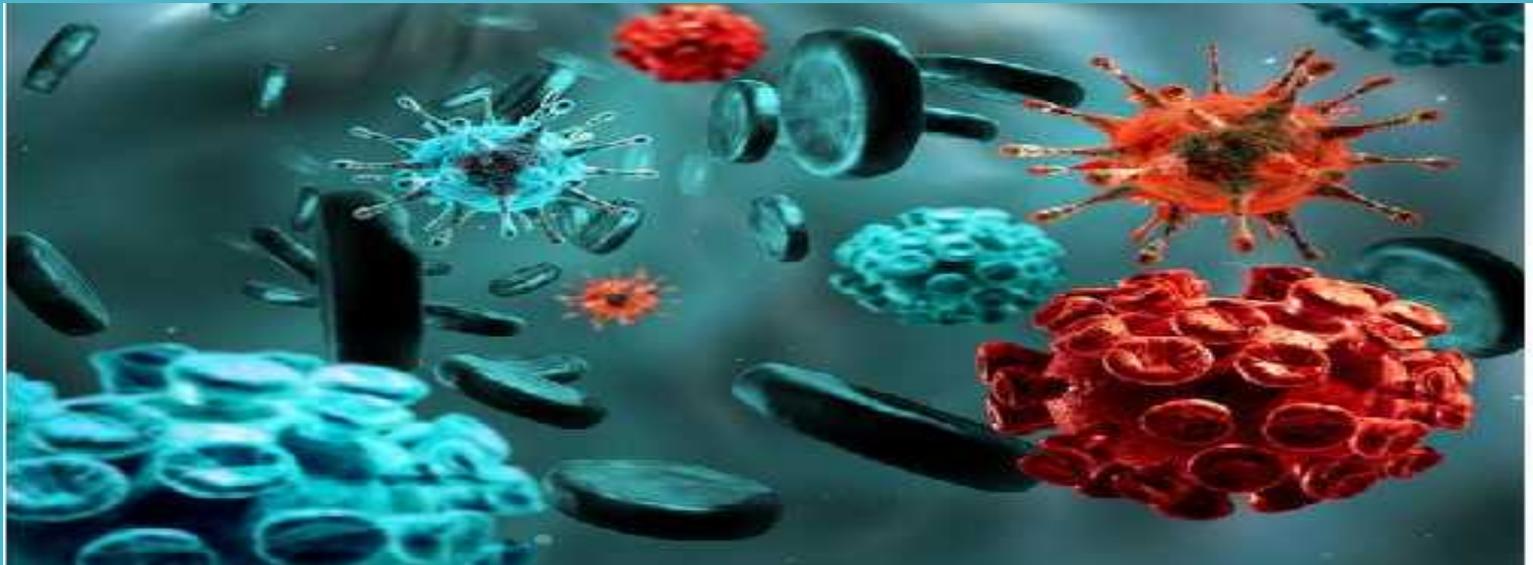


INFECCIONES ASOCIADAS A LA ATENCION DE SALUD (IAAS)



HISTORIA

- Han existido desde la aparición de los hospitales.
- Louis Pasteur inició la ciencia bacteriológica.
- Joseph Lister estableció las bases de la cirugía aséptica.
- En 1861 el médico húngaro Ignacio Felipe Semmelweis publicó sus hallazgos sobre el origen nosocomial de la fiebre puerperal.
- En 1950, Nahmias dio importancia a las infecciones nosocomiales debido a una epidemia causada por estafilococos en hospitales de EEUU.



1982, México, Ponce de León condujo el programa de vigilancia de infecciones nosocomiales.

En 1989 la OPS "Organización Panamericana de la Salud" conjuntamente con Sociedad de Epidemiología de los EEUU organizó una conferencia regional sobre prevención y control de infecciones nosocomiales.

INFECCIONES ASOCIADAS A LA ATENCION DE SALUD

Aunque las IAAS, son el evento adverso más frecuente en la atención sanitaria, su verdadera carga mundial aún no se conoce con exactitud debido a la dificultad de reunir datos fiables, debido a que muchos países carecen de sistema de vigilancia de IAAS.

Cada día las IAAS provocan:

- Prolongación de las estancias hospitalarias.
- Discapacidad a largo plazo.
- Una mayor resistencia de los microorganismos a los antimicrobianos.
- Enormes costos para los sistemas de salud.
- Elevados costos para los pacientes y sus familias .
- Muertes innecesarias.



PERU

Ministerio
de Salud

Gerencia
de Salud Pública

Centro Nacional de
Epidemiología y Prevención
de Infecciones

VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA DE INFECCIONES INTRAHOSPITALARIAS, PERÚ

INFECCIÓN INTRAHOSPITALARIA

(IIH)

Infeción que se adquiere luego de 48 horas de permanecer en el Hospital y que el paciente no portaba a su ingreso. Solo en caso de neonatos se considera como IIH a la infección que se adquiere luego de 72 horas de permanencia hospitalaria. Incluye también las infecciones contraídas en el hospital pero que aparecen después que el paciente fue dado de alta y las que se registran entre el personal y los visitantes.

NT N° 026 - MINSA/OGE - V.01

NORMA TÉCNICA DE VIGILANCIA
EPIDEMIOLÓGICA DE LAS
INFECCIONES INTRAHOSPITALARIAS

2004

MINISTERIO DE SALUD

No. 523-2020-MINSA



Resolución Ministerial

Lima, 25 de julio del 2020.

Visto, el Expediente N° 20-020384-001, que contiene la Nota Informativa N° 102-2020-CDC, el Memorando N° 830-2020-CDC/MINSA y el Informe N° 013-2020-UVEDH-CDC/MINSA del Centro Nacional de Epidemiología, Prevención y Control de Enfermedades, y, el Informe N° 727-2020-CGAJ/MINSA de la Oficina General de Asesoría Jurídica;

CONSIDERANDO:





PERÚ

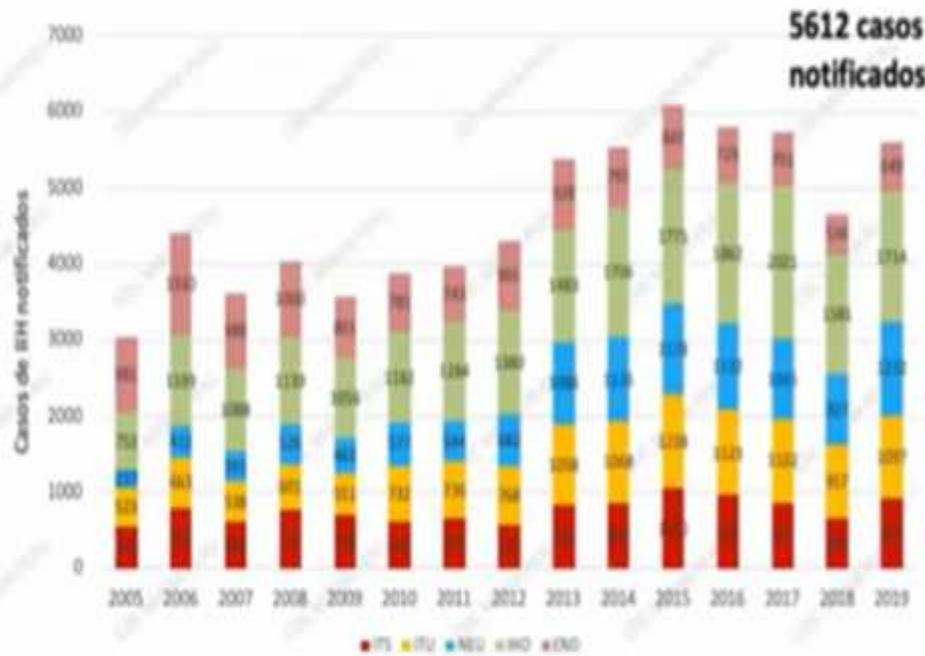
Ministerio de Salud

Transmisión de Salud Pública

Centro Nacional de Epidemiología, Prevención y Control de Enfermedades

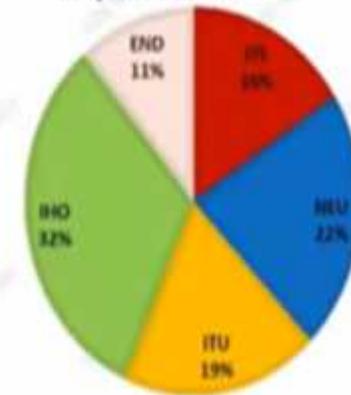
Informe de epidemiológico de las IIH, 2019.

