

Secretaría de Salud Departamento de Laboratorios Nacional de Vigilancia

LABORATORIO NACIONAL DE BACTERIOLOGIA



Dra. Carmen Morales
Jefe Laboratorio Nacional de
Bacteriología, Secretaria de salud

INTRODUCCION

- Existencia de casos sospechosos y factores de riesgo en el país
- Necesidad de desarrollar la capacidad nacional para detectar y diagnosticar la enfermedad y desarrollar medidas de control y prevención.
- Que permita caracterizar la situación clínico- epidemiológico en casos.
- Desarrollar e implementar tecnologías para el diagnostico.

OBJETIVOS DE VIGILANCIA

- Prevenir y controlar las enfermedades.
- Fortalecer la vigilancia clínica, epidemiológica y laboratorial.
- Caracterizar la situación en el país.
- Detección de casos y brotes en zonas de riesgo.



RED NACIONAL DE LABORATORIOS

Laboratorio de Referencia Nacional

Funciones :

- Realizar pruebas confirmatorias de diagnostico
- Estandarización y implementación de Metodología.
- Elaboración de normas y lineamientos.
- Control de calidad a Laboratorios de la red.
- Supervisa actividades de vigilancia en la red.
- Referencia de muestras clínicas para confirmación
- Talleres de capacitación y actualización.
- Elaboración y distribución de manual de procedimientos.
- Apoyo en la investigación de Brotes .



RED NACIONAL DE LABORATORIO

- Regiones departamentales : 20
- Hospitales Departamentales : 18
- Hospitales de Área : 5
- Hospitales Nacionales : 6
- Cesamos : 119

RED NACIONAL DE LABORATORIO



laboratorios

laboratorios						
Centro de Salud	Hospitales Municipales	Hospital Regional/De partamental	Hospitales Nacionales	Laboratorios Regionales	Laboratorio Nacional	Total
119	5	17	6	9	1	157

RED NACIONAL DE LABORATORIOS

- Hospitales Nacionales

Hospital del Sur.

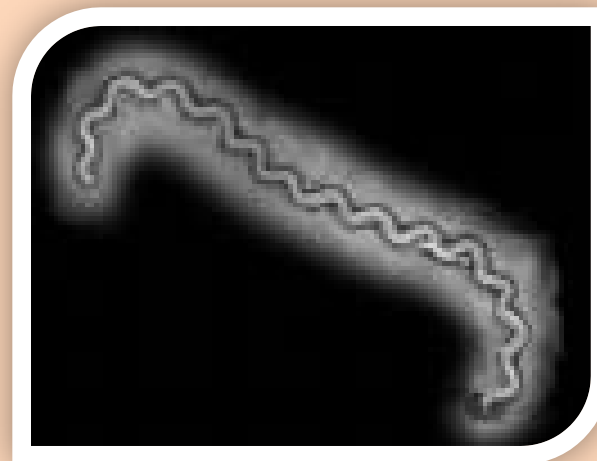
Hospital Atlántida

Hospital de Juticalpa.

Hospital de Occidente.

Hospital Gabriela Alvarado

Hospital Mario Rivas



Esta red tiene la capacidad de realizar los siguientes métodos de diagnostico :

- ❖ **Cultivo** : sangre, orina, LCR, órganos y tejidos
- ❖ **Inmunoserología** :Detección y titulación de anticuerpos : mediante SD Bioline .
- ❖ **Micro aglutinación (MAT)** : Laboratorio Nacional de Bacteriología.
- ❖ **Observación directa** : en muestras clínicas.

VIGILANCIA DE LEPTOSPIROSIS BRUCELLA Y RICKETTSIAS

MUESTRA BIOLÓGICA	TÉCNICA	AGENTE ETIOLÓGICO
Sueros	❖ ELISA IgM ❖ Bioline SD ❖ MAT ❖ Rosa de Bengala ❖ Prueba de Rivanol ❖ IFA	❖ Leptospirosis ❖ Brucella ❖ Rickettsia
Tejidos Muestras de Agua	Aislamiento bacteriano	❖ Leptospirosis

VIGILANCIA LABORATORIAL

Todo paciente sospechoso debe tomarse primero una muestra de sangre el tratamiento

