análisis en laboratorio clínico (diagnóstico)	Muestra para referir al CNRB (confirmación / tipificación)	Exámenes que realiza el INCIENSA	Observaciones
<p>A40.3 Septicemia debida a <i>Streptococcus pneumoniae</i> (septicemia neumocócica)</p> <p>J13 Neumonía debida a <i>Streptococcus pneumoniae</i></p>	<p>Depende del foco de infección, para los aislamientos invasivos: líquido cefalorraquídeo, sangre para hemocultivo, líquido pleural, líquido articular, etc.</p> <p>Aislamientos no invasivos: entre ellos se encuentran: esputo, aspirados (endotraqueal, nasofaríngeo, faríngeo, nasal), secreciones (ojo, oído, piel, heridas), abscesos, entre otros</p>	<p>Cultivo puro y fresco en agar sangre, siguiendo las medidas de bioseguridad recomendadas (Anexo 4). Cada cultivo se debe acompañar preferiblemente de la boleta de Solicitud de Confirmación Diagnóstica / Tipificación por Centro de Referencia de INCIENSA (disponible en la página web de INCIENSA).</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Confirmación / tipificación hasta serotipo • Vigilancia de la resistencia a los antimicrobianos (CIM por microdilución / E-test y difusión en agar Mueller Hinton-sangre carnero) 	<p>Las neumonías y meningitis bacterianas son enfermedades de notificación obligatoria en boleta individual VE-01 (Anexo 3). La investigación epidemiológica se debe realizar dentro de las 48 horas posteriores a la notificación, con el de implementar las medidas de prevención y control correspondientes.</p>
<p>A41.3 Septicemia debida a <i>Haemophilus influenzae</i></p> <p>A49.2 Infección por <i>Haemophilus influenzae</i>, sin otra especificación</p> <p>J14 Neumonía debida a <i>Haemophilus influenzae</i></p>			<ul style="list-style-type: none"> • Confirmación / tipificación hasta serotipo • Vigilancia de la resistencia a los antimicrobianos (CIM por microdilución o difusión en medio HTM) • Determinación de β-lactamasa 	

Contacto en el CNR-Bacteriología

Dra. Grettel Chanto, Responsable,
Laboratorio de Bacteriología Especial
e-mail: gchanto@inciensa.sa.cr
Teléfono: (506) 2279 99 11, ext 126

Dra. Antonieta Jiménez, Responsable,
Laboratorio de Antimicrobianos
e-mail: ajimenez@inciensa.sa.cr
Teléfono: (506) 2279 99 11, ext 126

2. Agentes causantes de tos ferina

Importancia de esta vigilancia: La tos ferina es una enfermedad infecciosa causada por la bacteria *Bordetella pertussis*. La vacuna contra esta enfermedad está disponible desde los años veinte y se incorporó en la rutina de los programas de inmunización infantil de muchos países desde mediados de 1940. Aunque teóricamente se podría considerar que esta es una enfermedad “eliminable” pues el hombre es el único reservorio y existe una vacuna disponible, la inmunidad que resulta, tanto de la infección natural como de la inmunización, se pierde con los años. Por lo anterior, la vacunación en la infancia provocó un desplazamiento de la enfermedad hacia los neonatos y lactantes que no han completado el esquema de inmunización y hacia los adolescentes y adultos que han perdido la inmunidad.

Debido a la reactogenicidad de la vacuna elaborada con células enteras, no se recomienda su administración en los adolescentes ni en adultos. A partir del 2005 se aprobó una vacuna combinada (Tdap), que puede aplicarse en individuos de 11 a 64 años de edad, ofreciendo una alternativa de inmunización a estos grupos en la población. La administración de esta vacuna en adolescentes y adultos tiene el propósito de reducir el número de portadores y la exposición de grupos de alto riesgo, como neonatos y lactantes pequeños, así como evitar la diseminación de la enfermedad entre el personal y los servicios de salud.

En Costa Rica desde 1950 se introdujo la vacuna triple bacteriana (difteria- tos ferina-tétanos), en un esquema de tres dosis (2, 4 y 6 meses). A partir de 1974, incorporó dos dosis adicionales, aplicadas a los 15 meses y 4 años de edad. A partir de la introducción de la vacuna, ocurrió un descenso marcado en el número de casos, reducción que se aceleró con la incorporación de los refuerzos en 1974. En el 2006 se detecta en el país un incremento de casos de tos ferina, superior al observado en los años anteriores. Debido a la magnitud del brote, gravedad de los casos y elevada letalidad en los lactantes menores de 6 meses, las autoridades del país decidieron implementar una estrategia de vacunación de mujeres durante el post parto como una medida de prevención y control.

Esta decisión se sustentó en los mecanismos de transmisión de la enfermedad y la reconocida eficacia y seguridad de la vacuna acelular contra *B. pertussis* que elevaría, en un corto plazo, la inmunidad materna en el post parto inmediato, reduciendo el rol de las madres como portadoras y brindando una mayor protección al lactante a través de la leche materna. La alta cobertura de parto institucional en Costa Rica garantizaría el éxito de dicha intervención. En vista de lo anterior, el objetivo fundamental de esta vigilancia de laboratorio es generar la información necesaria para conocer el comportamiento y tendencias de esta enfermedad y que apoye a las autoridades de salud en la valoración y toma de decisiones para la introducción de nuevas vacunas en los esquemas nacionales o modificación de las mismas.

