



Instituto de
Salud Pública
Ministerio de Salud

Gobierno de Chile

Experiencia en la detección de *N. meningitidis* serogrupo W en Chile, 2012

Pamela Araya Rodríguez - Pedro Alarcón López
Instituto de Salud Pública de Chile
2021

MARCO LEGAL CHILE

MINISTERIO DE SALUD

Subsecretaría de Salud Pública

APRUEBA EL REGLAMENTO SOBRE NOTIFICACIÓN DE ENFERMEDADES TRANSMISIBLES DE DECLARACIÓN OBLIGATORIA Y SU VIGILANCIA

Núm. 7.- Santiago, 12 de marzo de 2019.

Artículo 5°.- Vigilancia de laboratorio de los agentes etiológicos aislados de muestras clínicas.

Los agentes microbiológicos causantes de enfermedad, que están sujetos a vigilancia de laboratorio, serán los siguientes:

- a. Agentes relacionados con Infecciones Asociadas a la Atención de Salud según Norma Técnica IAAS Minsal.
- b. *Brucella* spp.
- c. *Candida* spp. (enfermedad invasora)
- d. *Campylobacter* spp.
- e. *Chlamydia trachomatis*
- f. *Coxiella burnetii*
- g. *Escherichia coli* productor de toxina Shiga
- h. *Haemophilus influenzae*
- i. *Legionella* spp.
- j. *Listeria* spp.
- k. *Mycobacterium tuberculosis*
- l. *Neisseria gonorrhoeae*
- m. *Neisseria meningitidis*
- n. Influenza y otros virus respiratorios*
- o. *Rickettsia* spp.
- p. *Salmonella* spp.
- q. *Shigella* spp.
- r. *Staphylococcus aureus* de la comunidad
- s. *Streptococcus agalactiae* (enfermedad invasora)
- t. *Streptococcus pneumoniae* (enfermedad invasora)
- u. *Streptococcus pyogenes* (enfermedad invasora)
- v. *Vibrio cholerae*

MARCO LEGAL CHILE

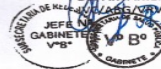


GOBIERNO DE CHILE
MINISTERIO DE SALUD
Subsecretaría Salud Pública
División de Planificación Sanitaria
Departamento de Epidemiología
N°5

Circular B51 N° 09

6 FEB. 2009

VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA Y MEDIDAS DE CONTROL
DE ENFERMEDAD MENINGOCÓCCICA (A39)



SUBSECRETARIA DE SALUD PÚBLICA
DIVISIÓN DE PLANIFICACIÓN SANITARIA
DEPARTAMENTO DE EPIDEMIOLOGÍA
D/ASIST/OTV/VAS/SL/DGU

CIRCULAR N° B51 / 08

17 AGO 2017

VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA DE CASOS SOSPECHOSOS DE
ENFERMEDAD MENINGOCÓCCICA (CIE-10 A39) Y MEDIDAS DE CONTROL

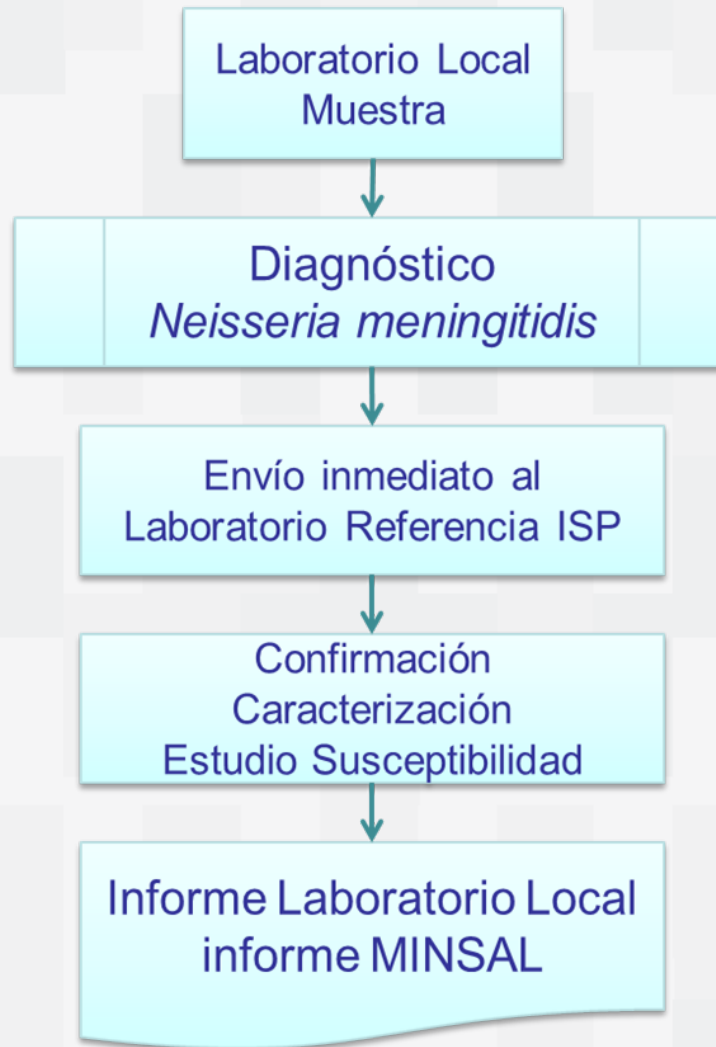
4. ESTUDIO DE LABORATORIO.

El Instituto de Salud Pública (ISP), Centro de Referencia Nacional de laboratorios, es el encargado de confirmar los casos de EM ingresados a la vigilancia y caracterizar las cepas de *N. meningitidis* recibidas a nivel nacional desde los laboratorios locales, así como la realización de estudios adicionales.