Casos de IIH según tipo y año, Perú 2005 – 2019

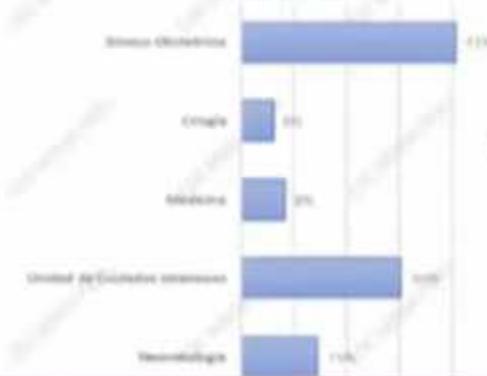


*ITS: Infección del torrente sanguíneo, NEU: Neumonía, ITU: infección de tracto urinario, END: Endometritis, IHO: infección de herida operatoria.

Distribución porcentual según tipo de IIH, Perú 2019



Distribución porcentual servicio, Perú 2019



Objetivo de la vigilancia de las IAAS.

- Disminuir y/o evitar los accidentes por exposición sangre o fluidos corporales.
- Reducir el riesgo de transmisión de microorganismo de fuentes detectadas.

Recomendaciones durante el manejo y procesamiento de muestras de pacientes.

Para evitar la transmisión durante el procesamiento de muestras clínicas, se debe realizar el adecuado lavado de manos, el uso de EPPs, el uso de cabinas de seguridad biológicas.

Considerar de alto riesgo las muestras provenientes del tracto respiratorio alto y bajo, muestras de secreción, fluidos corporales.

Transmisión de microorganismos al interior de establecimientos de salud

Vía transmisión	Mecanismo	Microorganismos
AEREA	Diseminación de partículas infecciosas de 5 o menos micras de diámetro	Mycobacterium tuberculosis
GOTITAS	Contacto de las mucosas de nariz, boca o conjuntivas con partículas infecciosas de más de 5 micras	Virus Influenza Adenovirus Neisseria Meningitidis Bordetella Pertusis
CONTACTO	Contacto piel a piel o a través de objetos contaminados de un paciente infectado a un huésped susceptible	Virus Respiratorio Sincitial Virus Parainfluenza Bacterias entéricas Bacterias multirresistentes

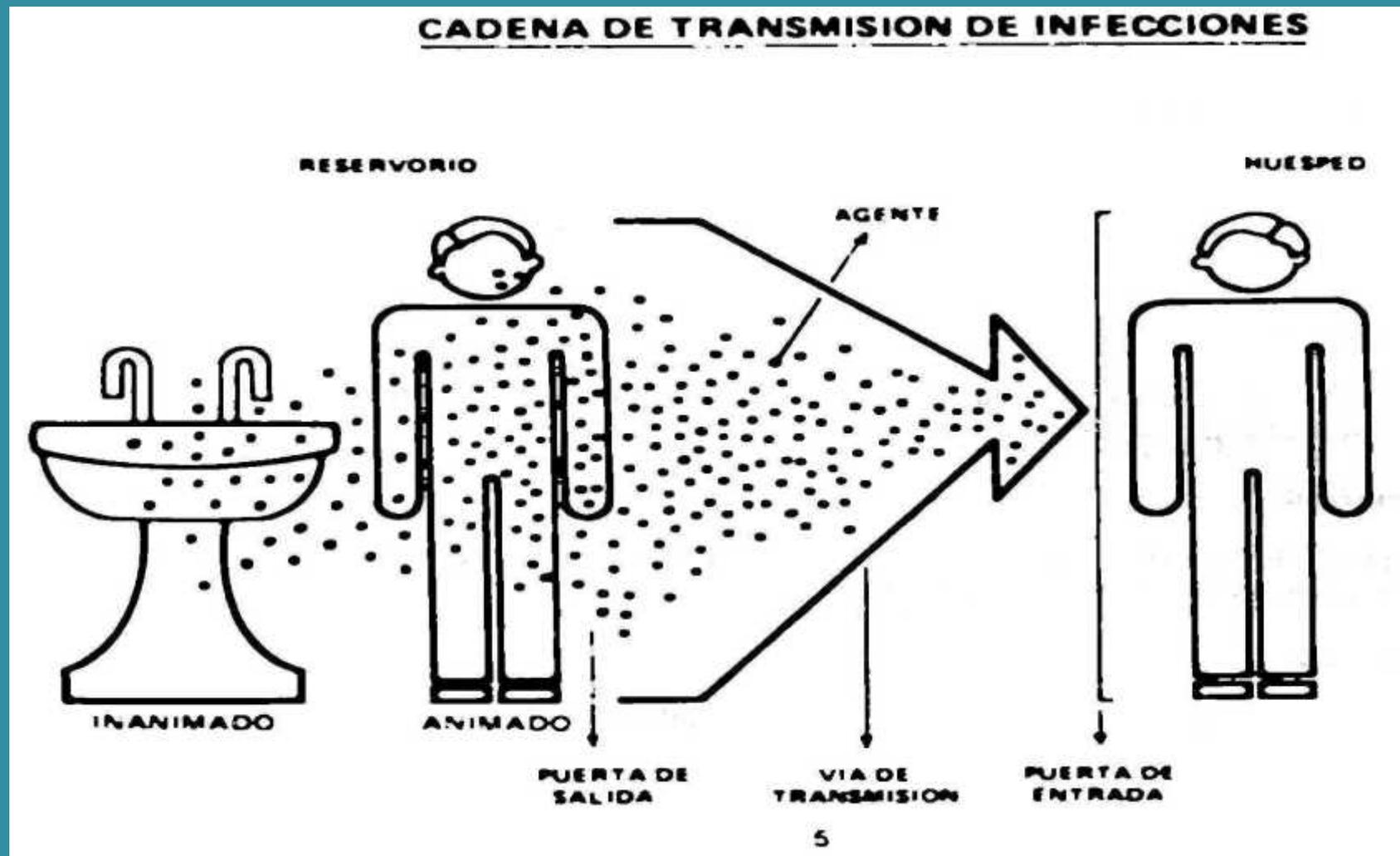
Factores de riesgo en la transmisión de infecciones al interior de los establecimientos de salud