Diagnóstico de tos ferina

Evento bajo vigilancia ¹	Muestra para referir al CNRB (diagnóstico)	Exámenes que realiza el INCIENSA	Observaciones
<p>A37 Tos ferina</p> <p>A.37.0 Tos ferina debida a <i>Bordetella pertussis</i></p> <p>A.37.1 Tos ferina debida a <i>Bordetella parapertussis</i></p> <p>A.37.2 Tos ferina debida a otras especies de <i>Bordetella</i></p> <p>A.37.9 Tos ferina, no especificada</p>	<p>Aspirado nasofaríngeo (ver especificaciones para su recolección en el Anexo 7). En caso de muestras post-mortem se prefiere el aspirado traqueal y la biopsia de pulmón en solución salina estéril (NO FIJAR NI TEÑIR).</p> <p>Las muestras se deben recolectar, conservar y transportar a 4-8°C, en un período no mayor de 24 horas luego de su recolección siguiendo las medidas de bioseguridad recomendadas (Anexo 4).</p> <p>Cada muestra se debe enviar acompañada por la boleta Solicitud de Diagnóstico por Centro Nacional de Referencia de INCIENSA (disponible en la página web de INCIENSA).</p>	<p>Diagnóstico de la tos ferina:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para diagnóstico de <i>Bordetella pertussis</i> y <i>B. parapertussis</i> • Inmunofluorescencia directa para diagnóstico de <i>Bordetella pertussis</i> y <i>B. parapertussis</i> • Cultivo e identificación de <i>Bordetella pertussis</i> y <i>B. parapertussis</i> 	<p>Enfermedad de notificación obligatoria en boleta individual VE-01 (Anexo 3). La investigación epidemiológica se debe realizar dentro de las 48 horas posteriores a la notificación, con el fin de determinar si hay casos relacionados que requieren de tratamiento antimicrobiano, así como el estado de vacunación de los contactos más cercanos.</p> <p>Cuando se trata de casos en niños menores de 6 meses de edad, es necesario investigar si la madre recibió la vacuna Tdap durante el post-parto.</p>

Contacto en el CNR-Bacteriología

Dra. Grettel Chanto, Responsable,
Laboratorio de Bacteriología Especial
e-mail: gchanto@inciensa.sa.cr
Teléfono: (506) 2279 99 11, ext 126

3. Resistencia a los antimicrobianos en gérmenes comunitarios y nosocomiales

Importancia de esta vigilancia: La resistencia a los antibióticos constituye uno de los principales problemas de salud pública a nivel mundial, agravado por el incremento en el uso indiscriminado de los mismos en los últimos 50 años y con un impacto significativo, tanto a nivel económico como poblacional.

La resistencia a los antibióticos involucra cada día nuevas especies bacterianas y nuevos mecanismos de resistencia y el problema se intensifica con la capacidad que tienen los microorganismos de transmitir la resistencia no sólo a su descendencia, sino también a otras bacterias de la misma o de diferente especie.

Es importante señalar que el uso de antibióticos en clínica humana y veterinaria, así como en la agricultura contribuye a la selección de bacterias resistentes, que se diseminan en los hospitales y la comunidad. Esto hace que los fármacos elegibles para el tratamiento de infecciones comunes sean cada vez más limitados y caros o, en algunos casos, inexistentes.

Aunque no es factible eliminar la resistencia a los antibióticos, sí es posible convertir esta amenaza creciente en un problema manejable, mediante el diseño de estrategias integrales que incluyan el establecimiento de programas que fortalezcan la vigilancia de los problemas de resistencia ya existente y los emergentes.

Por lo anterior, el CNRB y la Caja Costarricense de Seguro Social (CCSS), vienen realizando esfuerzos para fortalecer la vigilancia epidemiológica de la resistencia a los antibióticos, iniciativa que forma parte de los compromisos del convenio CCSS-INCIENSA.

De esta forma desde 1997 el INCIENSA ha recopilado la información de resistencia a los antibióticos para las enterobacterias: *Salmonella*, *Shigella* y *Vibrio cholerae*, agentes de reporte obligatorio en el país. A partir del 2000, esta vigilancia se amplió a otras bacterias importantes como causa de infecciones en la comunidad (*Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Staphylococcus aureus*) y en los hospitales (*Enterococcus* spp., *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Acinetobacter* spp., *Pseudomonas aeruginosa*, *S. aureus*, *Enterobacter* spp., *Proteus mirabilis*, *Morganella morganni* y *Serratia marscescens*).

Actualmente se trabaja en la reorganización de la vigilancia de la resistencia a los antibióticos en gérmenes nosocomiales en el marco del Convenio CCSS-INCIENSA, con el fin de disponer de información representativa de la realidad nacional, que pueda ser de utilidad para la toma de decisiones en la elaboración de normas para el tratamiento empírico de las infecciones causadas por

estos agentes y la generación de políticas públicas en el campo de la salud humana, veterinaria y la producción alimentaria.

En el cuadro a continuación se resumen algunos de los perfiles de resistencia a los antibióticos, de importancia en salud pública, cuya vigilancia ha sido recomendada por la Red Latinoamericana de Vigilancia de la Resistencia a los Antibióticos (RELAVRA), de la cual el CNRB es el punto focal de país. El cuadro incluye además algunas de las técnicas disponibles en el CNRB para detectar y confirmar estos mecanismos de resistencia, con el fin de dar apoyo a los laboratorios de la RNLB que así lo requieran.