3.1 Tipo de Muestras:

Clinica	Muestra de elección	Cantidad y conservación
Cuadro meningeo	Líquido Céfalo Raquídeo (LCR) , obtenido mediante punción lumbar (técnica médica realizada frente a la sospecha de infección del sistema nervioso central. Se requieren 3 tubos de muestra: <ul style="list-style-type: none"> 1º análisis citoquímico; 2º análisis bacteriológico y 3º PCR. 	Para análisis citoquímico y bacteriológico: mínimo 1 ml (ideal 2ml) Para PCR 0,5 cc en criotubo estéril o tubo de poliestireno con tapa rosca. Mantener refrigerada 4-8°C por un período máximo de 4 días, o bien congelada a -20°C por 15 días como máximo. Formularios anexo 5
Todos los cuadros clínicos	Sangre para hemocultivo. <ul style="list-style-type: none"> Se requiere 2 viales para hemocultivo automatizado. Se debe enviar de inmediato al laboratorio local para su incubación por 5 días. Una vez obtenida la cepa, se envía al ISP para confirmación. 	Muestras: <ul style="list-style-type: none"> Adulto: 7-10 ml Pediátrico: hasta 3 ml Mantener t° ambiente 20-25°C Formularios anexo 5
	Sangre para PCR (no hemocultivo). (Alternativa al no obtenerse muestra de LCR o hemocultivo) Enviar al ISP para PCR	Muestra de 0,5 cc (tubo estéril de poliestireno con anti-coagulante EDTA). Cualquier otro tipo de anticoagulante, como heparina u otro, inhiben la PCR Mantener refrigerada 4-8° C. por un período máximo de 4 días, o bien congelada a -20 °C por 15 días como máximo. Formularios anexo 5
Específicos	Aislamiento o confirmación del agente en otro líquido o tejido, según cuadro clínico (líquido articular, otro).	Formularios anexo 5

Vigilancia de Laboratorio



Vigilancia de Laboratorio por PCR en tiempo real

Laboratorio local envía al ISP, una muestra de LCR o sangre, si a las 24 hrs. no presenta desarrollo el cultivo de LCR o hemocultivo; cumpliendo con las siguientes condiciones:



Criterio de laboratorio

Estudio citoquímico de LCR sugerente de meningitis bacteriana:
Recuento de leucocitos > 100 células / mm³.

y/o



Criterio Clínico-Epidemiológico

Caso sospechoso de meningitis bacteriana según:
Circular B.51 N° 50 de 2011, MINSAL.

ispch.cl/andid/resultados-de-vigilancia-de-laboratorio/

Ministerio de Salud

Inicio | Institución | Áreas ISP | Vigilancia Sanitaria | Productos y Servicios | Atención al Ciudadano | Normativa | Resoluciones

Buscador de contenidos

Inicio / Agencia Nacional de Dispositivos Médicos, Innovación y Desarrollo / Sistema Interactivo de Resultados de Vigilancia de Laboratorio

Sistema Interactivo de Resultados de Vigilancia de Laboratorio

Estadísticas de los resultados de la vigilancia de laboratorio de agentes incluidos en el Reglamento sobre notificación de enfermedades transmisibles de declaración obligatoria y su vigilancia (DS N°7/2020 del Ministerio de Salud)



INFECCIONES ASOCIADAS A LA ATENCIÓN EN SALUD

Visualizador de gráficos y tablas con información destacada de las IAAS en Chile



REPORTE MENSUAL

Visualizador de gráficos y tablas de agentes sujetos a vigilancia de laboratorio (DS N°7/19)

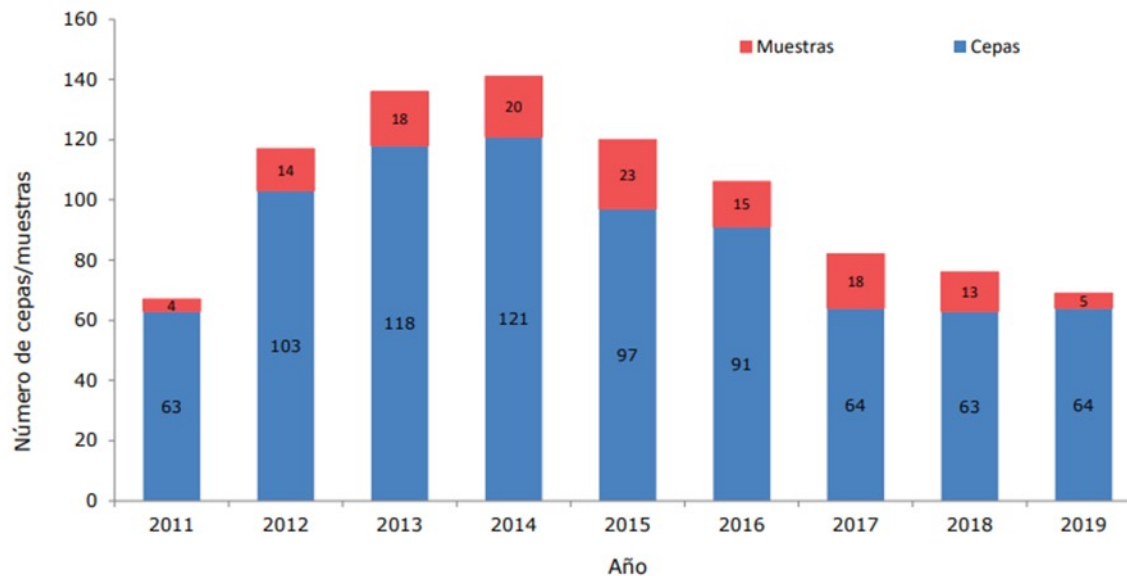


VARIANTES COVID-19

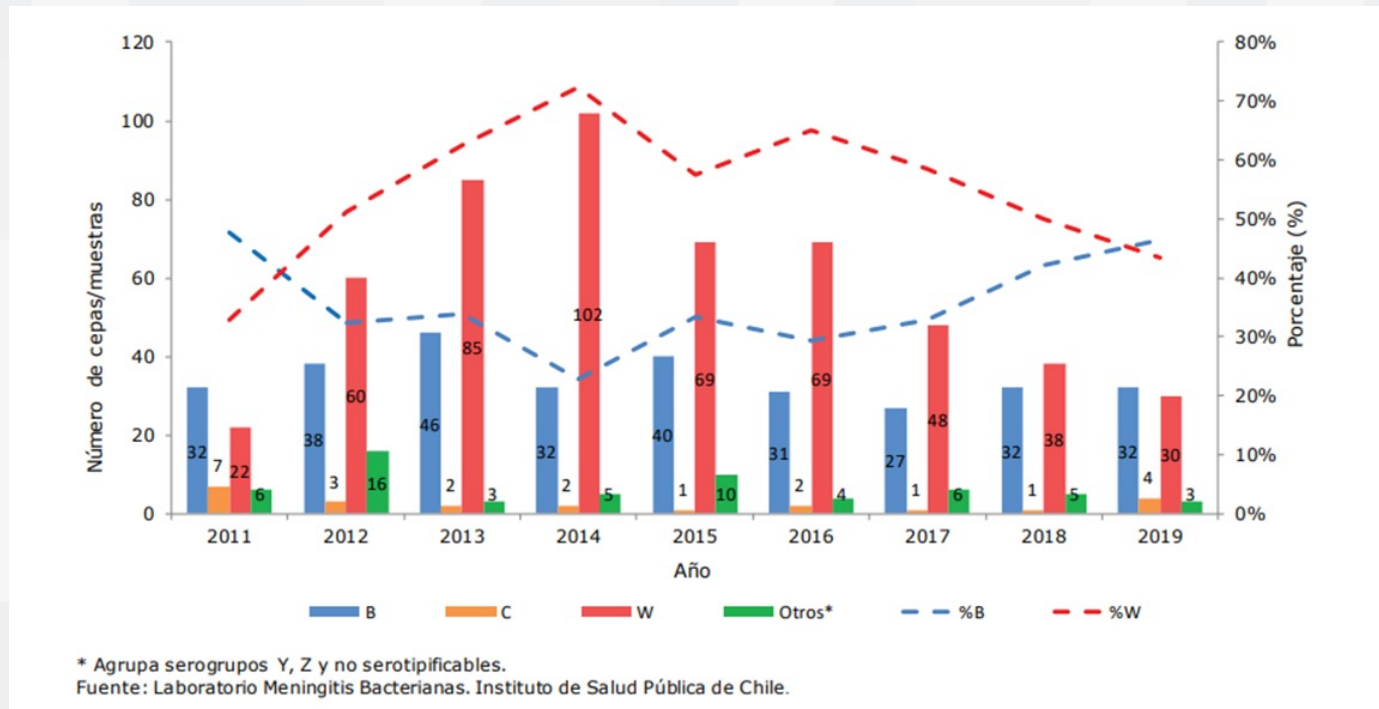
Visualizador de linajes de Covid-19 en Chile