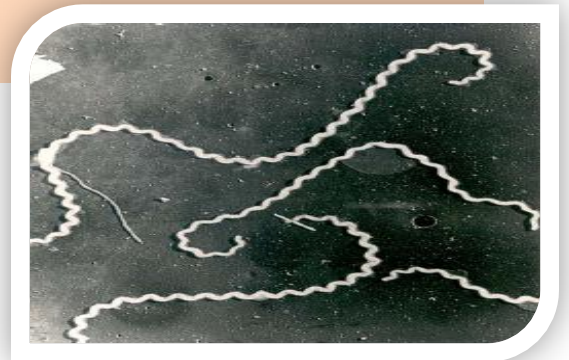
Sangre : CULTIVO

Suero : Diagnostico serológico



HEMOCULTIVO

- Recomendado en los primeros 10 días de la enfermedad antes de la aplicación de antibióticos. Se recolecta sangre venosa asépticamente, se inocula un frasco de 3 – 5 ml de medio con una gota de sangre, el segundo frasco con 2 gotas, el tercer frasco con 3 gotas.



AISLAMIENTO DE LEPTOSPIRA MEDIANTE CULTIVO

- Este procedimiento es confirmatorio 100%

Demuestra la presencia de leptospira en las muestras clínicas:

1. Sangre, orina, LCR, órganos y tejidos
2. Los que se remitirán al laboratorio

DIAGNÓSTICO

contacto con leptospiras

1

2

Leptospiremia

Período de incubación

(2-20 días)

T_0

1^{era}

2^{da}

3^{era}

4^{ta} Semana

Años

SIGNOS Y SINTOMAS
Estado Febril Agudo

SANGRE TOTAL

Métodos Directos:

- Rápidos: EDCO
- Confirmatorio: CULTIVO

DIAGNÓSTICO

contacto con leptospiras

1

2

Período de incubación

(2-20 días)

T_0

3

4

5

6

Leptospiremia

Inmune Leptospiruria

IgM

IgG

SUERO

Respuesta confirmatoria

IgM: 10^{mo} – 17^{mo}

IgG: 10^{mo} – meses /años

1^{era}

2^{da}

3^{era}

4^{ta} Semana

Meses Años

Métodos Indirectos:

-Rápidos: Pesquisajes: Sistemas látex, SD

-Convencionales: Pesquisajes (técnica género específica)

-Confirmatorias: (técnica serogrupo-serovar específica)

VIGILANCIA SEROLÓGICA

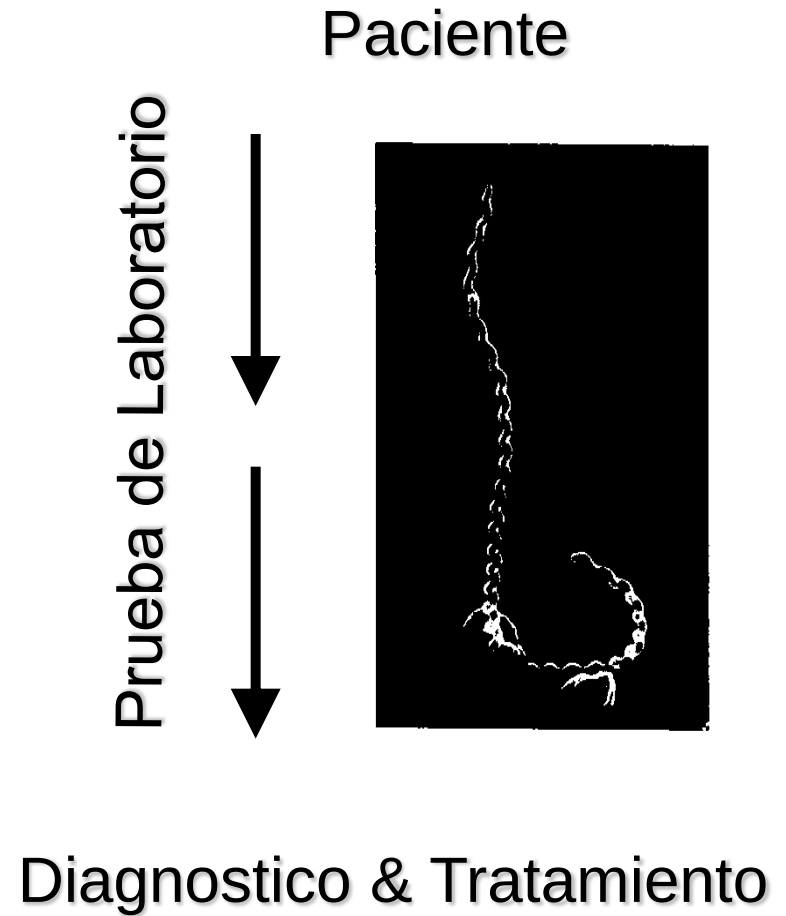


Basada en la detección de Ac IgM

- ❖ Útil en encuestas rápidas en área no endémicas
- ❖ Para definir circulación en nuevas áreas
- ❖ Para definir incremento en el número de casos