Evento bajo vigilancia	Muestra a referir al CNRB	Exámenes que realiza el INCIENSA	Observaciones
Resistencia a meticilina en <i>Staphylococcus aureus</i> fenotipo comunidad (CA-MRSA) e intrahospitalario (HA-MRSA)	Cultivo puro y fresco en agar nutritivo. Cada muestra se debe acompañar de la boleta de Solicitud de Confirmación Diagnóstica / Tipificación por Centro de Referencia de INCIENSA (disponible en la página web de INCIENSA). En la Sección "Patógeno Referido" se debe anotar el género y especie del agente referido. También se debe aportar la información de la prueba de sensibilidad a los antibióticos obtenida por el laboratorio.	<ul style="list-style-type: none"> • Confirmación del perfil de resistencia a meticilina por el método de Kirby Bauer • Detección de la proteína PBP2', que confiere la resistencia a meticilina en <i>S. aureus</i>, utilizando la prueba rápida de aglutinación Slidex-MRSA 	CA-MRSA ocasiona infecciones en piel (furunculosis y abscesos); sin embargo, también puede causar infecciones necróticas de tejido, que a veces resultan fatales y neumonía fulminante en hospederos sanos. HA-MRSA ocasiona infecciones severas a nivel hospitalario, como por ejemplo septicemias y endocarditis. Con frecuencia presentan multiresistencia, lo que conlleva a falla de tratamiento.
Sensibilidad disminuida y resistencia a vancomicina en <i>Staphylococcus aureus</i>		<ul style="list-style-type: none"> • Confirmación de resistencia a vancomicina mediante CIM por E-test 	Cepas de <i>S. aureus</i> con fenotipo vancomicina intermedio (VISA, hVISA) y vancomicina resistente (VRSA) se consideran un problema de salud pública, ya que están relacionadas con falla de tratamiento a vancomicina. Por esto cepas de <i>S. aureus</i> vancomicina intermedio o resistente deben ser verificadas y ser referidas al CNRB para su confirmación.
Resistencia a vancomicina en <i>Enterococcus spp.</i>			Cepas de <i>Enterococcus</i> resistentes a vancomicina (VRE) podrían causar infecciones nosocomiales en pacientes inmunosupresos, por lo tanto, es importante desde el punto de vista epidemiológico mantener la vigilancia de este fenotipo.

Contacto en el CNR-Bacteriología

Dra. Antonieta Jiménez, Responsable,
Laboratorio de Antimicrobiano
e-mail: ajimenez@inciensa.sa.cr

Teléfono: (506) 2279 99 11, extensión 126

Evento bajo vigilancia	Muestra a referir al CNRB	Exámenes que realiza el INCIENSA	Observaciones
<p>Sensibilidad disminuida a cefalosporinas de tercera y cuarta generación y carbapenemes en:</p> <ul style="list-style-type: none"> • <i>Pseudomonas</i> spp. • <i>Acinetobacter</i> spp. • Enterobacterias 	<p>Cultivo puro y fresco en agar nutritivo.</p> <p>Cada muestra se debe acompañar de la boleta de Solicitud de Confirmación Diagnóstica / Tipificación por Centro de Referencia de INCIENSA (disponible en la página web de INCIENSA).</p> <p>En la Sección “Patógeno Referido” se debe anotar el género y especie del agente referido. También se debe aportar la información de la prueba de sensibilidad a los antibióticos obtenida por el laboratorio.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Confirmación de sensibilidad disminuida o resistencia a cefalosporinas de tercera y cuarta generación y/o carbapenemes por Kirby Bauer • Determinación fenotípica de β-lactamasa de espectro extendido (BLEE) por métodos de difusión: <ul style="list-style-type: none"> ○ Sinergia entre ácido clavulánico y cefalosporinas ○ Disminución del halo de inhibición para cefalosporinas en presencia de ácido clavulánico. • Determinación fenotípica de carbapenemasas por el método microbiológico Hodge • Detección de metalo-β-lactamasa (MBL) por medio de la inhibición de la enzima en presencia de EDTA, utilizando E-test doble para la detección de MBL y discos con EDTA • Determinación de la CIM de colistina por E-test para <i>Pseudomonas</i> multirresistente 	<p>La vigilancia de la resistencia a carbapenemes es importante ya que por ser antibióticos de amplio espectro representan en algunos casos la última opción de tratamiento.</p> <p>Además, la determinación de BLEE y carbapenemasas es determinante para la elección del tratamiento.</p>
<p>Resistencia a macrólidos, lincosamidas y estreptograminas (MLSb) en <i>Staphylococcus</i> y <i>Streptococcus</i></p>		<ul style="list-style-type: none"> • Detección de mecanismo MLSb por D-test 	<p>Los macrólidos, lincosaminas y estreptograminas son opciones de tratamiento en algunas infecciones por <i>Staphylococcus</i> o <i>Streptococcus</i>.</p>

Contacto en el CNR-Bacteriología

Dra. Antonieta Jiménez, Responsable,
 Laboratorio de Antimicrobianos
 e-mail: ajimenez@inciensa.sa.cr
 Teléfono: (506) 2279 99 11, ext 126

ANEXO 1

Servicios de diagnóstico y confirmación diagnóstica que ofrece el Centro Nacional de Referencia de Bacteriología

Coordinación del CNRB

Responsable: Dra. Elena Campos (ecampos@inciensa.sa.cr)

Enteropatógenos

Responsable: Dra. Hilda Bolaños (hbolanos@inciensa.sa.cr)