www.ispch.cl

Figura 1. Número de cepas y muestras de *Neisseria meningitidis* según técnica de confirmación. Chile 2011-2019



Entre el año 2011 y el 2019, el Laboratorio de Referencia del ISP confirmó 914 casos de enfermedad invasora por Nm (784 cepas y 130 muestras).



serogrupo de Nm, entre los años 2011 y 2019 el serogrupo W presentó la mayor frecuencia de cepas y muestras confirmadas con el 57,2% (523/914), donde en el año 2014 se alcanzó la cifra más elevada con un 72,3% (102/141) de las cepas y muestras de ese año

Epidemiología

Artículo Original



Vigilancia de laboratorio de enfermedad meningocócica invasora en Chile, 2006-2012

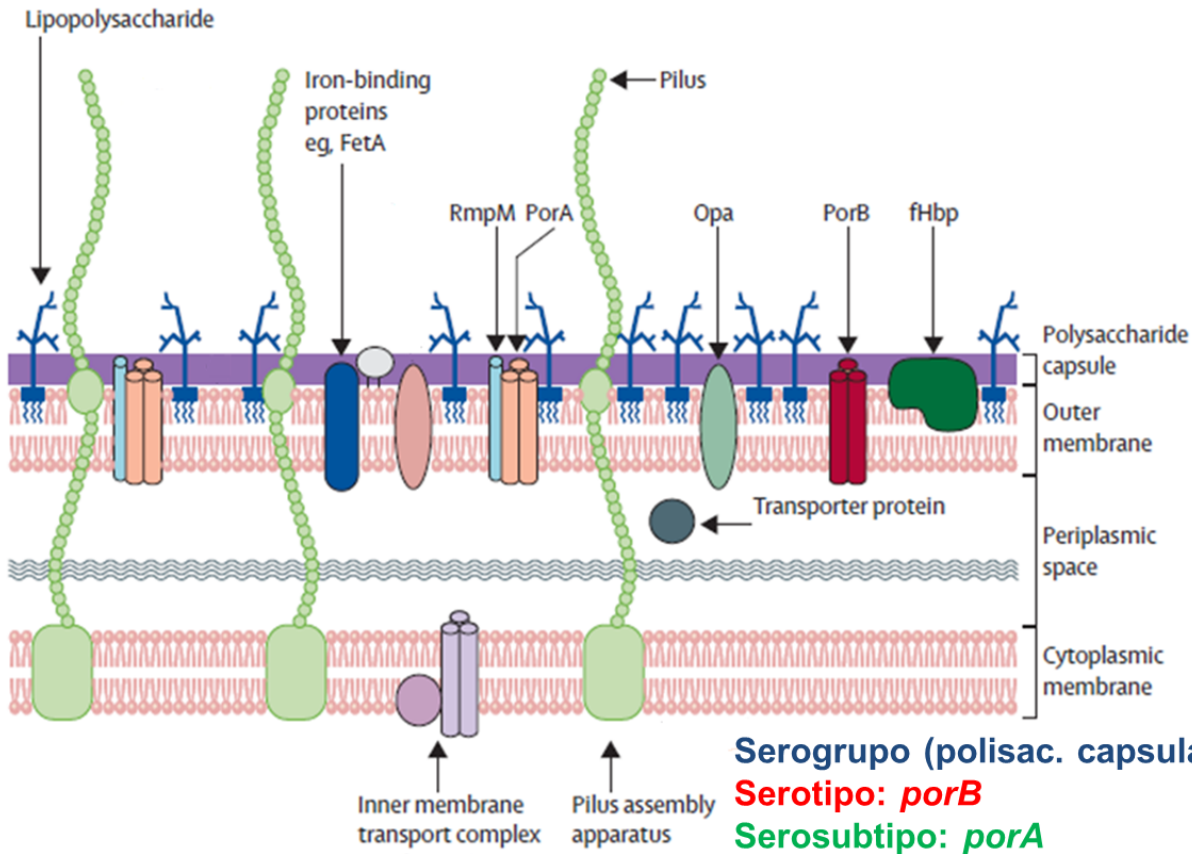
Pamela Araya, Janepsy Díaz, Mabel Seoane, Jorge Fernández, Solana Terrazas, Andrea Canals, Alejandra Vaquero, Gisselle Barra, Juan C. Hormazábal, Paola Pidal y M. Teresa Valenzuela

VIGILANCIA DE LABORATORIO ENFERMEDAD INVASORA

Neisseria meningitidis 2011-2019

VOL. 10, NO. 2, FEBRERO 2020.

