

BOALA DIAREICA ACUTA (BDA) SI HOLERA

I. Denumirea si incadrarea bolii

Cod CIM:

- **A 00 = Holera**

A 00.0 – cu *Vibrio cholerae*, serogrup O1, biovar ElTor sau clasis/O139

- **A 02 = Alte salmonelloze** (cuprinde infectia sau intoxiciatia alimentara cu alte Salmonelle decat *typhi* si *paratyphi*)

A 02.0 – Enterita cu *Salmonella* (salmonelloze)

- **A 03 = Shigelloza** (dizenteria bacilara)

A 03.0 – Shigelloza cu *Shigella dysenteriae* (grupa A)

A 03.1 – Shigelloza cu *Shigella flexneri* (grupa B)

A 03.2 – Shigelloza cu *Shigella boydii* (grupa C)

A 03.3 – Shigelloza cu *Shigella sonnei* (grupa D)

- **A 04 = Alte infectii intestinale bacteriene**

A 04.0 – Infectia enteropatogena prin *Escherichia coli patogen*

A 04.1 – Infectia enterotoxigena prin *Escherichia coli toxigen*

A 04.2 – Infectia enteroinvaziva prin *Escherichia coli*

A 04.3 – Infectia enterohemoragica prin *Escherichia coli*

A 04.5 – Enterita prin *Campylobacter*

A 04.6 – Enterita prin *Yersinia enterocolitica*

A 04.7 – Enterocolita prin *Clostridium difficile*

- **A 07 = Alte boli intestinale prin protozoare**

A 07.1 – Giardiaza

A 07.2 – Cryptosporidioza

- **A 08 = Alte infectii virale si intestinale, precizate**

A 08.0 – Enterita prin *Rotavirus*

A 08.3 – Alte enterite virale (pentru *Norovirus*)

II. Fundamentarea supravegherii

Etiologia BDA este insuficient documentata in Romania, iar riscul de import al cazurilor de holera continua sa existe.

Conditii geo-climatice din zona Deltei Dunarii si cea a litoralului Marii Negre sunt favorabile dezvoltarii vibriionului holeric.

Din datele existente la Centrul pentru Prevenirea si Controlul Bolilor Transmisibile reiese faptul ca in sezonul iunie-noiembrie 2007, in cadrul supravegherii bolii diareice acute, s-au identificat, din 131.433 coproculturi efectuate, doar 2155 agenti etiologici.

Aceste aspecte impun o revigorare a sistemului de supraveghere epidemiologica a BDA si a holerei.

Referinte legislative:

Legislatia europeana:

- *Decizia Comisiei Europene 2119/98/EC*, modificata prin *Decizia Comisiei Europene 2007/875/CE*, stabileste necesitatea constituirii unei retele europene de supraveghere a bolilor transmisibile;

- *Decizia Comisiei Europene 2000/96/EC*, modificata prin *Decizia Comisiei Europene 2007/875/CE*, contine lista bolilor transmisibile care prezinta obligativitatea supravegherii si raportarii
- *Decizia Comisiei Europene 2000/57/EC*, inlocuita prin *Decizia Comisiei Europene din 28/IV/2008*, privind evenimentele care trebuie raportate in sistemul de alerta precoce si raspuns rapid, pentru preventia si controlul bolilor transmisibile.

Legislatia romana in vigoare:

- *HG nr. 589/2007 privind stabilirea metodologiei de raportare si de colectare a datelor pentru supravegherea bolilor transmisibile;*
- *Ordinul MS nr. 883/2005 privind aprobatia Metodologiei de alerta precoce si raspuns rapid in domeniul bolilor transmisibile;*
- *Ordinul MS nr. 860/2004 privind aprobatia Listei bolilor transmisibile prioritare in Romania* prevede ca holera si boala diareica acuta sunt boli transmisibile prioritare, supravegheate pe baza unei metodologii de supraveghere;
- *Ordinul MS nr. 588/2000 privind stabilirea unor categorii de boli pentru care raportarea testarilor de laborator este obligatorie* prevede ca toate laboratoarele medicale, indiferent de sistemul din care fac parte, vor raporta semestrial, incepand cu 01.08.2000, la INCDMI Cantacuzino, numarul microorganismelor izolate si identificate, precum si rezultatele antibiogramelor efectuate
- *Ordinul MSP nr. 574/269/2008 pentru aprobatia Normelor tehnice de realizare a programelor nationale de sanatate in anul 2008* prevede realizarea indicatorului de rezultat – anual: indicele de confirmare in laborator al bolilor transmisibile – minimum 50% (nr. cazuri confirmate in laborator/nr. cazuri boala transmisibila raportate)