- I. **Diagnóstico de bacterias causantes de diarrea por cultivo y tinciones:** se refiere al diagnóstico de enteropatógenos en muestras de heces de pacientes o la búsqueda de portadores asintomáticos asociados a brotes de diarrea o defunciones por esta causa. La búsqueda de los diferentes enteropatógenos dependerá de las características de la muestra y de la información clínico-epidemiológica contenida en la Boleta “Solicitud de Diagnóstico y/o Tipificación por Centro Nacional de Referencia de INCIENSA”, previa coordinación con la persona responsable en el CNRB. Puede incluir diferentes análisis:
- 1. Frotis.** Incluye los siguientes análisis:
 - Observación “al fresco” (salina, lugol, gruesa) de la muestra para determinar presencia de leucocitos, eritrocitos, parásitos, morfología y motilidad bacteriana
 - Tinción de Gram para observación de morfologías bacteriana predominantes (haciendo énfasis en aquellos semejantes a *Campylobacter*, *Brachyspira* y esporulados)
 - Diagnóstico parasitológico (incluyendo helmintos y protozoarios más comunes y otros como *Cyclospora*, *Cryptosporidium* y *Microsporidium*). Estos análisis los realiza por interconsulta el CNR-Parasitología del INCIENSA
 - 2. Coprocultivo.** Incluye el aislamiento, identificación y tipificación de:
 - *Salmonella* (especie, sub-especie y serovariedad)
 - *Shigella* (serogrupo y serotipo)
 - *Vibrio cholerae* (biotipo, serogrupo, serotipo, incluyendo O1, no O1, O139)
 - Otros vibrios (como *V. parahaemolyticus*, *V. mimicus*, *V. vulnificus*, etc.)
 - Especies de *Aeromonas*
 - *Plesiomonas shigelloides*
 - *Listeria monocytogenes*
 - *Yersinia enterocolitica*

- Especies de *Campylobacter*
 - Recuento de *Clostridium perfringens*
 - *Bacillus cereus*
 - *Staphylococcus aureus*
 - *Escherichia coli* patógena, incluyendo *E. coli* enterotoxigénica (ETEC), *E. coli* enteropatógena (EPEC), *E. coli* enterohemorrágica (EHEC), *E. coli* enteroinvasiva (EIEC), ver sección Epidemiología Molecular)
 - Identificación serológica de *Escherichia coli* enteropatógena EPEC (antígenos somáticos y capsulares)
 - Identificación serológica de *Escherichia coli* enterohemorrágica (EHEC), incluyendo *E. coli* O157:H7 (detección de antígenos somáticos y flagelares)
3. **Diagnóstico rápido de *Vibrio cholerae* O1** (Cholera SMART)
 4. **Detección de rotavirus** (ELISA)
 5. **Detección de norovirus** (ELISA)
 6. **Otras pruebas especiales**
 - **Cuantificación de anticuerpos vibriocidas contra *Vibrio cholerae* O1.** Este análisis se realiza en caso de pacientes en los que no fue posible obtener una muestra de heces adecuada para cultivo y/o en apoyo a las investigaciones de brotes de cólera. Se requiere de sueros pareados (agudo y convaleciente).

- II. **Identificación y caracterización serológica de entéricos provenientes de muestras clínicas:** corresponde a la confirmación y serotipificación de cepas como las que se describen en el “Coprocultivo” (sección I.2), referidas por los laboratorios de la Red, acompañadas por la Boleta “Solicitud de Confirmación Diagnóstica / Tipificación por Centro de Referencia de INCIENSA”.

Microbiología de Alimentos

Responsable: Dra. María Teresa Acuña Calvo (macuna@inciensa.sa.cr)

- III. **Análisis microbiológico de alimentos:** El análisis de la calidad microbiológica de los alimentos se realiza en apoyo a la investigación de brotes de enfermedades transmitidas por alimentos y/o a la función de regulación del Ministerio de Salud, siguiendo las metodologías normalizadas por Food and Drug Administration (FDA) y Association of Official Analytical Chemists (AOAC)¹.

En el caso de brotes de diarrea, las muestras de alimentos se procesan sólo cuando se cuenta con evidencia epidemiológica que implique al alimento como sospechoso. Cada una de estas muestras deben referirse acompañadas con la Boleta Solicitud de Diagnóstico, Confirmación y/o Tipificación para Análisis Microbiológico de Alimentos por Centro Nacional de Referencia de INCIENSA, previa coordinación con el responsable en el CNRB.

Los análisis para regulación se realizan a solicitud de la Dirección de Registros y Controles del Ministerio de Salud, previa coordinación con el responsable en el CNRB. Se dispone de los siguientes análisis:

¹ Bacteriological Analytical Manual (BAM), Official Methods of Analysis of AOAC International (AOAC).

1. Recuento de:

- Coliformes totales, coliformes fecales y *Escherichia coli*
- Total de mesófilos
- De microorganismos específicos: incluye la cuantificación de cualquiera de los indicadores que se indican a continuación, ya sea en muestras de agua o de alimentos:
 - *Clostridium perfringens*
 - *Bacillus cereus*
 - *Staphylococcus aureus*
 - *Vibrio parahemolyticus*
 - Hongos y levaduras
 - *Listeria monocytogenes*
 - *Enterobacter sakazakii*

2. Diagnóstico de enterotoxinas bacterianas en alimentos por métodos inmunológicos y ELISA

- Determinación de toxinas diarrogénicas (A, B, C, D) de *Staphylococcus aureus*
- Determinación de enterotoxina de *Bacillus cereus*
- Determinación de toxina A de *Clostridium perfringens*

3. Confirmación de cepas bacterianas aisladas en alimentos y aguas

- *Salmonella* (especie, sub-especie y serovariedad)
- *Escherichia coli* patógena (EHEC), ver sección Epidemiología Molecular
- Identificación serológica de *Escherichia coli* enterohemorrágica EHEC, incluyendo *E. coli* O157:H7 (antígenos somáticos y flagelares)
- *Listeria monocytogenes* (serotipo)

Epidemiología Molecular

Responsable: Dr. Francisco Duarte (fduarte@inciensa.sa.cr)

IV. Determinación de factores de virulencia de enteropatógenos en muestras clínicas y de alimentos: se refiere al diagnóstico molecular de enteropatógenos o a la detección de enterotoxinas bacterianas en alimentos o de cultivos por método inmunológicos, previa coordinación con la persona responsable en el CNRB.