Factores dependientes de las prácticas de atención

Factores dependientes del ambiente

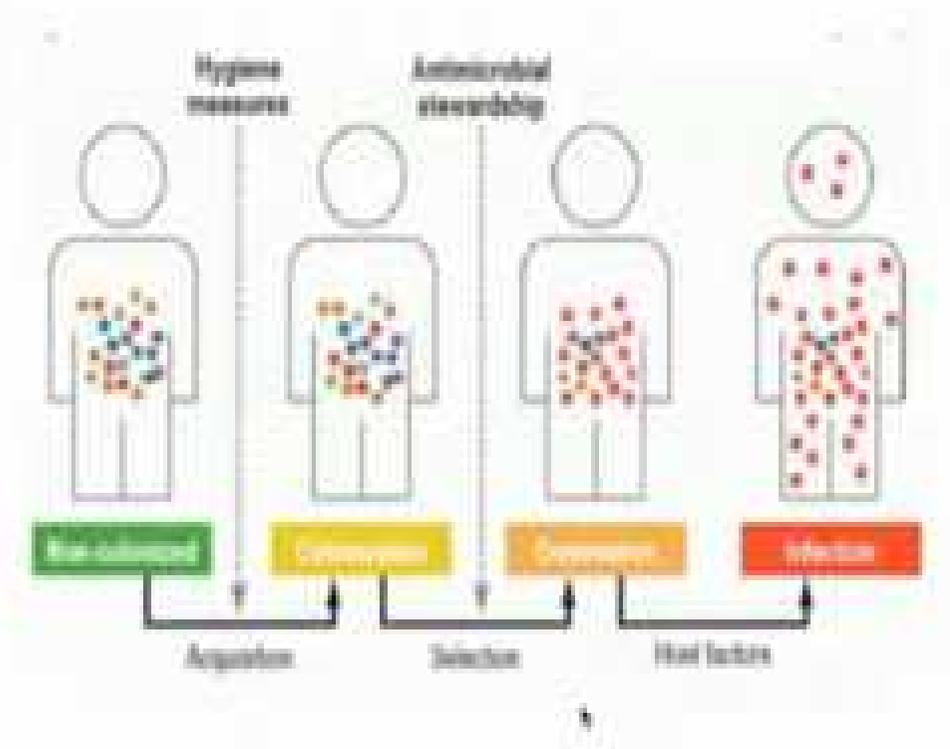
Factores dependientes del paciente

¿QUE DEBEMOS CONOCER?



EL MEJOR TRATAMIENTO ES LA PREVENCIÓN!

- HIGIENE DE MANOS
- PRECAUCIONES DE CONTACTO
- USO RACIONAL DE ANTIBIÓTICOS





FUNCION DEL LABORATORIO REFERENCIAL EN LAS INFECCIONES ASOCIADAS A LA ATENCION DE LA SALUD

DISPOSICIONES ESPECIFICAS DEL LABORATORIOS.

- ❖ Los laboratorios de MICROBIOLOGIA de las IPRESS, enviara su reporte de cultivos positivos por servicio y tipo de muestras a la oficina de epidemiologia, con un periodo no mayor de tres meses mediante el Software whonet .
- ❖ Realizara informes anuales de los perfiles de resistencia antimicrobiana hallados en la IPRESS.
- ❖ Los laboratorios de MICROBIOLOGIA de las IPRESS, deben llevar un registro de control de calidad interno.
- ❖ Debe tener la condición de aprobado por el programa de evaluación externa del INS.

- ❖ El mapa microbiológico debe ser remitido a la dirección general, al comité local de IAAS, y la oficina de Epidemiología de su IPRESS.
- ❖ También al Laboratorio de Referencia Regional para su consolidado y a su vez remitir al INS.

Responsabilidad del Laboratorio Referencia Regional.

Brindar asistencia técnica, supervisar a las IPRESS, en el cumplimiento al apoyo del laboratorio de microbiología, para la vigilancia según establecido en la norma técnica.

Responsabilidad del Laboratorio De Referencia Regional

Realizar la confirmación diagnóstica y la susceptibilidad antimicrobiana de los microorganismos responsables del brote intrahospitalario identificado y notificado.

Realizar el control de calidad externo de los laboratorios hospitalarios.

Notificar al hospital los resultados del control de calidad de la identificación y susceptibilidad bacteriana,(así como los resultados de las pruebas de biología molecular - INS).

**VIGILANCIA EPIDEMIOLOGICA DE
LOS PATRONES ESPECIFICOS DE
RESISTENCIA ANTIMICROBIANO DE
IMPORTANCIA DE SALUD PUBLICA.**

- ❖ Staphylococcus aureus, Staphylococcus coagulasa negativa, intermedio o resistente a vancomicina, y resistente a Linezolid.
- ❖ Enterococcus spp, intermedio o resistente a vancomicina y resistente a Linezolid.
- ❖ Enterococcus faecalis resistente a ampicilina o penicilina (beta lactamasa positiva).
- ❖ Enterobacterias resistencia a carbapenemes y resistencia a colistina >4ug/ml.
- ❖ Pseudomonas aeruginosas resistente a carbapenemes.
- ❖ Acinetobacter baumannii resistente a carbapenemes.

INFECCIONES FRECUENTES POR BACILOS GRAM (-)

PATÓGENOS PRIORITARIOS (OMS)

Gram NEGATIVOS

Pseudomonas aeruginosa

Acinetobacter baumannii

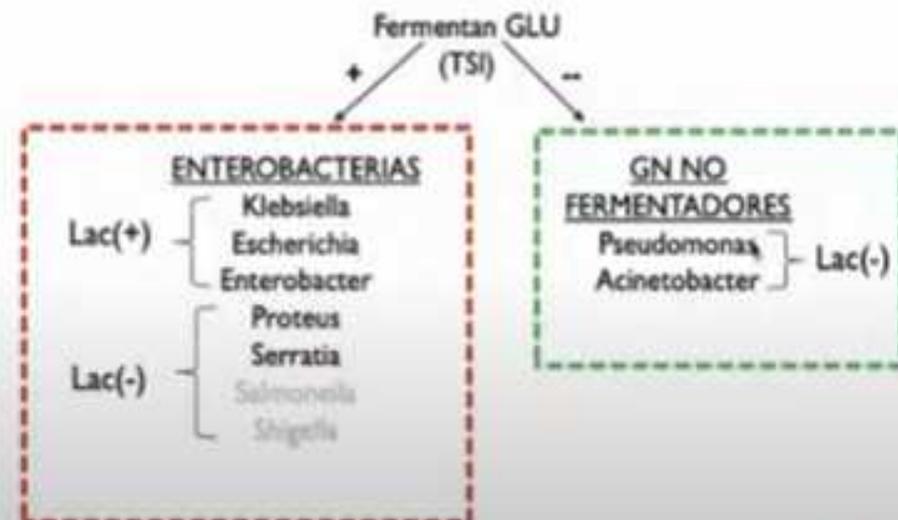
Klebsiella pneumoniae

Escherichia coli

Enterobacter cloacae

Proteus mirabilis

Serratia marcescens



Infecciones Frecuente por Cocos Gram (+)

Infecciones por *Staphylococcus aureus*

- Infecciones de piel y tejidos blandos
- Osteomielitis
- Artritis séptica
- Endocarditis
- Neumonía
- Intoxicación alimentaria
- Bacteriemia
- Shock tóxico

Infecciones por *Streptococcus spp*

- Faringitis, sinusitis
- Infecciones cutáneas
 - Impétigo
 - Erisipelas
 - Celulitis
- Endocarditis

Infecciones por *Enterococcus spp*

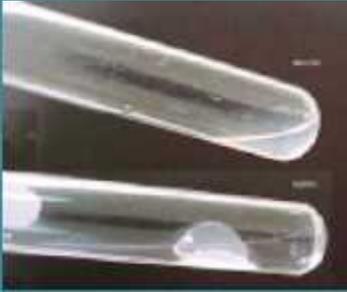
- Infecciones urinarias
- infecciones intraabdominales y pélvicas
- Infecciones de la piel y tejidos blandos
- Endocarditis
- Bacteriemia



PROCEDIMIENTOS PARA DIAGNÓSTICO BACTERIOLÓGICO

Las bacterias requieren de sustancias nutritivas cuyos componentes básicos deben satisfacer las mínimas exigencias nutricionales y condiciones de atmósfera (aerobiosis, anaerobiosis, microaerofilia), pH y temperatura óptima para su crecimiento in vitro.