III. Scop:

- evaluarea potentialului epidemiologic al bolii diareice acute in Romania si a profilului microbiologic al acestora

IV. Obiective:

- monitorizarea incidentei bolii diareice acute in vederea depistarii in timp util a focarelor/epidemiiilor de BDA
- identificarea etiologiei in vederea analizarii pe tipuri gnosologice a sindromului diareic si cunoasterea rezistentei la antibiotice a celor bacterieni
- determinarea eficientei masurilor de control aplicate
- depistarea rapida a cazurilor sporadice suspecte de holera in Romania

V. Definitie de caz:

V.1. Boala diareica acuta

Criterii clinice:

Diaree acuta: Orice persoana care prezinta cel putin trei scaune moi in ultimele 24 de ore, cu sau fara deshidratare.

Diaree acuta cu sange: Diaree acuta cu sange vizibil.

Criterii de laborator :

- identificarea agentului etiologic al BDA (bacterian, viral)

Criterii epidemiologice :

Cel putin unul din urmatoarele trei link-uri epidemiologice:

- expunere la o sursa comună
- transmitere interumana
- expunere la elemente contaminate din mediu

Clasificarea cazurilor:**A. Caz posibil:**

Orice persoana care intruneste criteriile clinice.

B. Caz probabil:

Orice persoana care intruneste criteriile clinice si un link epidemiologic.

C. Caz confirmat:

Orice persoana care intruneste criteriile clinice si de laborator.

V. 2. Holera**Criterii clinice:**

Orice persoana care prezinta:

- diaree apoasa acuta
- varsaturi
- crampe musculare
- hipotermie
- deshidratare
- colaps

Criterii de laborator:

- izolarea Vibrio cholerae dintr-o proba biologica

si

- detectia antigenului O1 sau O139 in izolat

si

- detectia enterotoxinei holerice sau detectia genei enterotoxinei holerice in izolat

Criterii epidemiologice:

Cel putin unul din urmatoarele patru link-uri epidemiologice:

- expunere la o sursa comună;
- transmitere interumana;
- expunere la alimente/apa de baut contaminate;
- expunere la elemente de mediu contaminate

Clasificarea cazurilor:**A. Caz posibil:**

NA (nu se aplica).

B. Caz probabil:

Orice persoana care intruneste criteriile clinice si un link epidemiologic.

C. Caz confirmat:

Orice persoana care intruneste criteriile clinice si de laborator.

VI. Tipuri de supraveghere:

Supravegherea epidemiologica a bolii diareice acute (BDA) si a holerei, cu notificare si raportare in baza **HG nr. 589/2007**, este pasiva si se desfasoara la nivelul **TUTUROA** Autoritatilor de Sanatate Publica Judetene si a municipiului Bucuresti, iar la nivelul

Autoritatilor de Sanatate Publica Judetene Braila, Constanta, Galati si Tulcea, toate cazurile de BDA raportate vor fi investigate **OBLIGATORIU** cu laboratorul si pentru **vibrio**nul **holeric**.

Criteriile de selectie a judetelor Braila, Constanta, Galati si Tulcea pentru supravegherea circulatiei vibrioului holeric au fost:

- mediu propice dezvoltarii vibrioului holeric judetele Braila, Galati si Tulcea (riverane Dunarii si loc de varsare a fluviului) si
- zona maritima importanta cu risc de import al holerei, judetul Constanta

VII. Perioada supravegherii:

- perioada iunie-noiembrie a fiecarui an

VIII. Culegerea, validarea datelor si circuitul informational:

Supravegherea epidemiologica a cazurilor se desfasoara in perioada iunie - noiembrie.