1. Diagnóstico molecular de enteropatógenos por reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

- Determinación del gen de la toxina colérica (*ctxA*)
- Detección del plásmido *inv* de *Escherichia coli* enteroinvasiva EIEC

- Determinación de los genes de toxina lábil (LT) y toxina estable (ST) de *Escherichia coli* enterotoxigénica ETEC
- Determinación los genes de las verotoxinas *stx1* y *stx2* de *Escherichia coli* enterohemorrágica EHEC
- Determinación del gen *rfb0157* de *Escherichia coli* O157:H7
- Determinación del gen *h7* de *Escherichia coli* O157:H7
- Determinación del gen *hlyA* de *Escherichia coli* O157:H7
- Determinación de los genes *eae* y *bfp* de *Escherichia coli* enteropatógena EPEC
- Determinación del factor de virulencia pCVD432 de *Escherichia coli* enteroagregativa (EaggEC)
- Determinación molecular del gen para antígeno flagelar d de *Salmonella*

V. Caracterización molecular de enteropatógenos: se refiere a la caracterización molecular de los enteropatógenos incluidos en las secciones IV.1, en cepas referidas por los laboratorios de la red, acompañadas por la Boleta “Solicitud de Confirmación Diagnóstica por Centro de Referencia de INCIENSA”. La búsqueda de los diferentes factores de virulencia dependerá de la cepa referida y de las características clínico-epidemiológicas del paciente, previa coordinación con el responsable en el CNRB.

VI. Electroforesis de campo pulsado (PFGE) para la subtipificación molecular de patógenos bacterianos transmitidos por alimentos, sean estos aislados de muestras clínicas, alimentos (para consumo humano y animal), aguas, ambiente, animales. Herramienta de apoyo para el análisis epidemiológico que permite relacionar aislamientos en caso de brotes de enfermedades transmitidas por alimentos (ETA), infecciones respiratorias, meningitis, infecciones nosocomiales, estudios de puntos críticos de producción, etc.

Bacteriología Especial

Responsable: Dra. Grettel Chanto (gchanto@inciensa.sa.cr)

VII. Diagnóstico, confirmación y tipificación de bacterias causantes de meningitis e infecciones invasivas por cultivo: Consiste en el aislamiento, identificación y tipificación de *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae* y *Streptococcus pneumoniae* en muestras clínicas en caso de brotes y defunciones previa coordinación con el responsable en el CNRB y acompañadas por la Boleta “Solicitud de Diagnóstico y/o Tipificación por Centro Nacional de Referencia de INCIENSA” y/o cepas referidas por los laboratorios de la Red, con la Boleta “Solicitud de Confirmación Diagnóstica por Centro de Referencia de INCIENSA”. Incluye:

- Aislamiento e identificación de agentes a partir de muestras clínicas
- Determinación de especie y serogrupo de *Neisseria meningitidis*
- Determinación del especie y serotipo de *Haemophilus influenzae*
- Determinación de especie y serotipo de *Streptococcus pneumoniae* (reacción de Quellung)
- Determinación de género y especie de otras bacterias causantes de meningitis y septicemia

VIII. Diagnóstico de tos ferina (*Bordetella pertussis* / *parapertussis*): Consiste en la detección de *Bordetella pertussis/parapertussis* a partir de muestras clínicas referidas por los centros de salud, acompañadas por la Boleta “Solicitud de Diagnóstico y/o Tipificación por Centro Nacional de Referencia

de INCIENSA”, previa coordinación con el responsable en el CNRB. A continuación se indican las metodologías disponibles:

- Cultivo a partir de hisopos o aspirados nasofaríngeos
- Diferenciación bioquímica de especies
- Diagnóstico de tosferina por Inmunofluorescencia directa
- Diagnóstico molecular por PCR a partir de aspirados nasofaríngeos

IX. Diagnóstico y confirmación de bacterias causantes de infecciones misceláneas por cultivo

- Cultivo y confirmación bioquímica de género y especie

X. Diagnóstico de brucelosis humana: consiste en el diagnóstico de infecciones por *Brucella* en muestras clínicas referidas por los servicios de salud acompañadas por la Boleta “Solicitud de Diagnóstico y/o Tipificación por Centro Nacional de Referencia de INCIENSA”. Se dispone de:

- Diagnóstico serológico de brucelosis humana: para realizar este análisis se requiere de sueros pareados (agudo y convaleciente)

Antimicrobianos

Responsable: Dra. Antonieta Jiménez (ajimenez@inciensa.sa.cr)

XI. Determinación de prueba de sensibilidad a los antibióticos en gérmenes nosocomiales y comunitarios: incluye la prueba de sensibilidad a los antibióticos por diferentes métodos, siguiendo la normativa recomendada por CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute, antes National Committee for Clinical Laboratory Standards-NCCLS):

- Enteropatógenos y bacterias causantes de infecciones misceláneas por Kirby Bauer
- *Neisseria meningitidis* por E-test (agar Mueller Hinton 5% sangre de carnero)
- *Streptococcus pneumoniae* por Kirby Bauer y E-test (agar Mueller Hinton 5% sangre de carnero)
- *Haemophilus influenzae* por Kirby-Bauer en agar HTM

XII. Determinación de patrones inusuales de resistencia en gérmenes nosocomiales y comunitarios: siguiendo la normativa recomendada por CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute, antes National Committee for Clinical Laboratory Standards-NCCLS):