La elección de los medios de cultivo se realiza en función a la localización de las infecciones y las bacterias a investigar. Los errores cometidos durante este paso del ciclo de procedimientos pueden invalidar la lectura e interpretación de los cultivos.



Los diversos Procedimientos Bacteriológicos requieren de la disponibilidad de una variedad de medios de cultivo que nos permitirán realizar un aislamiento primario, aislamiento selectivo, medios de transporte, identificación bioquímica, medios de conservación, etc.



Para ello también debemos tener en cuenta:

- ❖ Medidas de bioseguridad.
- ❖ Procedimiento de obtención de muestras. (sangre, dispositivos intravasculares, orina, herida operatoria, secreciones del tracto respiratorio, secreción endometrial).
envío y transporte de muestra
- ❖ Procedimientos para diagnóstico bacteriológico (siembra e identificación).
- ❖ Prueba de susceptibilidad antimicrobiana
- ❖ Control de calidad

Otros Materiales requeridos

- a) Estufa de 35–37 °C.
- b) Mechero Bunsen o Cabina de flujo laminar.
- c) Jeringa estéril.
- d) Guantes de látex.
- e) Alcohol al 70%.
- f) Contenedor de material contaminado.
- g) Medios de cultivo
 - Medio bifásico Ruiz Castañeda o monofásico.
 - Agar sangre de carnero (AS).
 - Agar Mc Conkey (McC).
 - Se puede incluir otros medios (ejm. Manitol salado).

PROCEDIMIENTO DE OBTENCION DE MUESTRAS.



Condiciones óptimas de la muestra para su Procesamiento, Transporte y Almacenamiento

TIPO DE INFECCION	TIPO DE MUESTRA	VOLUMEN MINIMO REQUERIDO	SISTEMA DE TRANSPORTE	TRANSPORTE (tiempo y temperatura)	ALMACENAMIENTO (tiempo y temperatura)
INFECCION DE HERIDA OPERATORIA	Secreción por hisopado	---	Stuart o Amies	≤ 30 min. Temperatura ambiente	≤ 24 h temperatura ambiente
	Secreción por aspiración de absceso	---	Tubo estéril o sistema de transporte de Stuart o Amies		
INFECCION DEL TORRENTE SANGUINEO	Sangre	Adultos: 10 – 30 mL Niños: 1 – 5 mL Lactantes: 1 – 2 mL Mantener una relación de 1:5 – 1:10 entre el volumen de sangre y el volumen del medio	Medio bifásico o monofásico	≤ 2 hr temperatura ambiente	≤ 24 h temperatura ambiente
INFECCION ASOCIADA A DISPOSITIVOS INTRAVASCULARES	Dispositivos intravasculares	5 cm	Frasco estéril con tapa rosca	≤ 15 min. Temperatura ambiente	≤ 24 h 4°C
ENDOMETRITIS	Secreción	---	Stuart o Amies	≤ 2 hr temperatura ambiente	≤ 24 h temperatura ambiente
INFECCION DEL TRACTO URINARIO	Orina de Chorro medio	± 1 mL	Frasco estéril de boca ancha	≤ 2 h temperatura ambiente	≤ 24 h 4°C
	Orina por aspiración de catéter	± 1 mL	Tubo estéril		
	Orina por aspiración suprapubica	± 1 mL	Tubo estéril		
INFECCION DEL TRACTO RESPIRATORIO INFERIOR	Secreción obtenida por lavado bronco-alveolar, aspirado transtraqueal	≥ 1 mL	Frasco estéril con tapa rosca	≤ 2 h temperatura ambiente. En caso de volúmenes pequeños, 15 - 30 min.	≤ 24 h 4°C
	Cepillo bronquial	---	Tubo estéril con 1 mL de suero fisiológico o caldo BHI o TSB		

MÉTODOS AUTOMATIZADOS



Ventajas

- Gran impacto clínico
- Resultados reproducibles
- Informe de resultados basados en CIM
- Disminución de errores post-analíticos
- Utilización de sistemas expertos (Phoenix: BDxpert y EpiCARE , Vitek 2: AES)
- Facilita la obtención de estadísticas a través de los software que utilizan (Phoenix: Epicenter, Vitek 2: Kermic, Observa, Real)

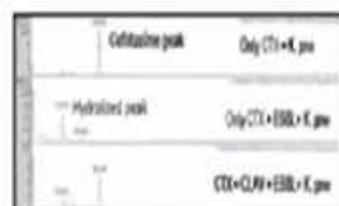
Desventajas

- Requieren un método de respaldo (fallo en el equipo, confirmación de mecanismos de resistencia)
- Paneles o tarjetas determinados por el fabricante
- Errores pueden llevar a fallas en el tratamiento (cultivos mixtos, errores en la identificación)

MÉTODOS GENOTÍPICOS

Detección actividad enzimática mediante MALDI-TOF

- Carbapenemasas
- ESBLs



- TAT < 2-4h
- Baja sensibilidad para OXA-48

Detección de ácidos nucleicos (NAAT)

Xpert-CARBA-R - RT-PCR

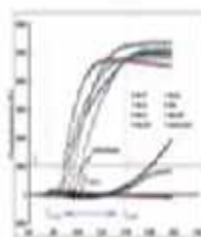
- KPC, NDM, VIM, OXA-48, IMP

Check-point - Microarrays

- KPC, VIM, IMP, NDM, OXA-48 and ESBL (TEM, CTM and SHV)

LAMP

- KPC, OXA-48 and ESBLs (shim), CTX-M1, CTX-M9



- Alta sensibilidad y especificidad
- 20 minutos

> PCR con primers específicos simple o múltiples

> PCR multiplex comerciales: Muestra directa (colonia), PCR en tiempo-real

> Micromatrices (microarrays): Partiendo de colonia

- VENTAJAS:

- ◊ Gold standard
- ◊ permiten la detección de genes de resistencia en microorganismos no cultivables o de crecimiento muy lento.
- ◊ Pueden realizarse directamente sobre la muestra clínica

- LIMITACIONES:

- ◊ Baja S
- ◊ El perfil de resistencia observado fenotípicamente puede deberse a la asociación de varios mecanismos/genes de R.

* 17 virus + *L. pneumophila*, *M. pneumoniae*, *Ch. pneumoniae* y *B. pertussis*

** *S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *M. catarrhalis*, *S. aureus*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *A. baumannii*



OPS/OMS

METODOLOGIAS

...