Spitalul/sectia de boli infectioase, respectiv unitati sanitare altele decat cele cu profil de boli infectioase:

- Raporteaza catre ASPJ, in fiecare zi de *luni*, pentru saptamana precedenta:
 - numarul de cazuri interne cu diagnosticul de BDA
 - numarul de cazuri externe cu diagnosticul etiologic precizat (conform CIM)
 - numarul de cazuri externe cu diagnosticul de BDA cu agent etiologic neprecizat
 - numarul cazurilor externe cu infirmarea BDA
- pe urmatoarele grupe de varsta: sub 1 an, 1-4 ani, 5-9 ani, 10-14 ani, 15-64 ani si 65 de ani si peste, precum si numarul de decese prin BDA inregistrate la copilul sub 1 an;
- Prelevarea probelor biologice se va face inainte de administrarea de antibiotic, iar pastrarea si transportul probelor pentru diagnosticul de laborator, precum si a celor pozitive pentru confirmare, de la sectia/spitalul de boli infectioase, respectiv unitati sanitare altele decat cele cu profil de boli infectioase, la laboratorul de microbiologie al ASPJ se vor face conform protocoalelor de recoltare, pastrare si transport probe biologice din anexe 4, 5 si 6.

Laboratoarele de analize medicale (cu exceptia laboratorului ASPJ) din judet:

- Raporteaza catre ASPJ, in fiecare zi de *luni*, numarul de examene coprobacteriogice efectuate in saptamana precedenta si etiologiile identificate, in saptamana precedenta.
- Trimit la laboratorul de microbiologie al ASPJ, pentru identificarea agentului etiologic, toate tulpinile neidentificate. Pastrarea si transportul tulpinilor izolate la laboratorul de microbiologie al ASPJ, se va face conform protocoalelor din anexe 4, 5 si 6.

NOTA: In judetele Braila, Constanta, Galati si Tulcea, la toate cazurile raportate, interne sau nu, cu diagnosticul de BDA, probele prelevate pentru stabilirea etiologiei vor fi testate OBLIGATORIU si pentru vibrionul **holeric**.

Medicii de familie din judetele Braila, Constanta, Galati si Tulcea:

- Raporteaza catre ASPJ, in fiecare zi de *luni*, cazurile diagnosticate cu BDA in saptamana precedenta, pe urmatoarele grupe de varsta: sub 1 an, 1-4 ani, 5-9 ani, 10-14 ani, 15-64 ani si 65 de ani si peste, precum si numarul de decese prin BDA inregistrate la copilul sub 1 an;
- Prelevarea probelor biologice la cabinetul de medicina de familie sau la laboratorul de microbiologie al ASPJ se va face inainte de administrarea de antibiotic, pastrarea si transportul probelor pentru diagnosticul de laborator la laboratorul de microbiologie al ASPJ se vor face conform protocoalelor din anexe 4, 5 si 6.

In cazul emiterii unui diagnostic de suspiciune de holera, toti furnizorii de servicii medicale:

- Raporteaza catre ASPJ, in baza **HG nr. 589/2007**, cazul suspect/confirmat de holera, imediat dupa depistare, *initial* telefonic, apoi pe *Fisa unica de raportare caz de boala transmisibila*, in 5 zile de la data depistarii/confirmarii. Responsabilitatea completarii fisei revine initial medicului curant si este definitivata de catre medicul epidemiolog din ASPJ;
- Orice *suspiciune de holera* se directioneaza pentru internare la sectia/spitalul de boli infectioase;
- Prelevarea probelor biologice se va face inainte de administrarea de antibiotic, iar pastrarea si transportul probelor de la sectia/spitalul de boli infectioase la laboratorul ASPJ, precum si a probelor pozitive la INCDMI Cantacuzino, insotite de *Formularul de trimitere a tulpinii* din anexa 1, se vor face conform protocoalelor de recoltare, pastrare si transport din anexe 4, 5 si 6.

Nota: diagnosticul bacteriologic de holera se face ierarhizat. Toate tulpinile suspecte pe mediu de cultura BSA, aglutinabile cu ser de grup O1 si oxidazo-pozitive vor fi trimise la INCDMI Cantacuzino. De asemenea, se vor trimite la INCDMI Cantacuzino toate tulpinile suspecte pe mediu de cultură BSA, oxidazo-pozitive, neaglutinabile cu ser O1, izolate de la bolnavii cu BDA.