- Confirmación de β -lactamasas (método cromogénico y doble disco)
 - β -lactamasas de espectro extendido (BLEE), en enterobacterias ampicilino resistentes y que presentan disminución en los halos de inhibición para cefotaxime y ceftazidime (*Escherichia coli*, *Klebsiella* sp., *Enterobacter cloacae*, *Proteus* sp., *Enterococcus* sp.)
 - β -lactamasas de espectro ampliado (BLEA), en enterobacterias ampicilino resistentes
 - Resistencia a macrólidos, lincosamidas y estreptograminaB (MSLB) en *Staphylococcus aureus*
 - Confirmación de resistencia a vancomicina en *Staphylococcus* sp. y *Enterococcus* sp.
 - Confirmación de *Staphylococcus aureus* meticilino resistente (en cepas que presentan resistencia a oxacilina)
 - Detección de carbapenemasas (método microbiológico Hodge)
 - Detección de metalobetalactamasas

ANEXO 2



VE - 02

**REGISTRO COLECTIVO DE CASOS DE ENFERMEDADES DE
NOTIFICACION OBLIGATORIA**

ESTABLECIMIENTO: _____

SEMANA # _____ **DEL** _____ / _____ / _____ **AL** _____ / _____ / _____

Provincia _____ **Cantón** _____

Distrito _____ *

Tipo de evento	Grupos de edad																
	< 1 año		1 a 4 años		5 a 9		10 a 14		15 a 19		20 a 64		65 y más		Total		
	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	
Accidentes ofídicos																	
Filariasis																	
Leishmaniasis																	
Conjuntivitis hemorrágica																	
Enfermedad diarreica aguda (EDA)																	
Infección aguda respiratoria superior (IRA)																	
Enfermedad tipo influenza estacional (ETI)																	

* Los datos de provincia, cantón y distrito, corresponden a los personas enfermas no a la ubicación del establecimiento

Nombre del responsable que reporta: _____

ANEXO 3

Boleta de Notificación Individual de Vigilancia Epidemiológica

Ministerio de Salud V.E-01 Caja Costarricense Seguro Social Boleta de Notificación Individual de Vigilancia Epidemiológica		
M E D I C O	Número de expediente: _____ Nombre del paciente: _____ Fecha inicio síntomas: Día _____ Mes _____ Año: _____ Diagnóstico: _____ Causa probable: _____ Fecha de diagnostico: Día _____ Mes _____ Año: _____	CODIGOS
	Sexo: Masculino 1 ___ Femenino 2 _____ Fecha de nacimiento: Día _____ Mes _____ Año: _____ Edad: Año: _____ Mes _____ Día _____ Nombre del encargado (en caso de ser menor de 18 años): _____ Residencia Provincia: _____ Cantón: _____ Distrito: _____ Otras señas: _____ Teléfono: _____ Lugar de trabajo: _____ Establecimiento que informa: _____ Nombre del que informa: _____	

ANEXO 4

Embalaje y envío de material infeccioso al INCIENSA

Las cepas de agentes infecciosos y el material de diagnóstico deben ser enviados del laboratorio local al Centro de Referencia empleando idealmente un "sistema triple básico de embalaje" para el transporte de material infeccioso, de acuerdo a las recomendaciones de la Organización Mundial de la Salud WHO/EMC/97.3.

Este sistema consta de tres envases, como se indica a continuación a manera de ejemplo:

- **Recipiente primario:** corresponde al tubo o vial que contiene la muestra, el cual debe ser hermético y bien cerrado y rotulado de tal manera que permita identificarlo y relacionarlo a la solicitud de análisis.
- **Recipiente secundario:** a prueba de agua y derrames, de material resistente (podría emplear un recipiente de plástico o metal).
- **Recipiente terciario:** es el envoltorio externo, se usa para proteger el envase secundario (puede emplear una hielera, caja de cartón, sobre de manila, bolsa de plástico).

La muestra se coloca en el recipiente primario, luego se introduce en el recipiente secundario. El recipiente secundario se debe colocar dentro de una hielera (recipiente terciario), con o sin gel refrigerante, para el transporte.

Los formularios con datos del paciente y de la muestra, notas u otro tipo de información no se deben colocar dentro de los recipientes antes mencionados.

Consideraciones importantes:

En el caso de **cultivos bacterianos**, estos se deben referir en tubos con tapa de rosca conteniendo un medio sólido, o en viales sellados cuidadosamente con parafilm o cinta y acondicionados según las siguientes instrucciones:

- Para los microorganismos que no presentan requerimientos nutricionales especiales se recomienda referirlos inoculados en tubos con Agar Trypticase de soya o Agar Infusión Cerebro Corazón. Las cepas se deben transportar preferiblemente a temperatura entre 4 y \leq 25°C, NO CONGELE.
- Torunda impregnada con la cepa en estudio en medio **Cary Blair**, la que puede ser transportada a temperatura ambiente.

- **Placas de agar:** esta forma de transporte no es la más recomendable; sin embargo, puede ser requerida para la referencia de bacterias anaerobias, microaerofílicas y otras con requerimientos nutricionales exigentes (bacterias fastidiosas). En este caso, las tapas de las placas de petri se deben asegurar con cinta adhesiva. Estas placas se deben colocar individualmente en bolsas de plástico, dentro de una caja de protección y luego en una hielera. Siempre se deben colocar las placas de manera que el agar quede en la base, para evitar que éste se desprenda durante el transporte. Evite exponer las muestras a temperaturas elevadas.