Prueba Ideal Para El Laboratorio

- ❖ Económica
- ❖ Sensible y específica
- ❖ Simple
- ❖ Rápida
- ❖ Fácil de leer
- ❖ Disponible

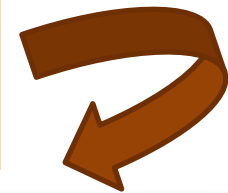
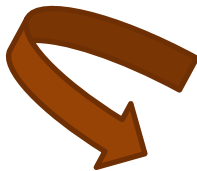


PRUEBAS DIAGNÓSTICAS

**ELISA para la detección
de anticuerpos IgM**



**Pruebas rápidas para la
detección de anticuerpos
IgM Y IgG**



SD LEPTOSPIRA IGM/ IGG LEPTOSPIRA: PARA EL DIAGNÓSTICO DE LA LEPTOSPIROSIS

- ❖ Resultado confiable y rápido a los 20 minutos
- ❖ No requiere ni equipamiento ni entrenamiento especial



- ❖ Se realizan 30 determinaciones por estuche (KIT)
- ❖ Detecta anticuerpos a Leptospira-especificos a IgM e IgG en sueros



- ✓ Sensibilidad: 97,7%
- ✓ Especificidad: 95%



LA SD LEPTOSPIRA IgG / IgM TEST

- ❖ Es un test de fase solida, ensayo de inmunocromatografia, cualitativo y para detección diferencial de anticuerpos IgG y/o IgM de *Leptospira interrogans* en muestras de suero humano.
- ❖ Esta prueba provee solamente un resultado preliminar.
- ❖ Sin embargo otros test serológicos de referencia MAT, Elisa.

son usadas para obtener la confirmación de infección

- ❖ de *Leptospira interrogans*

One Step IgG/IgM antibody to *Leptospira interrogans* Test

SD BIO LINE LEPTOSPIRA IgG/IgM

Test Procedure

- 1** Using micropipette, add $5\mu\text{l}$ of serum or plasma into the sample well marked "S".



OR

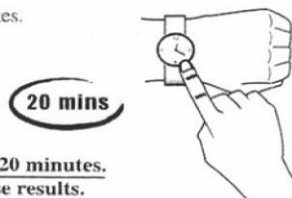
- Using capillary pipette provided, add $5\mu\text{l}$ of serum or plasma into the sample well marked "S".



- 2** Put 4 drops of assay diluent into the round shaped well.



- 3** Interpret test results in 20 minutes.



Do not read the results after 20 minutes.
Reading too late can give false results.

Interpretation

Negative

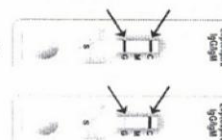
- One pink line "C" in result window at right



Positive

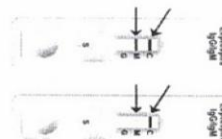
1. IgG positive

- Two pink lines "C" and "G" in result window.
- It is positive even if "G" line is weak.



2. IgM positive

- Two pink lines "C" and "M" in result window.
- It is positive even if "M" line is weak.



3. IgG and IgM positive

- Three pink lines "C", "M" and "G" in result window.



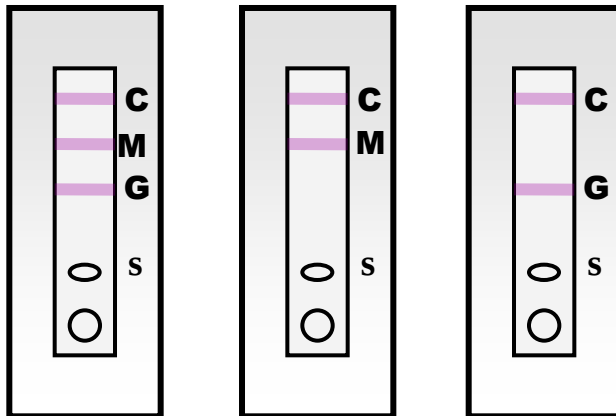
Invalid

- No control (C) line in result window.
- It is recommended that the specimen be re-tested.