Métodos rápidos (muy importantes a nivel clínico)

CarbaNP

BlueCarba

FilmArray

Inmunodifusión

MALDITOF (Hidrólisis del Carbapenem o detección del pico de la enzima)

PCR real Time (GeneXpert, BDMax, etc)

Otros (Niv ref)

PCR

Secuenciación Sanger

Secuenciación total de genoma

Métodos Convencionales (importantes a nivel)

Antibiograma (Difusión o CIM)

mCIM y eCIM

Inhibiciones con EDTA, Borónico

KITs basados en inhibiciones: Rosco, DCM-kit

**Método colorimétrico comercial:
Rapid POL-NP**



Rapid Polymyxin NP test

NaCl alone	Susceptible strain	Resistant strain
------------	--------------------	------------------



Colistin -

Colistin +

Fermentación de glucosa por crecimiento bacteriano en presencia de 3.75 µg/ml de colistin. Un aislamiento R a COL se visualiza por un cambio de color de naranja/rojo a amarillo. Lectura entre los 10min y 2hs

Especificidad 99,3%, Sensibilidad 95,4% vs BMD. Detección de cepas heteroR y *mcr-1*⁺

OPS/OMS

Neo-Rapid CARB Kit



INTERPRETACION DE RESULTADOS

POSITIVO: Un cambio de color de ROJO a **AMARILLO** indica que el aislamiento produce carbapenemasa

NEGATIVO: Permanece **ROJO**

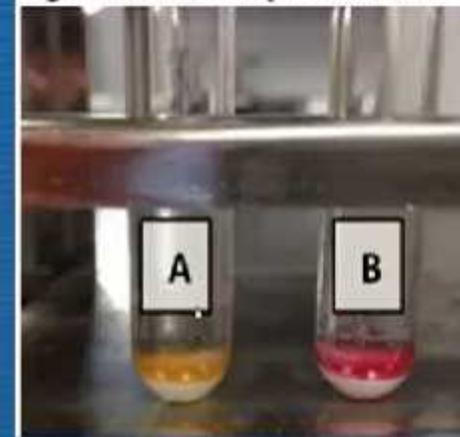
Si la reacción es positiva después de 15 a 30 minutos la prueba se finaliza

INDETERMINADO: Si el control negativo muestra cambio al AMARILLO

CONTROL DE CALIDAD

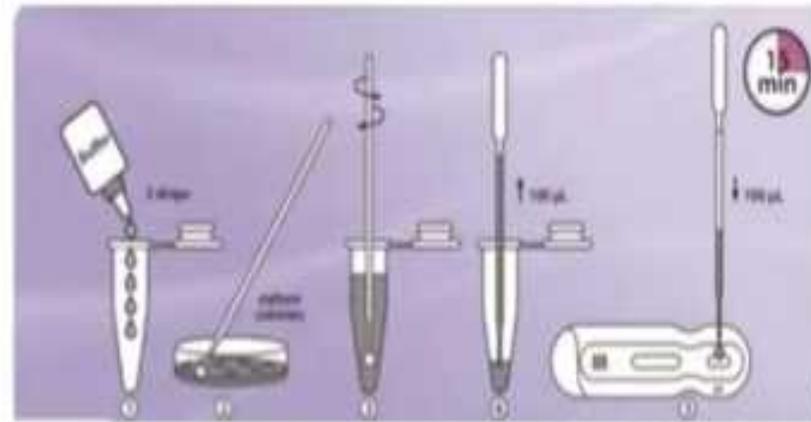
Control negativo: E. coli ATCC 25922

Figure 1. Neo-Rapid CARB Kit



 **OPS**

MÉTODOS CROMATOGRÁFICOS



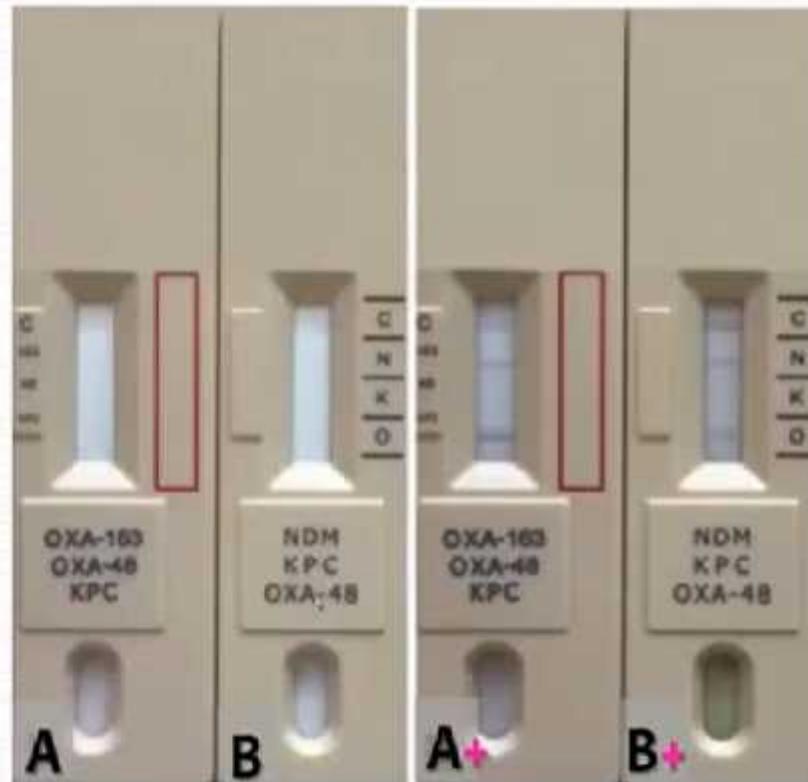
Hamprecht A y col. (2018). *PLoS ONE* 13(5): e0197110

Boudat W y col. *J Antimicrob Chemother* doi:10.1093/acq/cjz124. Enero 2018

- Destacan por su alta sensibilidad y especificidad
- Destacan por su rapidez
- Menor tiempo

Métodos Cromatograficos

OPS/OMS



◆ NG-Test® CARBA 5:
OXA-48-like, KPC, NDM, VIM e IMP
(NG-Biotech, Guipry, France)

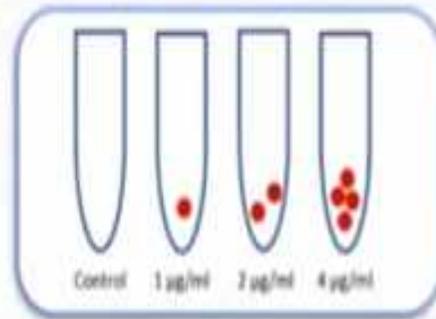


◆ RESIST-3 O.K.N. assay (Coris BioConcept, Gembloux, Belgium)

Cortesia de Ana Togneri Arg

OPS

3. Método de Elusión de discos de colistin



Macrométodo

- Agregar 1, 2 y 4 discos de CDL a tubos con 10ml de CAMHB.
- Agregar 50 µl del 0.5 Mc Farland
- Incubar 16-20h

Tanto el Macro como el Micrométodo (adaptado por LNR, volumen final 1ml) pueden utilizarse para evaluar Enterobacterias, *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter spp.*

TC	1	2	4	INTERPRETACION
				SENSIBLE $\leq 1 \mu\text{g/ml}$
				SENSIBLE $2 \mu\text{g/ml}$
				RESISTENTE $4 \mu\text{g/ml}$
				RESISTENTE $\geq 4 \mu\text{g/ml}$

TC	1	2	4	INTERPRETACION
				INVALIDO No enturbia el control de crecimiento (TC)
				INVALIDO Tubo salteado