ANEXO 5



ESTUDIO EPIDEMIOLOGICO DE BROTE DE DIARREA: DIAGNOSTICO DE SITUACION	Preparado por HBA y MTAC	Aprobado por: ECCH
	21/09/2001	Revisión 01
		Página 1 de 2

ID BROTE	<input style="width: 95%;" type="text"/>
-----------------	--

PARA DIAGNÓSTICO DE SITUACIÓN INICIAL

(Llenar una boleta por cada aviso de brote)

1. Persona que brinda la información:		
Nombre:	Cargo:	
Dirección:	Tel:	Fax:
2. Los casos se están presentando en:		
<input type="checkbox"/> una misma vivienda <input type="checkbox"/> en una comunidad <input type="checkbox"/> en una institución <input type="checkbox"/> Otro:		
3. Sitio donde se presentaron los casos		
Lugar:	Contacto:	
Dirección:	Tel:	Fax:
4. Forma en que aparecieron la mayor parte de los casos		
<input type="checkbox"/> mismo día <input type="checkbox"/> durante varios días <input type="checkbox"/> varias semanas <input type="checkbox"/> Otro:		
5. Fecha(s) en que aparecieron los primeros casos:		
6. Personas que han:	N° Total	Lugar donde fueron atendidos
recibido atención médica		
sido hospitalizados		
fallecido		
Marque con "x" los síntomas que han presentado la mayoría de los casos		
<input type="checkbox"/> náuseas <input type="checkbox"/> vómito <input type="checkbox"/> dolor de cabeza <input type="checkbox"/> resfriado <input type="checkbox"/> calambres (retortijones)		
<input type="checkbox"/> diarrea <input type="checkbox"/> fiebre <input type="checkbox"/> dolor de cuerpo <input type="checkbox"/> tenesmo <input type="checkbox"/> otros:		
Observaciones:		
8. Diagnóstico clínico establecido hasta el momento:		
9. Se obtuvieron muestras para análisis?		
<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí : _____ <i>(Anote el tipo de muestras y el nombre del laboratorio a donde se enviaron o procesaron):</i>		
10. Diagnóstico de laboratorio establecido hasta el momento: (Anote el diagnostico y el nombre del ó los laboratorio(s):		
11. Se han administrado antibióticos?		
<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí : _____ <i>(Anote el nombre de los antibióticos y la fecha de inicio):</i>		



ESTUDIO EPIDEMIOLOGICO DE BROTE DE DIARREA: DIAGNOSTICO DE SITUACION	Preparado por HBA y MTAC	Aprobado por: ECCH	
	21/09/2001	Revisión 01	Página 2 de 2

12. Se sospecha de que se trata de un brote de origen alimentario?

No Sí (Explique qué alimentos son sospechosos):

13. Dónde fueron preparados y/o distribuidos esos alimentos?

14. Se obtuvieron muestras de alimentos y/o utensilios para análisis de laboratorio?

No Sí (Anote el tipo de muestras y la fecha de recolección)

15. Quién tomó esas muestras y a que laboratorio fueron enviadas ?

Nombre: _____ Institución: _____
 Cargo: _____ Teléfono: _____ Fax: _____
 Laboratorio donde se enviaron: _____

16. Fuentes de agua utilizadas para el consumo ó preparación de alimentos en los lugares en que se presentaron los casos

Nombre del lugar	Tipo(s) de agua*

* (1) A y A, (2) Municipal clorada, (3) Municipal no clorada, (4) Pozo, (5) Río ó quebrada.

17. El lugar cuenta con un tanque de almacenamiento ?

No Sí:

18. Se obtuvieron muestras de agua para análisis de cloro residual ?

No Sí:

(Anote quién tomó las muestras, fecha de los resultados si los conoce)

19. Se obtuvieron muestras de agua para análisis microbiológico ?

No Sí:

(Anote quién tomó las muestras y los resultados si conoce)

20. Contactos realizados

Institución	Teléfono	Fax	Persona contactada (via)	Fecha
EBAIS				
Hospital o Clínica				
Epidemiólogo Regional CCSS				
Epidemiólogo Regional Min. Salud				
Centro Nac. de Referencia	2279-99-11			
AyA	2279-51-18			
Vig. Epidem. Nivel Central CCSS				
Vig. Epidem. Nivel Central Min. Salud				

21. Observaciones

Firma de la persona que envía esta notificación

Fecha / hora

ANEXO 6

Boleta de notificación de alerta de brotes / epidemias



MINISTERIO DE SALUD
REPUBLICA DE COSTA RICA
Vigilancia de la Salud

NOTIFICACION DE ALERTA/BROTOS/EPIDEMIAS

REGION: _____ FECHA: _____ SEMANA EPIDEMIOLOGICA: _____

AREA RECTORA DE SALUD: _____ PROVINCIA: _____

CANTON: _____ DISTRITO: _____

LOCALIDAD: _____

LUGAR DE OCURRENCIA DE LA ALERTA: _____

DIAGNÓSTICO PROBABLE: _____ FECHA DE INICIO DE BROTE/EPIDEMIA: _____

Nº DE CASOS IDENTIFICADOS: _____ Nº DE DEFUNCIONES: _____

AGENTE CAUSAL: _____ SOSPECHOSO: _____ CONFIRMADO: _____

FUENTE DE TRANSMISION PROBABLE:	AGUA:	<input type="checkbox"/>	AIRE:	<input type="checkbox"/>
	ALIMENTO:	<input type="checkbox"/>	SUELO:	<input type="checkbox"/>
	VECTORIAL:	<input type="checkbox"/>	HUMANA:	<input type="checkbox"/>

OTROS (ESPECIFIQUE): _____

GRUPO DE POBLACION MAS AFECTADO: _____

ACCIONES REALIZADAS : _____

FECHA DE NOTIFICACIÓN: _____

NOTIFICADO POR: _____ CARGO: _____

ANEXO 7

Obtención de muestras para estudio de *Bordetella pertussis*

Bordetella pertussis/parapertussis es una bacteria difícil de cultivar a partir de muestras clínicas. La posibilidad de aislarla es mayor cuando: (a) el paciente cumple con la definición de caso establecida, (b) tiene menos de tres semanas de iniciada la tos, (c) no ha recibido tratamiento con antibióticos y (d) la muestra se procesa inmediatamente después de su obtención.