CARACTERIZACIÓN DE *N meningitidis*

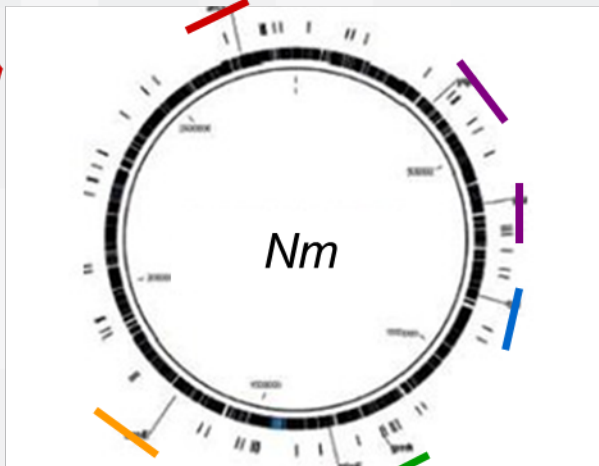


- Serogrupo
- Serotipo
- Serosubtipo

B:2a:P1.5,2

MLST Tipificación por Secuenciación de Multilocus

Amplificación y Secuenciación de fragmentos internos de 7 genes altamente conservados



Fragmentos



Secuenciar
Perfil Alélico



MLST
DataBase



Determinación de Tipo de Secuencia ST
Inclusión en Complejos Clonales CC

MLST



<http://pubmlst.org/neisseria/>

PubMLST

Welcome to PubMLST. This site hosts publicly accessible [Multilocus Sequence Typing \(MLST\)](#) databases and software. We provide means of accessing these databases in common formats suitable for easy linking and importation to local resources.

- [MLST allelic profiles and allele sequences](#) from publicly accessible databases
- [Software](#)
- [Data analysis](#) - web based tools
- Databases hosted on PubMLST
 - Bacterial MLST
 - *Achromobacter*
 - *Acinetobacter baumannii*
 - *Aeromonas spp.*
 - *Arcobacter spp.*
 - *Bacillus cereus*
 - *Bordetella spp.*
 - *Brachyspira spp.*
 - *Burkholderia cepacia* complex
 - *Campylobacter fetus*
 - *Campylobacter spp.*
 - *Chlamydiales spp.*
 - *Clostridium botulinum*
 - *Clostridium difficile*
 - *Clostridium septicum*
 - *Corynebacterium diphtheriae*
 - *Cronobacter spp.*
 - *Haemophilus parasuis*
 - *Helicobacter cinaedi*
 - *Helicobacter pylori*
 - *Lactobacillus salivarius*
 - *Mannheimia haemolytica*
 - *Mycoplasma agalactiae*
 - *Neisseria spp.*
 - *Oral Streptococcus spp.*
 - *Pasteurella multocida*
 - *Porphyromonas gingivalis*
 - *Propionibacterium acnes*
 - *Pseudomonas aeruginosa*
 - *Sinorhizobium spp.*
 - *Stenotrophomonas maltophilia*
 - *Streptococcus agalactiae*
 - *Streptococcus uberis*
 - *Streptococcus zooepidemicus*
 - *Streptomyces spp.*
 - *Vibrio parahaemolyticus*
 - *Vibrio tapetis*
 - *Vibrio vulnificus*
 - *Wolbachia spp.*
 - *Xylella fastidiosa*
 - *Yersinia spp.*
 - *Yersinia ruckeri*
 - + Eukaryote MLST
 - + Other databases
- [MLST schemes hosted on other sites](#)
- [All species MLST databases](#) (local and externally hosted) and published schemes
- [Recent publications that use or mention MLST](#)
- [News and updates](#)

MLST

Sequence type [ST]

Batch MLST profile query - Neisseria locus/sequence definitions

Isolate	abcZ	adk	aroE	fumC	gdh	pdhC	pgm	ST	clonal complex
37-10	4	10	5	4	6	3	8	32	ST-32 complex/ET-5 complex
38-10	4	10	5	4	6	3	8	32	ST-32 complex/ET-5 complex
12-10	4	10	5	9	6	3	8	3822	ST-32 complex/ET-5 complex
36-10	4	10	5	264	6	3	8	5138	ST-32 complex/ET-5 complex
32-10	6	3	4	9	8	13	169	1768	
8-10	6	3	4	9	8	6	169	9219	
46-10	4	10	5	4	6	3	564	-	-

MLST database submission system

Logged in as gbarra (Gisselle Barra Retamal)

[Log out](#)

[Edit account details](#)

Database: Neisseria PubMLST

If you have previously submitted isolate data to the PubMLST database and these have since been included in a publication, we encourage you to submit PubMed links for these isolates. This can be done by creating a new submission, selecting the appropriate option, then simply entering a PubMed id number and pasting in a list of ids to be linked.

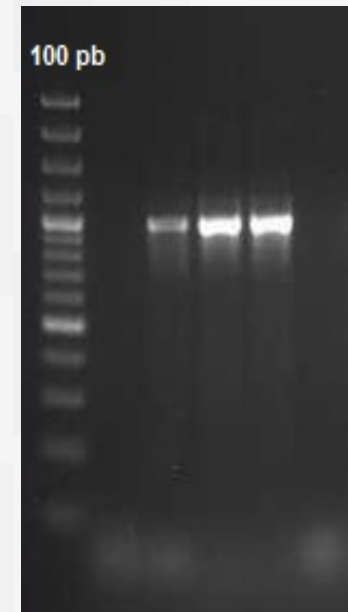
- [Create new submission](#)