Diagnóstico de Colistina

CLSI, 2020			
	SENSIBLE	INTERMEDIO	RESISTENTE
COLISTIN	≤ 2	2-4	≥ 4



Figura Nº1. Placa de difusión de discos con control positivo y negativo, con capacidad mínima para el diagnóstico de 15 especies gramnegativas. Análisis: 151, 045, 300, 100, 010 y 100. Análisis positivo (Pseudomonas a. aeruginosa). Análisis: 100, 100, 010. Análisis negativo (Serratia a. marcescens). Control positivo: cepa (PSECC) control negativo: 25607

Método alternativo	Aplicable	Ventajas	Desventajas
Predifusión	Enterobacterias <i>P. aeruginosa</i> <i>Acinetobacter</i> spp.	Bajo costo	Categoría Interm Confirmar con CIM
CIM comercial	Enterobacterias <i>P. aeruginosa</i> <i>Acinetobacter</i> spp.	Alta correlación BMD	Alto costo
Elución	Enterobacterias <i>P. aeruginosa</i> <i>Acinetobacter</i> spp.	Bajo costo	24 hs
CAT	Enterobacterias <i>P. aeruginosa</i> <i>Acinetobacter</i> spp.	Bajo costo	24 hs
Método Colorimétrico	Enterobacterias <i>Acinetobacter</i> spp.	Rapidez	CIM 4 µg/ml?
Molecular (mcr)	plasmidica	Rapidez	Solo Resist. Plasmidica

Métodos de Detección de BLEE Fenotípicos y Genotípicos :



asociación
argentina de
microbiología
@campus virtual

Otros Métodos Fenotípicos: Sinergia con ac. clavulánico mediante determinación de la CIM, Método epsilométrico, automatizados: Vitex, Phoenix, MicroScan, Sensititre, etc
Métodos Genotípicos: multiplex PCR y secuenciación.

Carba NP, para *Enterobacterias* y *P. aeruginosa*

- Para propósitos epidemiológicos y control de infecciones.

- Util en *Enterobacterias* y *Pseudomonas aeruginosa* que presenten resistencia a uno o más antibióticos carbapenémicos, teniendo en cuenta los puntos de corte del CLSI vigente.

El tiempo de reacción usualmente requerido por los distintos **mecanismos** es:

- ✓ KPC: 2 a 30 minutos
- ✓ MBLs (NDM, VIM, IMP, SPM): 30 min a 1 hora
- ✓ OXAs: 1 a 2 horas

Por las distintas enzimas

Color tubo control (sin imipenem) A	Color tubo reacción (con imipenem) B	Interpretación
Rojo ó Naranja rojo	Rojo ó Naranja rojo	Negativo No detección de carbapenemasa
Rojo ó Naranja rojo	Naranja claro ó amarillo oscuro ó amarillo	Positivo Productor de carbapenemasa
Rojo ó Naranja rojo	Naranja	Prueba invalida
Naranja, naranja claro ó amarillo oscuro ó amarillo	Cualquier color	Prueba invalida

Carba NP, para *Enterobacterias* y *P. aeruginosa*

	Mecanismo de resistencia	Pasteran F. y Cois
Sensibilidad	KPC y otras carbapenemasas clase A	100%
	Metalobetalactamasas	98%
	OXAs	OXa- 48: 94% OXAs Acineto.: 95% OXAs - 163(Arg.): 20%
Especificidad	No productoras de carbapenemasas	100%

Reporte

Prueba positiva: Productor de carbapenemasa
Prueba negativa: No productor de carbapenemasa

Test Blue CARBA, para *Enterobacterias*, *P. aeruginosa* y *Acinetobacter spp.*

Método fenotípico confirmatorio de presencia de carbapenemasas.

Util en *Enterobacterias*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter spp* que presenten resistencia a uno o más antibióticos carbapenémicos, teniendo en cuenta los puntos de corte del CLSI vigente.

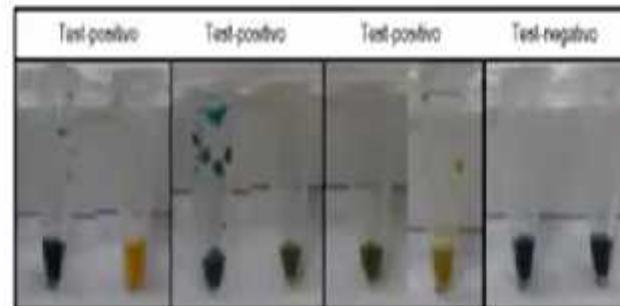


Tabla 1. Interpretación de los resultados fenotípicos

Tubo control	Tubo de reacción	Interpretación
Azul	Amarillo	Prueba positiva: Productor de Carbapenemasa
Azul	Verde	Prueba positiva: Productor de Carbapenemasa
Verde	Amarillo	Prueba positiva: Productor de Carbapenemasa
Azul	Azul	Prueba negativa: No productor de Carbapenemasa
Amarillo	Azul/Verde/Amarillo	Prueba invalidada

METODOS CONVENCIONALES

OPS/OMS

METODOLOGIAS



Métodos Convencionales (importantes a nivel)

Antibiograma (Difusión o CIM)

mCIM y eCIM

Inhibiciones con EDTA, Borónico

KITs basados en inhibiciones: Rosco, DCM-kit

TEST DE SINERGIA, INHIBICION CON DISCOS

- Fáciles de implementar.
- Tienen bajo costo.
- Se realizan mediante el método de Disco difusión.
- Requiere incubación de 18 a 24 horas a 35°C.
- Permite diferenciar entre enzimas de Clase A (KPC) y de Clase B (MBL).

Método modificado de inactivación de carbapenemes mCIM y eCIM (con EDTA)

Método fenotípico confirmatorio de presencia de carbapenemasas

Para propósitos epidemiológicos o para el control de infecciones.

mCIM: es usado para la detección de carbapenemasas en Enterobacterias y *P.aeruginosa*, junto el eCIM es usado para diferenciar las MBL

El mCIM puede realizarse independiente, sin embargo, el eCIM debe hacerse realizarse junto con el mCIM.

Cepa control	Característica	Resultado esperado
<i>K. pneumoniae</i> BAA 1705	KPC positiva Productora de serina carbapenemasa	mCIM: positivo eCIM: negativo
<i>K. pneumoniae</i> BAA 1706	Carbapenemasa negativa	mCIM: negativo
<i>K. pneumoniae</i> BAA 2146	NDM positiva Productora de metaloβlactamasa	mCIM: positivo eCIM: positivo



Control negativo BAA 1706 y control positivo BAA 1705



Resultado: mCIM positivo, reporte: detección de carbapenemasa

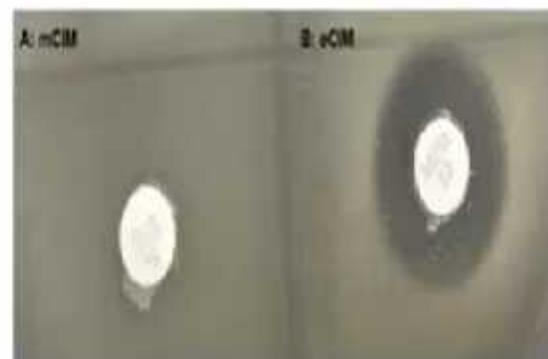
eCIM se interpreta solo si la prueba de mCIM es positiva

Metalolactamasas positiva:

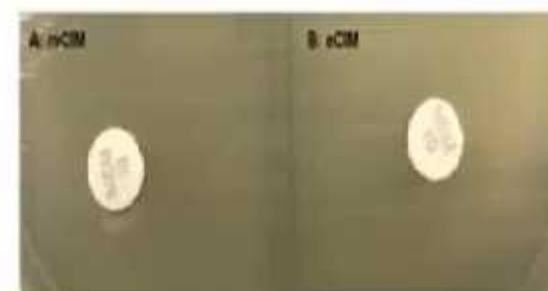
Incremento de ≥ 5 mm en la zona del diámetro para eCIM comparado con la zona de diámetro del mCIM (por ejemplo: mCIM= 6mm; eCIM= 15mm, la diferencia es de 9 mm). Ignore la presencia de colonias dentro de la zona de inhibición. La interpretación de resultados se debe basar estrictamente en la diferencia de las zonas del diámetro entre el mCIM y el eCIM.