Autoritatile de Sanatate Publica Judetene si a municipiului Bucuresti, vor raporta, la sectiile/compartimentele regionale din cadrul Institutelor de Sanatate Publica, in fiecare zi de *marti* (prima zi de raportare este **9 iunie 2009**, pentru saptamana **1 - 7 iunie 2009**), astfel:

- **toate judetele**: in saptamana precedenta raportarii (luni-duminica):
 - nr. cazuri **intestate** cu diagnosticul de boala diareica acuta;
 - nr. cazuri **extinate** cu diagnosticul de boala diareica acuta cu agent etiologic precizat (conform CIM);
 - nr. cazuri **extinate** cu diagnosticul de boala diareica acuta cu agent etiologic neprecizat;
 - nr. cazuri **extinate** cu infirmarea diagnosticului de boala diareica acuta.
- **judetele Braila, Constanta, Galati si Tulcea**: in saptamana precedenta raportarii (luni-duminica):
 - numarul **total** de cazuri diagnosticate cu boala diareica acuta
 - nr. cazuri **intestate** cu diagnosticul de boala diareica acuta
 - nr. cazuri **extinate** cu diagnosticul de boala diareica acuta cu agent etiologic precizat (conform CIM);
 - nr. cazuri **extinate** cu diagnosticul de boala diareica acuta cu agent etiologic neprecizat;
 - nr. cazuri **extinate** cu infirmarea diagnosticului de boala diareica acuta

pe macheta furnizata, pe grupe de varsta (sub 1 an, 1-4 ani, 5-9 ani, 10-14 ani, 15-64 ani si peste 65 de ani;
- precum si numarul de decese prin BDA inregistrate la copilul sub 1 an.

NOTA: toate Autoritatile de Sanatate Publica Judetene si a municipiului Bucuresti vor raporta saptamanal catre sectiile/compartimentele de epidemiologie din Institutele de Sanatate Publica rezultatele testelor microbiologice efectuate in cadrul laboratorului propriu si in cadrul celorlalte laboaratoare de analize medicale din judet, conform anexelor 2 si 3.

ASPJ vor urmari si vor notifica prezenta sau absenta sindromului hemolitic uremic (SHU), la CPCBT, saptamanal, in fiecare zi de miercuri, telefonic, odata cu raportarea numerica, inclusiv raportare „zero”.

Tulpinile izolate vor fi obligatoriu trimise pentru confirmare serologica si moleculara la INCDMI Cantacuzino.

Autoritatatile de Sanatate Publica Judetene si a municipiului Bucuresti vor trimite o parte din tulpinile izolate si tulpinile care nu au putut fi identificate in laboratoarele proprii, de la cazurile de BDA, la laboratoarele de microbiologie ale sectiei de epidemiologie din cadrul ISP regional, respectiv INCDMI Cantacuzino pentru teritoriul arondat ISP Bucuresti, pentru diagnostic, confirmare si teste suplimentare, inclusiv de evaluare a rezistentei la antibiotice, impreuna cu fisa de trimitere a tulpinii din anexa 1.

Institutele de Sanatate Publica regionale vor raporta, in formatul electronic care va fi furnizat, prin e-mail (cnsccb@ispb.ro), datele primite de la Autoritatile de Sanatate Publica arondante, la Centrul pentru Prevenirea si Controlul Bolilor Transmisibile, in fiecare zi de **miercuri** (prima zi de raportare este **10 iunie 2009**), impreună cu analiza si interpretarea acestora.

Datele de laborator vor fi centralizate, analizate si transmise saptamanal la **CPCBT** in format electronic sau prin fax.

Institutele de Sanatate Publica regionale vor trimite tulpinile care nu au putut fi identificate si tulpinile pentru care nu s-a putut face caracterizarea de serogrup si serotip la Laboratoarele de Referinta Nationale din INCDMI Cantacuzino.

De asemenea, **ISP regionale** vor trimite la Laboratoarele de Referinta Nationale din INCDMI Cantacuzino, **10%** din agentii etiologici izolati in laboratorul propriu (in cazul paucitatii de izolare se trimit toate tulpinile izolate) in vederea controlului extern de calitate.