Caracterización genética

Metodología

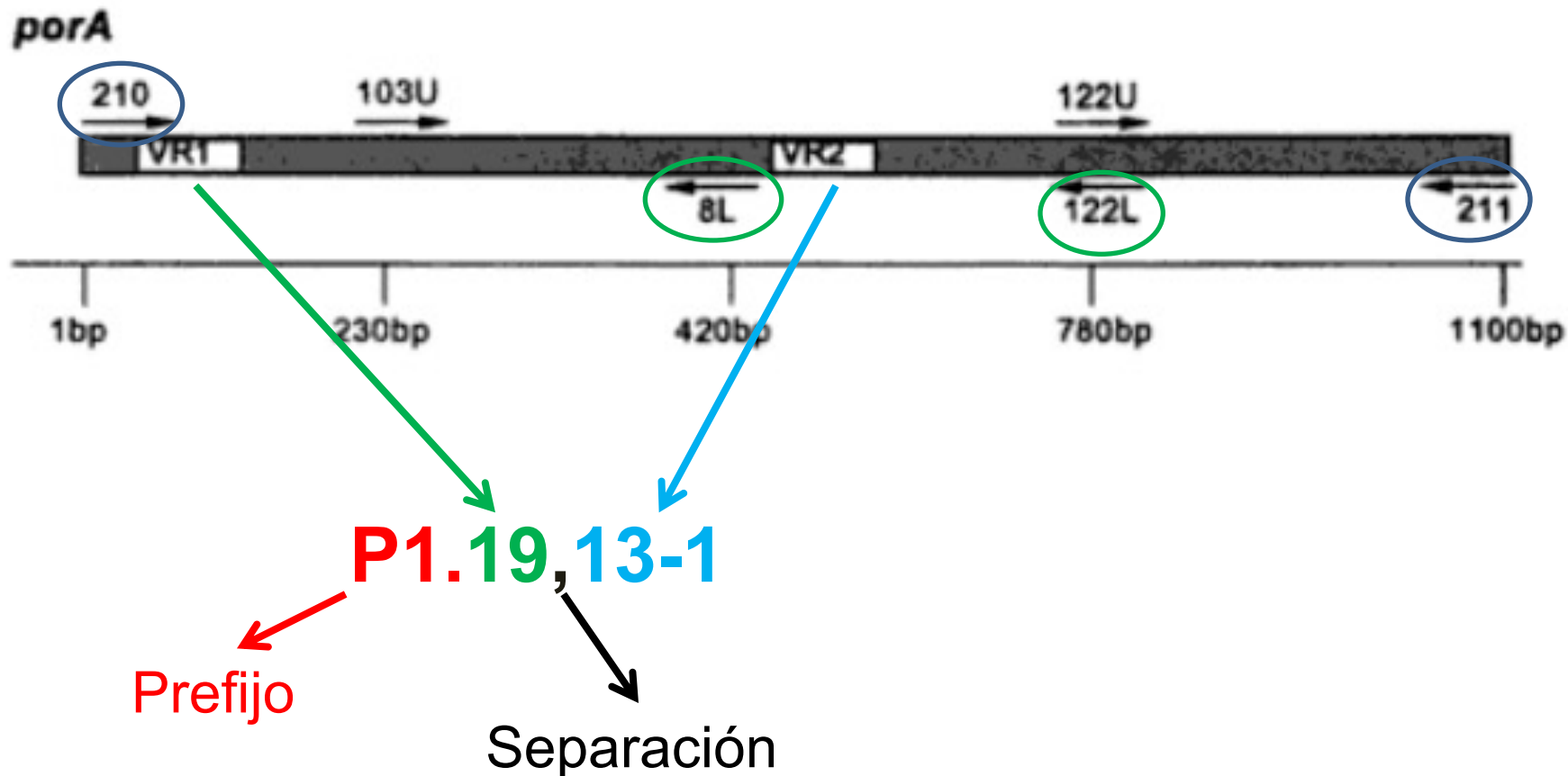
Subtipificación Por A

- ▶ Extracción de ADN
 - Shock térmico
- ▶ Amplificación del gen *porA*
- ▶ Purificación de producto PCR
 - Polietilenglicol
 - Purificación por Kit E.Z.N.A. Gel extraction
- ▶ Secuenciación



Fundamentos de Caracterización

Serosubtipificación



Serosubtipificación

Neisseria PorA typing

The PorA variable region and *porA* allele databases have been incorporated in to the [Neisseria MLST sequence definition database](#), allowing querying from a unified interface.

Information about the PorA variable regions can be found in [Russell et al., Emerg Infect Dis 2004 10:674-8](#).

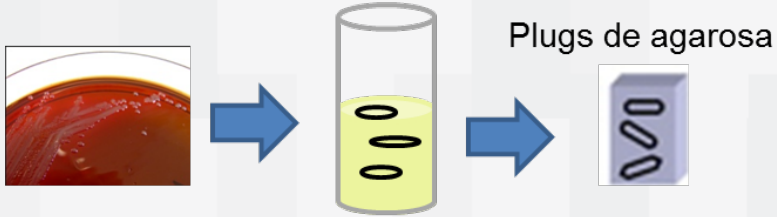
- [Neisseria Typing Home](#)
- [PorA VR1 sequences](#)
- [PorA VR2 sequences](#)
- Identify PorA variable regions
 - [Single sequence query](#)
 - [Batch sequence query](#)
- Search by sequence attributes: [VR1](#) | [VR2](#)
- [Submission of new variant sequences](#)
- [Submission history](#)

Database statistics

- PorA VR1: 242 variants (last updated: 2012-10-02)
- PorA VR2: 664 variants (last updated: 2012-11-01)
- *porA*: 162 alleles (last updated: 2012-05-28)
- *NEIS1364*: 265 alleles (last updated: 2012-09-18)