Metalolactamasas negativa:

Incremento de < 4 mm en la zona del diámetro para eCIM comparado con la zona de diámetro del mCIM (por ejemplo: mCIM= 6mm; eCIM= 6mm, la diferencia es de 0 mm).



Resultado: mCIM y eCIM positivo, reporte: detección de Metalolactamasa

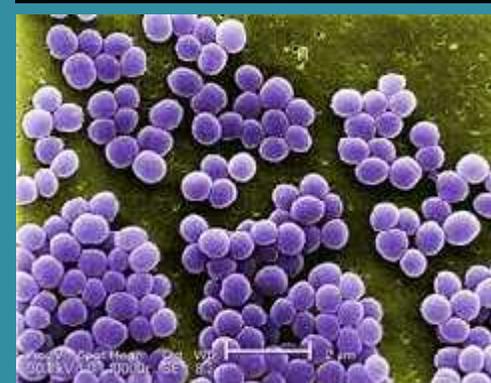


Resultado: positivo para mCIM y negativo para eCIM, reporte: detección de serincarbapenemasa

Las colonias de estafilococos son comúnmente grandes (2 mm a 3 mm a las 24 horas), convexas, lisas, enteras, opacas y con frecuencia pigmentadas, a diferencia de las colonias de estreptococos y Enterococos que son más pequeñas (menos de 2 mm de diámetro), puntiformes, con aspecto translúcido a semiopaco.

Los estafilococos pueden ser fuertemente β hemolíticos en agar sangre de carnero, pero las zonas de hemólisis son menores en relación al tamaño de las colonias que las generadas por los Enterococos y Estreptococos hemolíticos.

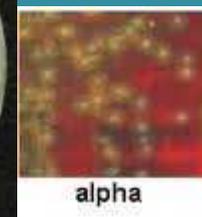
Los estafilococos se agrupan generalmente en racimos, a diferencia de los estreptococos y Enterococos que se reúnen en pares o cadenas.



Las colonias de *Staphylococcus aureus* normalmente son grandes, éstas siguen desarrollando si se deja en incubación por unos días más. Son de borde entero, de superficie lisa, la mayoría de ellas presentan un pigmento que va desde el amarillo crema hasta el naranja.

Las colonias de *Staphylococcus epidermidis* son algo más pequeñas dependiendo de las cepas, usualmente no se detecta pigmentos.

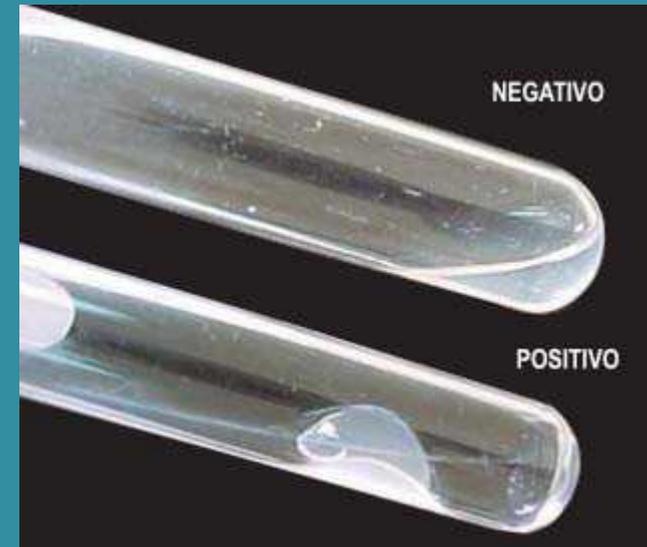
Las colonias de *Staphylococcus saprophyticus* son más grandes que *S. epidermidis*, son lustrosas y más convexas que otras colonias de estafilococos. Un 50% de las cepas son pigmentadas



Prueba de la coagulasa

Positivo: *S. aureus*.

Negativo: *S. epidermidis* o *S. saprophyticus*.



Prueba de la catalasa

- Positivo: *S. aureus*.
- Negativo: *Streptococcus spp.*



Al coger la colonia con el asa de siembra tener cuidado de no llevar algo del medio de agar sangre debido a que la catalasa presente en los eritrocitos puede dar resultados falsos positivos.

Identificación de Enterococos

Los Enterococos pueden presentarse como células únicas, en pares o en cadenas cortas. Se ven de forma cocobacilar cuando la coloración de Gram se realiza de una placa de agar y pueden verse en cadenas cuando se prepara la coloración de Gram a partir de caldo thioglicolato. Son anaerobios facultativos y su crecimiento óptimo es a 35 °C. Muchas cepas crecen a 10 y 45 °C.

Enterococcus es catalasa negativo.

Prueba de la esculina en medio con bilis

- Control negativo: *Staphylococcus aureus*.
- Control positivo: *Enterococcus spp.*



Colonias de *Enterococcus faecalis* en agar sangre



Hidrólisis de la esculina en medio bilis esculina.

IDENTIFICACIÓN DE BACILOS GRAM NEGATIVOS FERMENTADORES: *Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae y Enterobacter*

Comprende el cultivo e identificación por pruebas bioquímicas de las colonias desarrolladas en agar Mac Conkey de las siguientes bacterias: *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Enterobacter*.

Las bacterias Gram negativas fermentadoras se desarrollan en agar sangre de carnero y agar Mc Conkey, pero en agar sangre de carnero no podemos hacer mayor diferenciación entre las colonias, sin embargo, en el agar Mc Conkey podemos diferenciar las colonias lactosa positivas y lactosa negativas.

En agar Mc Conkey, *Escherichia coli* lactosa positiva forma colonias de borde entero, de color fucsia, opacas, de 2 mm – 3 mm de diámetro, usualmente rodeadas de una zona opaca alrededor de la colonia (bilis precipitada). Las cepas de *E. coli* que son lactosa negativa dan colonias incoloras de 3 – 4 mm.



Colonias de *Escherichia coli* en agar Mc Conkey.

En agar Mc Conkey, *K. pneumoniae* forma colonias de borde entero, de color rosado a rosado oscuro, de 3 – 4 mm de diámetro y aspecto mucoso.



Colonias de *Klebsiella pneumoniae* en agar Mc Conkey.

En agar Mc Conkey, *Enterobacter spp* forma colonias de borde entero, de color rosado de 2 – 4 mm de diámetro, no tan mucoides como *K. pneumoniae*.



Colonias de *Enterobacter cloacae* en agar Mc Conkey.

LAS COLONIAS CON ESTAS CARACTERÍSTICAS SON SUBCULTIVADAS EN MEDIOS DIFERENCIALES.

Pruebas bioquímicas

- a) Utilización de lactosa.
- b) Utilización de glucosa
- c) Producción de gas de glucosa.
- d) Descarboxilación de lisina.
- e) Producción de ácido sulfhídrico.
- f) Utilización de citrato.