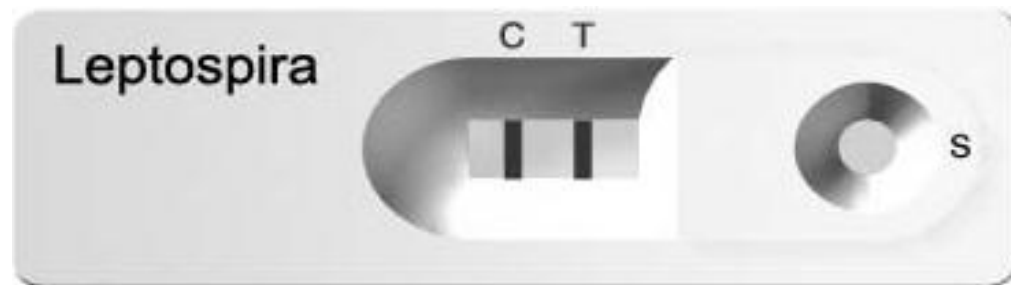
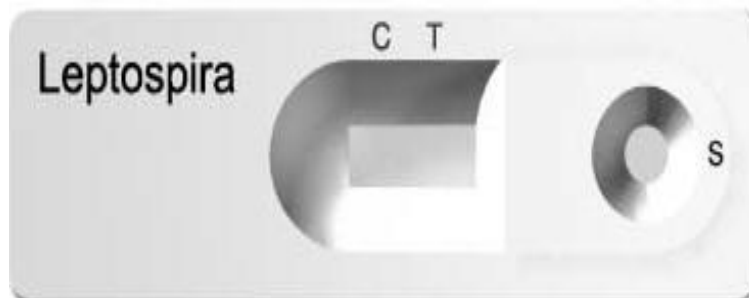
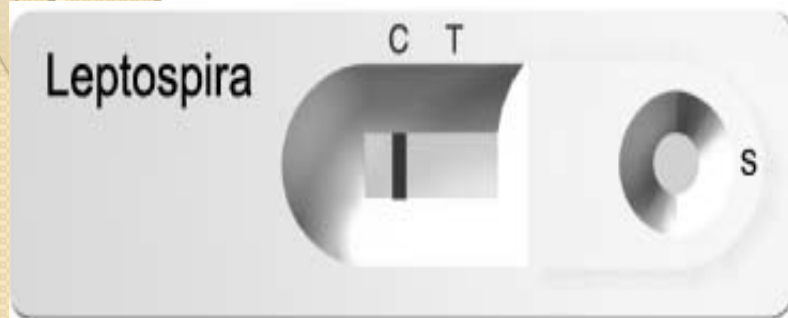


Prueba de SD Leptospira IgM/IgG procedimiento

- ❖ Resultado confiable y seguro a los 20 minutos.
- ❖ No requiere ni equipamiento ni entrenamiento especial.
- ❖ Manos inexpertas lo pueden realizar.
- ❖ Se realizan 30 determinaciones por estuche (KIT).
- ❖ Detecta anticuerpos totales a Leptospira identificándolos en IgM o IgG en sueros.
- ❖ Estabilidad superior a los 2 años a +2° C hasta +45° C.



INTERPRETACIÓN



LIMITACIONES DEL TEST

1. Este test detecta presencia de Ac en la muestra y no debe ser usado como único criterio para el Dx de la enfermedad.
2. Como todo test de Dx, todos los resultados deben ser considerados con la información clínica.

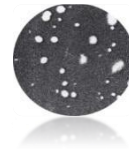
LIMITACIONES DEL TEST

Si el resultado del test es negativo y los síntomas clínicos persisten, use otros métodos adicionales recomendados y confirmatorios.

En comparación con la prueba de aglutinación microscópica (MAT):

- 97.7% sensibilidad
- 95.0% especificidad.

PRUEBA DE MICROAGLUTINACIÓN (MAT)



Técnica de referencia internacional
“GOLD STANDARD”



Diagnóstico serológico



Clasificación de cepas

MICROAGLUTINACION

INFORME DE RESULTADOS

Se informara : El o los serogrupos reaccionantes, seguido del titulo obtenido de las diluciones del suero.

MAT NEGATIVA : suero No Reactivo.

MAT REACTIVA : Suero Reactivo A : Serogrupo y titulo.

CASOS POSITIVOS SEGÚN TÉCNICA DE LABORATORIO

- **CASOS POSITIVOS POR MAT**

Solo sueros pareados : Cuando muestran seroconversión .
Aumento de titulo en 2 o mas diluciones.

- **CASOS POSITIVOS POR OBSERVACION DIRECTA**

Se observa el microorganismo por campo oscuro en muestra clínica.

- **CASO POSITIVO POR CULTIVO :**

Al observar crecimiento del microorganismo.