Electroforesis campo pulsado PFGE

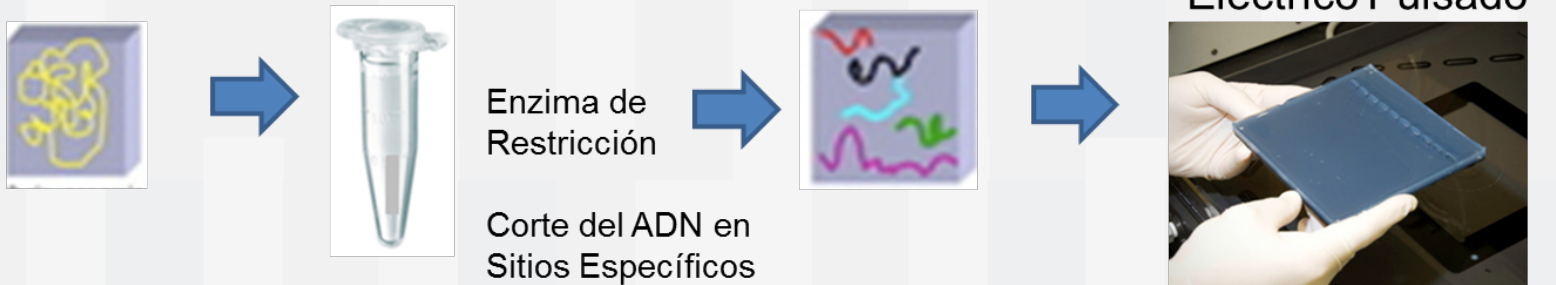
Extracción



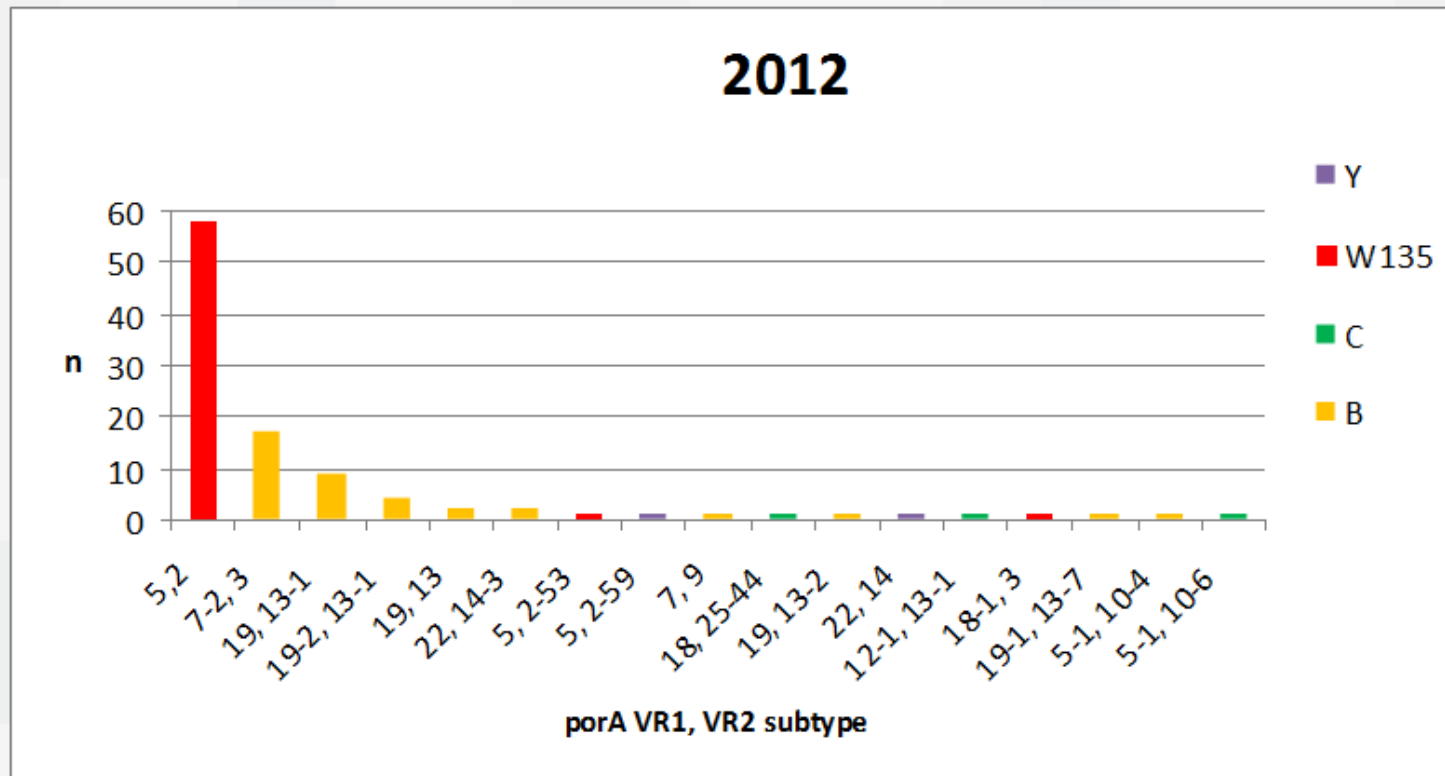
Lisis Emulsión bacteriana



Digestión del ADN



Resultados Serosubtipo por A



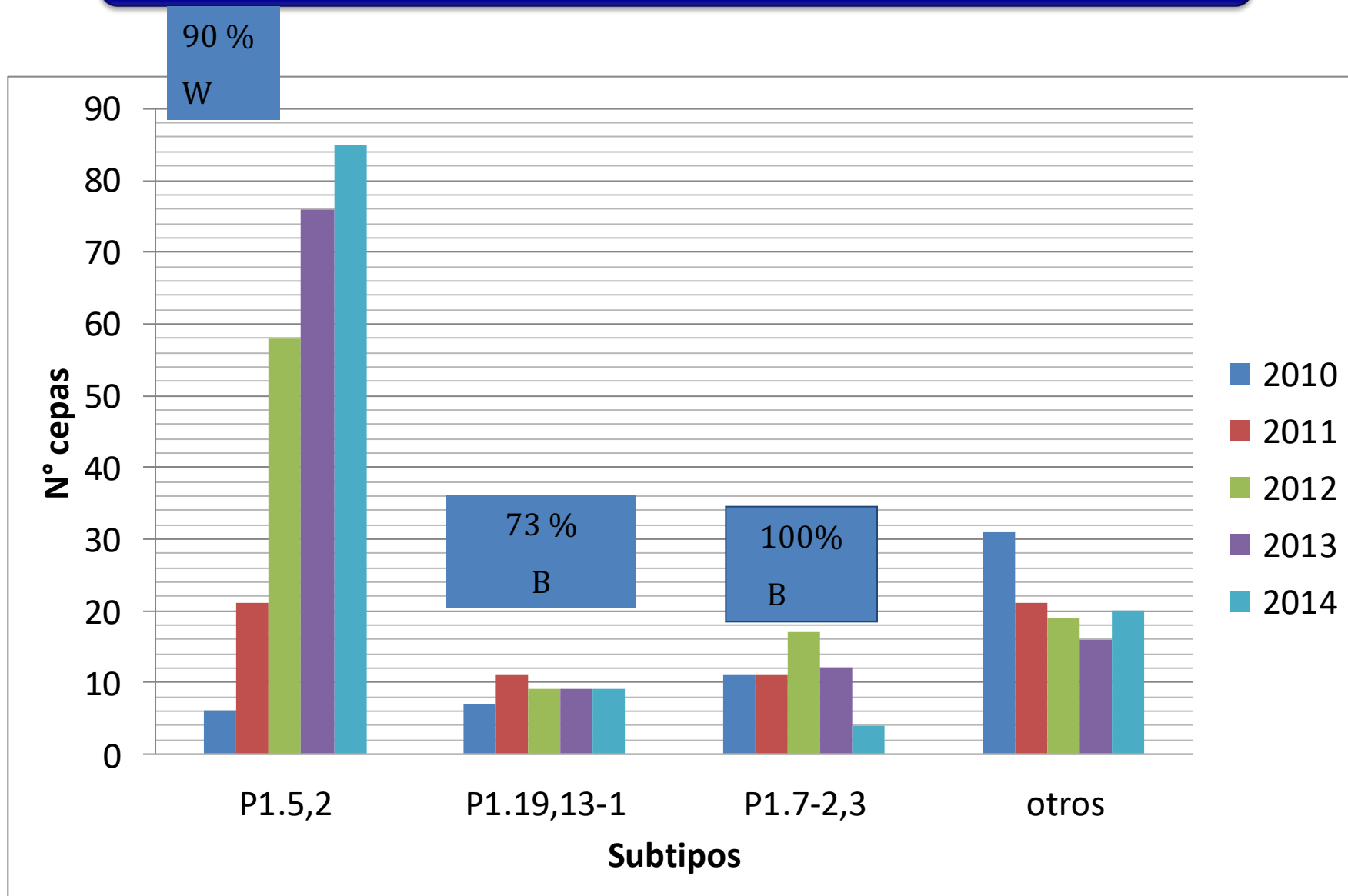
17 combinaciones de las regiones VR1 VR2

P1.5,2 56,3%. (58). Serogrupo W135.