ISP regionale au responsabilitatea de a comunica **ASPJ** arondante rezultatele pentru probele lucrate la nivelul laboratorului propriu, iar la **CPCBT** activitatea laboratoarelor de microbiologie va fi raportata utilizand tabelul din anexa 3.

Centrul pentru Prevenirea si Controlul Bolilor Transmisibile va transmite la **Autoritatea de Sanatate Publica din Ministerul Sanatatii Publice** datele saptamanale, in fiecare zi de **joi**, cat si situatiile epidemiologice deosebite depistate in cadrul sistemului de alerta precoce si raspuns rapid (caz suspect sau confirmat de holera, focare de BDA de colectivitate cu risc crescut pentru sanatatea publica) in ziua raportarii.

INCDMI Cantacuzino va comunica, la CPCBT:

- numarul de tulpini primite, institutia care le trimite, scopul trimiterii (diagnostic, confirmare, serotipare), **saptamanal** si rezultatele de confirmare si rezistenta la antibiotice a tulpinilor trimise de laboratoarele ASP/ISP, **lunar**, in format electronic, intr-o baza de date (furnizata de CPCBT).

Costul testarilor efectuate de INCDMI Cantacuzino pentru probele trimise de ASPJ din teritoriul arondat ISP Bucuresti, cat si al celor trimise de ASPJ/ISP din alte regiuni, in scop diagnostic, vor fi suportate de ASPJ din fondurile Programului national de boli transmisibile, subprogramul 2.1 - supravegherea si controlul bolilor transmisibile prioritare.

Costul testarilor efectuate de INCDMI Cantacuzino pentru probele trimise de ISP regionale (cu exceptia ISP Bucuresti) in scop de control extern de calitate vor fi suportate de ISP regionale din fondurile Programului national de boli transmisibile, subprogramul 2.1 - supravegherea si controlul bolilor transmisibile prioritare.

NOTA: Pentru toate cazurile de BDA la copii cu varste sub 5 ani, interne, se va face investigarea etiologica si pentru E.coli enterohemoragice (EHEC, STEC, VTEC). ASPJ vor urmari si vor notifica prezena sau absenta sindromului hemolitic uremic (SHU), la CPCBT, saptamanal, in fiecare zi de miercuri, telefonic, odata cu raportarea numerica, inclusiv raportare „zero”.

Tulpinile izolate vor fi obligatoriu confirmate serologic si molecular la INCDMI Cantacuzino.

In cazul coproculturilor in care peste 80% din germenii bacterieni dezvoltati apartin genului Escherichia, in lipsa unui agent etiologic bacterian cu patogenitate intestinala recunoscuta, 10 colonii/proba biologica, se trimit la INCDMI Cantacuzino pentru confirmare serologica si moleculara a patotipurilor diareigene (EPEC, EHEC/VTEC, EIEC, ETEC, DAEC si EAEC).

Toate tulpinile de salmonella identificate in laboratoarele de microbiologie ale ASPJ/ISP vor fi trimise pentru serotipare la INCDMI Cantacuzino.

In situatiile de **focare de BDA** in care **etiologya ramane neprecizata**, daca datele clinice si epidemiologice aduc argumente, se vor face investigatii pentru etiologii virale, inclusiv rotavirus si norovirus. Se vor trimite probe biologice la INCDMI Cantacuzino pentru diagnostic si genotipare. De asemenea vor fi avute in atentie Giardia si Cryptosporidium.

Supravegherea BDA se va incheia in luna **noiembrie, ultima raportare fiind in data de 11.11.2009, in cazul in care nu se transmit noi instructiuni.**

In conformitate cu ***Ordinul MS nr. 883/2005 privind aprobarea Metodologiei de alerta precoce si raspuns rapid in domeniul bolilor transmisibile:***

- Autoritatile de Sanatate Publica Judetene si a municipiului Bucuresti vor raporta imediat, telefonic, la sectiile/compartimentele de epidemiologie din Institutele de Sanatate Publica orice situatie epidemiologica speciala depistata in cadrul sistemului de supraveghere (caz suspect sau confirmat de holera, focare de BDA etc.) si vor trimite **Raportul preliminar de alerta epidemiologica**, in cazul depasirii pragului de alerta;