- g) Producción de ureasa.
- h) Prueba MR.
- i) Prueba VP.
- j) Motilidad.
- k) Producción de indol.



K pn

K pn

Ent

IDENTIFICACIÓN DE BACILO GRAM NEGATIVO NO FERMENTADOR

Pseudomonas aeruginosa

Pseudomonas aeruginosa es fácilmente reconocida en medios de aislamiento primario por sus características:

- Morfología de la colonia
- Producción de pigmentos difusibles si están presentes.
- Olor característico.

Las colonias generalmente son planas, algo extendidas, bordes aserrados, algunas pueden presentar un brillo metálico.

Nota: Algunas cepas de *P. aeruginosa* pueden no producir pigmentos, frecuentemente estas cepas son bastante mucoides y se aíslan a partir de muestras de secreciones respiratorias de pacientes con fibrosis quística.



Colonias de *Pseudomonas aeruginosa* en agar McConkey.

Reacción bioquímica de *P. aeruginosa* en el agar TSI.



Prueba de la oxidasa



Prueba de reducción del nitrato.



Producción de pigmento en *P. aeruginosa*.

Todas las cepas de *P. aeruginosa* crecen a 42 °C.

Producción de pigmentos

Después del período de incubación, realizar la lectura verificando la producción de algún pigmento en el TSA o agar Mueller Hinton.

P. aeruginosa produce pigmentos: verdoso o azul verdoso brillante, rojo o marrón.

Ocasionalmente algunas cepas de *P. aeruginosa* sólo producen pioverdina siendo difícil su diferenciación de otras *P. pseudomonas* como *P. fluorescens* o *P. putida*, sin embargo se puede diferenciar de las otras especies por la temperatura de crecimiento (42 °C).

Lectura

Si no se observara pigmento dejar la placa incubando a temperatura ambiente y realizar la lectura a las 48 horas

CONTROL DE CALIDAD DE CEPAS BACTERIANAS

CONFIRMACIÓN DE LA IDENTIFICACIÓN BACTERIANA

- Se verificará las condiciones de las cepas enviadas (deseccación del medio de transporte, contaminación, rotura o apertura del envase de envío).



CONFIRMACIÓN DE LA IDENTIFICACIÓN BACTERIANA

Las cepas son enviadas al INS para un segundo control de calidad (se confirma que todas las cepas son de igual especie y patrón de susceptibilidad notificada por el LRJ).

Recepción del resultado emitido por el INS y notificación al hospital (reportar concordancia o discordancia).

CONTROL DE
CALIDAD EXTERNO
DE LOS
LABORATORIOS
HOSPITALARIOS

- Se realiza una evaluación del desempeño en bacteriología (vigilancia de MO asociados a IIH) anualmente a los laboratorios de los hospitales de la región Junín que tengan el servicio de microbiología implementado.
- Se envía un panel de 5 cepas bacterianas de identificación desconocida, se adjunta el instructivo correspondiente y los formatos del procesamiento de las cepas.

- El resultado del laboratorio evaluado debe reportar los resultados en un periodo de 15 días luego de recibir las cepas.
- La evaluación se basa en los criterios de género y especie.
- El LRJ elabora y remite el resultado de la evaluación en un periodo de 15 días.



1

**EVALUACION EXTERNA DEL DESEMPEÑO 2008
VIGILANCIA DE MICROORGANISMOS PATOGENOS ASOCIADOS A
ENFERMEDADES DIARREICAS AGUDAS, INFECCIONES RESPIRATORIAS
AGUDAS E INFECCIONES INTRAHOSPITALARIAS**

**I. PROCEDIMIENTOS PARA LA EVALUACION EXTERNA DEL
DESEMPEÑO EN BACTERIOLOGIA**

1.1. Envío de panel de cepas

- 1.1.1 Se enviarán cinco (05) aislamientos de agentes bacterianos desconocidos, en medio de transporte, bajo las normas establecidas en el "Manual de Normas Técnicas de Bioseguridad. Serie de Normas Técnicas No.18, 1997 – INS".
- 1.1.2 Cada uno de los aislamientos se entregará con un código de identificación, el que deberá anotarse en la hoja de respuesta.

1.2. Procesamiento y reporte de resultado

- 1.2.1. Los aislamientos se procesarán de acuerdo a las técnicas descritas en los manuales, guías de práctica del INS, o las que utilizan para su diagnóstico de rutina, utilizando los medios de cultivo y reactivos (incluyendo antisueros)

LABORATORIO N°

LRJ 01 - 2008

Institución :

Fecha de procesamiento :

1.- PRUEBAS BIOQUIMICAS DE IDENTIFICACION:

PRUEBA	RESULTADO: +/-	PRUEBA	RESULTADO: +/-

IDENTIFICACION FINAL DE LA CEPA LRJ 01 - 2008

GENERO

ESPECIE

FECHA DE RECEPCION DE LAS CEPAS:

FECHA DE RECEPCION DE RESULTADOS (para ser completado por el Lab
Referencial) :

RESULTADO DE LA EVALUACION

Código de la cepa	Laboratorio Referencial	Resultado emitido por el Laboratorio evaluado
LRJ 01 – 2008	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus</i> spp.
LRJ 02 – 2008	<i>Shigella sonnei</i>	<i>Enterobacter</i> spp.
LRJ 03 – 2008	<i>Salmonella Typhi</i>	<i>Salmonella</i> spp.
LRJ 04 – 2008	<i>Enterococcus faecalis</i>	Sin identificación
LRJ 05 – 2008	<i>Escherichia coli</i>	<i>Escherichia coli</i>

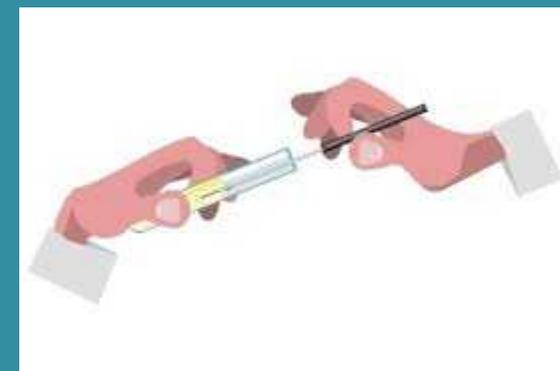
COMENTARIO

Regular concordancia en la identificación de cepas microbianas del panel procesado por Ustedes. Tres cepas concordaron a nivel de género; es importante que la identificación de *Staphylococcus aureus* sea la correcta debido a que es un microorganismo patógeno importante causante de infecciones intrahospitalarias. Revisar sus procedimientos de aislamiento e identificación de bacterias Gram negativas y Gram positivas. No olvidar utilizar medios selectivos y coloración Gram para elegir adecuadamente las pruebas de identificación. Es obligatoria la firma y sello de la persona responsable del procesamiento de las cepas. Agradecemos su participación.

Muestreo de superficies ambientales.

El muestreo de superficies se debería realizar para determinar la existencia de algún microorganismo presente en el ambiente de área críticas, como son instrumentos quirúrgicos, equipos,, lavaderos de manos.

La toma de muestra consiste en el hisopado de una superficie con caldo de BHI, una vez tomadas son inoculadas e incubadas en un medio selectivo AGAR AZIDA Y AGAR MACCONKEY por 24 horas a 37 °c. DIFERENCIACION BIOQUIMICA.



Blga. Adriana Huaracc Tenorio.
Cel. 962583472
adrianitafht@hotmail.com