P1.7-2,3 16,5%. (17). Serogrupo B

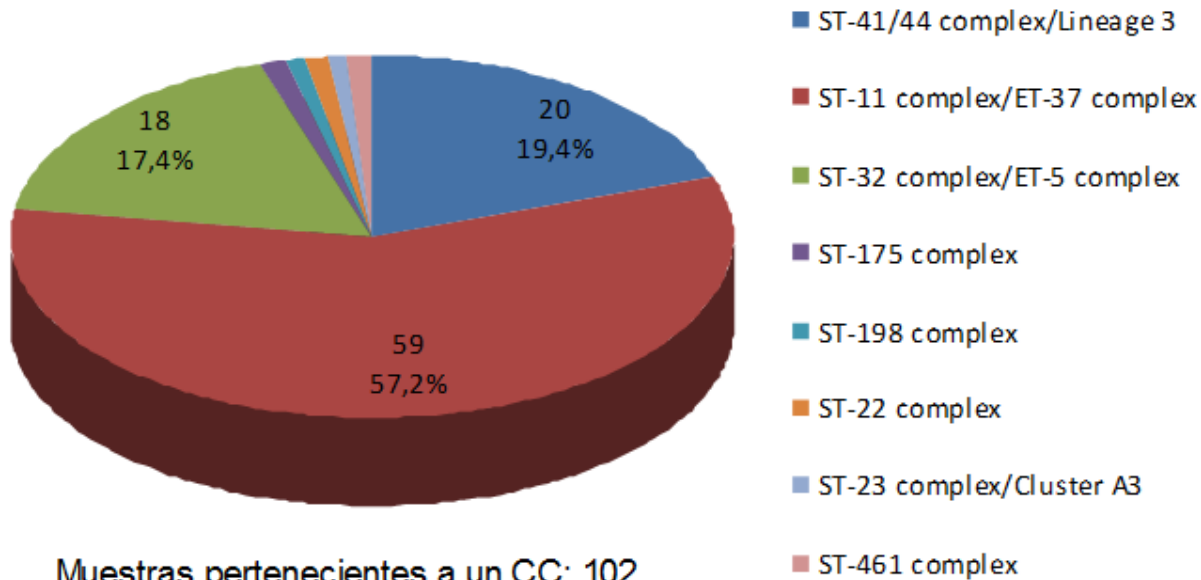
P1.19,13-1 8,7%. (9). Serogrupo B

Caracterización Subtipos

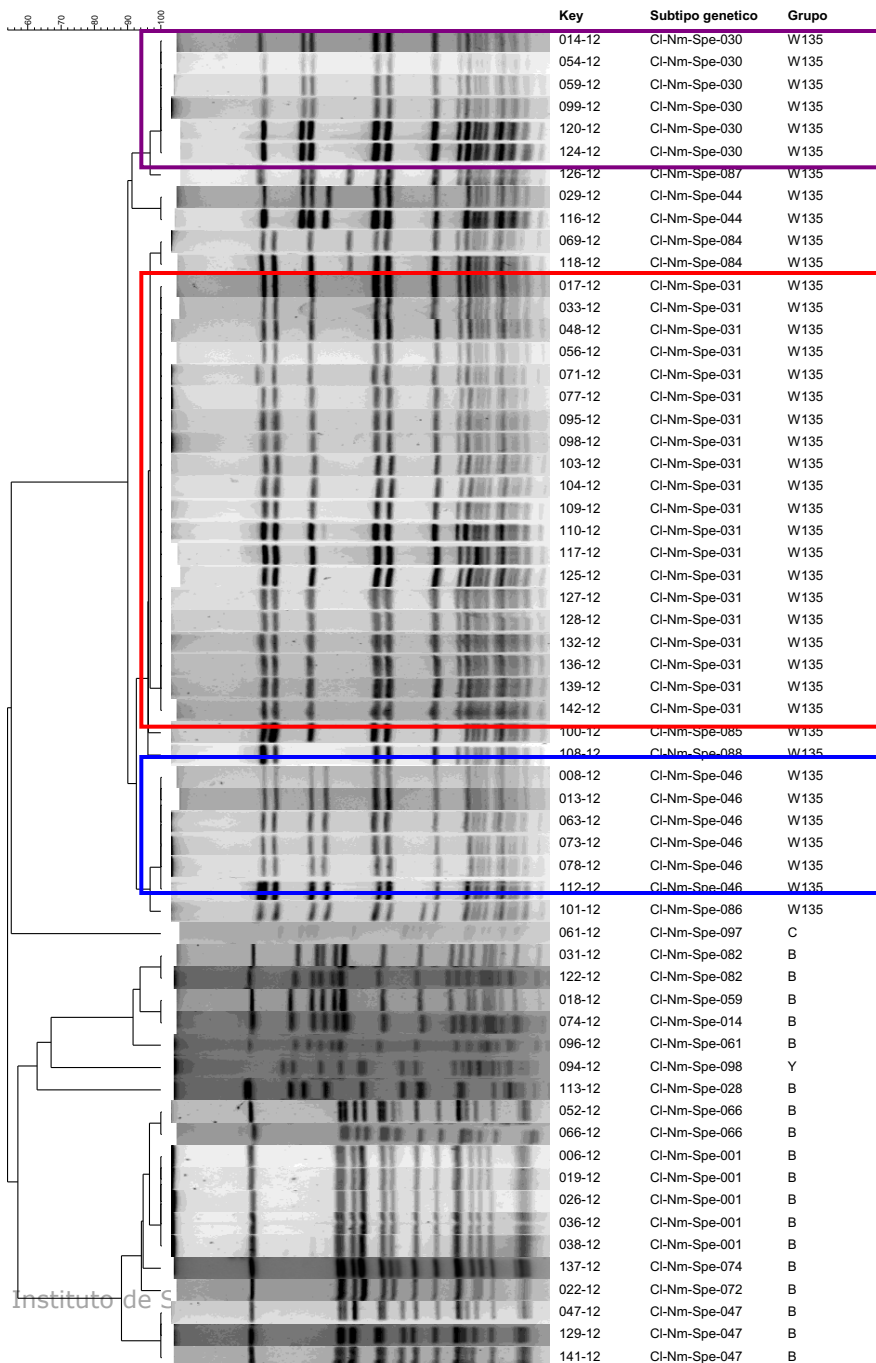


MLST 2012

Complejos Clonales identificados



- 8 CC identificados
- **CC ST-11**: 57,2% (59).
Serogrupo W (58)
Serogrupo C (1).
- **CC ST-44**: 19,4% (20).
Serogrupo B (20)
- **CC ST-32**: 17,4% (18)
Serogrupo B (17).
Serogrupo W135 (1)