SEROGRUPOS USADOS COMO ANTÍGENO EN LA MAT

- ❖ *Javanica*
- ❖ *Autumnalis*
- ❖ *Pomona*
- ❖ *Bataviae*
- ❖ *Pyrogenes*
- ❖ *Cynoptery*
- ❖ *Canicola*
- ❖ *Australis*

- ❖ *Tarassovi*
- ❖ *Hebdomadis*
- ❖ *Gryppotypphosa*
- ❖ *Icterohemorrhagiae*
- ❖ *Panamá*
- ❖ *Celledoni*
- ❖ *Hardjo*
- ❖ *Sejroe*

SD LEPTOSPIRA IgM ELISA

FUNDAMENTO DE ELISA.

- El SD Leptospira IgM ELISA es indirecta ELISA de tipo sándwich para la detección cualitativa de anticuerpos IgM contra. Leptospira.
- Los anticuerpos si están presentes en el suero se combinan con el antígeno de leptospira fijado a la superficie de los micro pocillos de polietileno.
- El suero residual se remueve al lavar y se añade conjugado anti-humano IgM , ligado a una enzima peroxidasa.
- Los micro pocitos son lavados y coloreados por un sustrato (peróxido de hidrógeno) mas un cromógeno que es añadido.
- Al hidrolizarse el sustrato por la enzima el cromógeno cambia de color.
- La intensidad del color se relaciona con la concentración de anticuerpo contra leptospiaras presentes en la muestra

SD LEPTOSPIRA IgM ELISA

Sensitivity of SD Leptospira IgM ELISA compared to commercial Leptospira IgM ELISA test

Test Method	105 cases of MAT antibody positive		Sensitivity
	Positive	Negative	
SD Leptospira IgM ELISA	102	3	97.2% (102/105)

Specificity of SD Leptospira IgM ELISA compared to commercial Leptospira IgM ELISA test

Test Method	347 cases of negative human serum		Specificity
	Positive	Negative	
SD Leptospira IgM ELISA	3	344	99.1% (344/347)

CLASIFICACIÓN DE LOS CASOS

❖ Sospechoso

❖ Confirmado:

Por laboratorio

Clínico epidemiológico

Criterios de laboratorio para el diagnóstico

- Aislamiento de la *Leptospira* (cultivos)
- Serología positiva

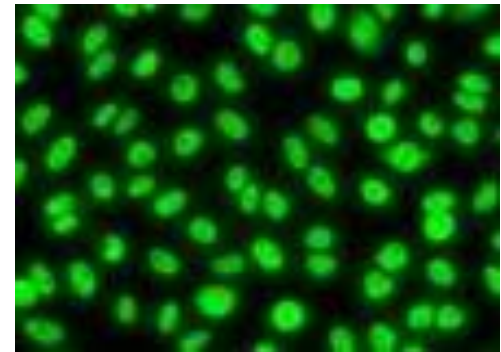
DIAGNOSTICO SEROLOGICO

- La identificación por IFA de Acs específicos IgM para varias especies de rickettsia provee una fuerte evidencia de infección activa, reciente.
- Elisa es mas sensible y mas especifica como IFA para la detección de bajos niveles de Acs, es buena en estados tempranos de la enfermedad.

INMUNOFLUORESCENCIA INDIRECTA

VENTAJAS :

- ❖ **Se pueden obtener resultados rápidos.**
- ❖ **No es necesario realizar cultivos.**
- ❖ **Se puede identificar microorganismos específicos en un grupo mixto.**
- ❖ **Determina la identidad de un organismo muerto.**



DIAGNOSTICO



DIAGNOSTICO INDIRECTO

- **Pruebas serológicas** que indican la presencia de títulos de anticuerpos específicos.

- **Pruebas De Aglutinación**

Usan como antígeno una suspensión bacteriana a la que se añade un colorante (Rosa de Bengala) enfrentándolo al suero.

TÉCNICA DE AGLUTINACIÓN CON ROSA DE BENGALA (RBT)

- Es una prueba tamiz, sensible, rápida y económica.
- Emplea Ag corpuscular de concentración 8% en una solución a pH 3.65
- Es una prueba cualitativa y se interpreta como positiva o negativa.

LECTURA E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

- **Positivo:** El ensayo se clasifica como positivo cuando aparece cualquier aglutinación, aunque sea fina.
- **Negativo:** Se interpreta la ausencia de aglutinación
- Si el resultado es positivo o indeterminado es necesario realizar una prueba de confirmación.

A tropical sunset scene with several palm trees in the foreground. The sun is low on the horizon, creating a bright orange and yellow glow that reflects on the water. A small sailboat is visible on the water in the distance. The text "MUCHAS GRACIAS" is overlaid in the center in a large, white, sans-serif font.

**MUCHAS
GRACIAS**