Idealmente la inoculación del medio de cultivo primario se debe realizar al pie de la cama del enfermo; sin embargo, si esto no es posible, envíe la muestra al laboratorio inmediatamente después de su obtención (no más de 48 horas). En este caso, los especímenes aceptables para cultivo son el aspirado y/o el hisopado nasofaríngeo, obtenidos de acuerdo a los procedimientos que se describen a continuación.

Nota: Siempre que sea posible, explique al paciente en qué consiste el procedimiento y que puede sentir ganas de toser o lagrimeo. Utilice guantes para realizar estos procedimientos.

ASPIRADO NASOFARINGEO

El aspirado nasofaríngeo es la muestra de elección para el aislamiento de *Bordetella pertussis*, pues además de mostrar tasas de recuperación superiores o iguales a las que se obtienen con el hisopado nasofaríngeo, es la muestra ideal cuando se quieren aplicar otras metodologías diagnósticas como lo son la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) o la inmunofluorescencia.

1. Conecte el catéter o sonda de succión a una bomba de vacío, empleando una trampa intermedia (*estéril*) para colectar el moco. Si no cuenta con este equipo, puede usar una sonda de alimentación conectada a una jeringa para succionar.
2. Inmovilice la cabeza del paciente.
3. Inserte cuidadosamente la sonda de alimentación, deslizándola sobre la base de la nasofaringe hasta alcanzar la parte posterior de la faringe (*esto puede provocar tos y lagrimeo*).
4. Cuando alcance la parte posterior de la faringe empiece a succionar, sacando la sonda lentamente hasta alcanzar la parte media de la cavidad nasal.
5. En este momento, deje de succionar y saque totalmente la sonda.
6. Enjuague la sonda aspirando 2-3 ml de solución salina estéril a través de ella y recogiendo el material en la trampa. Para el diagnóstico de tos ferina, **no se utiliza medio de transporte**.
7. Selle la punta de la trampa, rotule la muestra con el nombre y cédula o expediente del paciente.

8. Complete el formulario de solicitud de análisis y envíelo inmediatamente al laboratorio junto con la muestra, en donde se gestionará el envío al Centro Nacional de Referencia en Bacteriología del INCIENSA (*La boleta de diagnóstico debe contener al menos la siguiente información: nombre completo, número de expediente o cédula, dirección exacta, fecha inicio de síntomas, tratamiento previo y fecha de toma de la muestra*).
9. Deseche los materiales utilizados en una bolsa de bioseguridad para descartar en el laboratorio.

HISOPADO NASOFARÍNGEO

1. Inmovilice la cabeza del paciente.
2. Humedezca con agua estéril o solución fisiológica la punta de un hisopo estéril pequeño que sea flexible y **de alginato de calcio o dacrón (no algodón pues es inhibitorio para las metodologías diagnósticas)** e insértelo con suavidad en uno de los orificios nasales. Mueva el hisopo hacia atrás y hacia arriba a lo largo del tabique nasal hasta que una resistencia evidente indique que se ha llegado a la parte posterior de la faringe.
3. Mantenga el hisopo en el lugar por 10 segundos (*esto puede provocar tos y lagrimeo*).
4. Remueva el hisopo lentamente.
5. Si durante la introducción del hisopo se halla una resistencia indebida, repita el procedimiento a través del otro orificio nasal.
6. Inmediatamente, inserte el hisopo en un tubo estéril y quiebre la porción sobrante del palillo. Tape el tubo y rotúlelo con el nombre y cédula o expediente del paciente.
7. Complete el formulario de solicitud de análisis y envíelo inmediatamente al laboratorio junto con la muestra.
8. Deseche los materiales utilizados en una bolsa de bioseguridad para descartar en el laboratorio.

Procesamiento inicial de muestras para estudio de *Bordetella pertussis*

El laboratorio recibirá únicamente aspirados o hisopados nasofaríngeos que cumplan con los requisitos que se indican en las instrucciones para la obtención de muestras para estudio de *Bordetella pertussis*.

En este momento, los hospitales y clínicas mayores tendrán la responsabilidad de realizar el procesamiento inicial que se indica a continuación y referir inmediatamente las muestras al Centro Nacional de Referencia en Bacteriología del INCIENSA (Dra. Grettel Chanto, 2279-9911).

- Una vez que reciba el aspirado o hisopado nasofaríngeo, gestione el transporte de la muestra con carácter de urgencia al Centro Nacional de Referencia en Bacteriología del INCIENSA.
- Si esto no es posible, mantenga el aspirado en refrigeración hasta su envío **(no más de 48 horas)**
- Anote en el tubo el nombre y número de expediente del paciente.
- Empaque las muestras siguiendo las normas de bioseguridad establecidas (Anexo 4). Cada muestra deberá acompañarse con el formulario que incluye la información básica del paciente.
- Refiera la muestra al Centro Nacional de Referencia en Bacteriología del INCIENSA.
- Deseche los materiales utilizados en una bolsa de bioseguridad para descartar en el laboratorio.

Nota: Se aceptarán para cultivo únicamente aquellas muestras que tengan menos de 48 horas de recolectadas y que hayan sido transportadas en condiciones adecuadas.