PFGE 2012

- 37 Subtipos genéticos
- CI-Nm-Spe-030 (6)
- **CI-Nm-Spe-031 (27)**
- CI-Nm-Spe-046 (6)

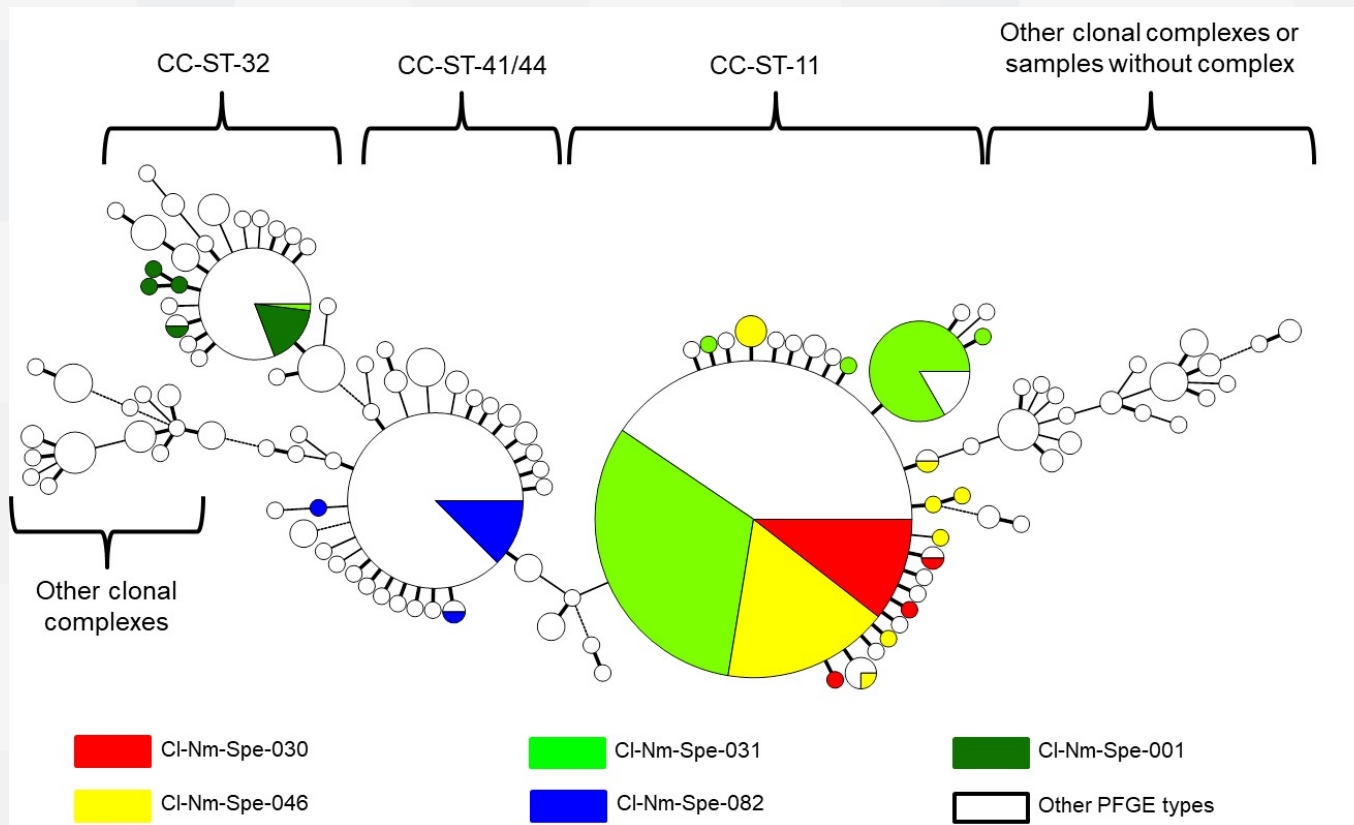


Table 2. Characteristics of *Neisseria meningitidis* serogroup W isolates from 60 patients with invasive meningococcal disease, Chile, 2012*

Characteristic	Genotype				
	W:P1.5,2:ST-11, n = 58			W:P1.5,2-53:ST-11, n = 1	W:P1.18-1.3:ST-22, n = 1
Clinical outcome†	A39.0, n = 12	A39.2, n = 39	Other, n = 7	A39.2, n = 1	A39.0, n = 1
<i>fbp</i> gene allele					
16, n = 1	0	0	0	0	1
19, n = 1	0	1	0	0	0
22, n = 58	12	38	7	1	0
PFGE pattern					
CI-Nm-Spe-030, n = 7	1	5	1	0	0
CI-Nm-Spe-031, n = 33	5	24	4	0	0
CI-Nm-Spe-044, n = 2	0	2	0	0	0
CI-Nm-Spe-046, n = 8	2	5	1	0	0
CI-Nm-Spe-083, n = 1	0	0	0	0	1
CI-Nm-Spe-084, n = 3	2	1	0	0	0
CI-Nm-Spe-085, n = 2	1	1	0	0	0
CI-Nm-Spe-086, n = 1	1	0	0	0	0
CI-Nm-Spe-087, n = 1	0	0	1	0	0
CI-Nm-Spe-088, n = 1	0	1	0	0	0
CI-Nm-Spe-100, n = 1	0	0	0	1	0

*PFGE, pulsed-field gel electrophoresis.

†Codes from International Classification of Diseases, 10th Revision. Clinical outcomes: meningitis (A39.0); meningococemia (A39.2); Other: Waterhouse-Friderichsen syndrome (A39.1); meningococemia unspecified (A39.4); other meningococcal infections (A39.8) and nonspecified invasive meningococcal disease (A39.9).

***Neisseria meningitidis* ST-11 Clonal Complex, Chile, 2012**

Pamela Araya, Jorge Fernández, Felipe Del Canto, Mabel Seoane, Ana B. Ibarz-Pavón, Gisselle Barra,
Paola Pidal, Janepsy Díaz, Juan C. Hormazábal, María T. Valenzuela

Conclusiones

Las herramientas de tipificación molecular estandarizadas son fundamentales para caracterizar agentes infecciosos de diseminación global

Las cepas predominantes el año 2012 de Nm en nuestro país se caracterizaron como: W:P1.5,2:ST-11

La cepa W:P1.5,2:ST-11 ha presentado una agresiva expansión clonal, desplazó al serogrupo B como principal causa de enfermedad meningocócica en Chile

Desde el año 2012 se comenzó la vacunación a niños de 9 meses a 5 años; en el año 2014 se incorporó la vacunación obligatoria en programa nacional de inmunización contra Nm



**Instituto de
Salud Pública**
Ministerio de Salud

Gobierno de Chile

Gracias