- sectiile/compartimentele de epidemiologie din Institutele de Sanatate Publica vor comunica, imediat, Centrului pentru Prevenirea si Controlul Bolilor Transmisibile datele referitoare la situatiile epidemiologice speciale raportate de Autoritatile de Sanatate Publica

arondate si vor trimite **Raportul preliminar de alerta epidemiologica**, in cazul depasirii pragului de alerta in unul sau mai multe dintre judete;

- **Centrul pentru Prevenirea si Controlul Bolilor Transmisibile** va transmite la **Autoritatea de Sanatate Publica din Ministerul Sanatatii Publice** situatiile epidemiologice deosebite depistate in cadrul sistemului de alerta precoce si raspuns rapid (caz suspect sau confirmat de holera, focare de BDA de colectivitate cu risc crescut pentru sanatatea publica) in ziua raportarii.

CPCBT, in calitate de structura competenta pentru supravegherea bolilor transmisibile desemnata de MSP:

- raporteaza la **ECDC** holera, boala aflata sub incinta **Decizie Comisiei Europene 2119/98/EC din 24.09.1998**, modificata prin **Decizia Comisiei Europene 2007/875/CE**;
- informeaza , despre cazul de holera, **BESAP** si **MSP-ASP**;
- va comunica la **EWRS** cazul de holera;

BESAP informeaza, despre cazul de holera, **MSP-ASP**, luand si decizia sa comunice cu **OMS**, acest caz fiind o **USPII** (urgenta de sanatate publica de importanta internationala).

IX. Analiza datelor:

a) la nivel local:

- rata de incinta lunara si estivala a BDA, pe grupe de varsta si medii;
- rata fatalitate lunara si estivala specifica la grupa de varsta 0-1 an;
- ponderea lunara si estivala a diferitelor etiologii din totalul cazurilor raportate (cu agent etiologic precizat sau neprecizat);
- ponderea lunara si estivala a diferitelor etiologii din totalul celor identificate;
- profilul rezistentei la antibiotice a tulpinilor izolate – lunar si estival.

b) la nivel regional:

- rata de incinta lunara si estivala a BDA, pe grupe de varsta si medii, in judetele arondante;
- rata fatalitate lunara si estivala la grupa de varsta 0-1 an, in judetele arondante;
- ponderea lunara si estivala a diferitelor etiologii din totalul cazurilor raportate, in judetele arondante;
- ponderea lunara si estivala a diferitelor etiologii din totalul celor identificate, in judetele arondante;
- profilul rezistentei la antibiotice a tulpinilor izolate – lunar si estival, in judetele arondante.

c) la nivel national:

- rata de incinta lunara si estivala a BDA, pe grupe de varsta si medii, in judetele Romaniei;
- rata fatalitate lunara si estivala la grupa de varsta 0-1 an, in judetele Romaniei;
- ponderea lunara si estivala a diferitelor etiologii din totalul cazurilor de BDA raportate, in judetele Romaniei;
- ponderea lunara si estivala a diferitelor etiologii din totalul celor identificate, in judetele Romaniei;
- profilul rezistentei la antibiotice a tulpinilor izolate – lunar si estival, in judetele Romaniei.

Diseminarea datelor:

- **De la ASPJ la ISP regional** - saptamanal, in fiecare zi de **miercuri** pentru saptamana precedenta, baza de date electronica si duplicatul fiselor unice de raportare ;

- **De la ISP regional la CPCBT** - saptamanal, in fiecare zi de *joi* pentru saptamana precedenta, baza de date electronica centralizata pentru judetele arondate ;
- **De la CPCBT catre ASP – MSP** - raport final privind evolutia estivala a BDA (perioada iunie-noiembrie)

X. Indicatori de evaluare a sistemului de supraveghere:

- cresterea cu 10 % a cazurilor de BDA cu etiologie identificata, comparativ cu anul precedent

XI. Feed-back informational :

- Feed-back lunar, in format electronic, **de la ASPJ la cabinetele medicilor de familie**, precum si catre **spitalele/sectiile de boli infectioase si pediatrie** = rezultatul analizei epidemiologice efectuate la nivel local;
- Feed-back lunar, in format electronic, de la **ISP regional la ASPJ arondate** = rezultatul analizei epidemiologice efectuate la nivel regional;
- Feed-back lunar, in format electronic, de la **CPCBT la ISP regionale** si toate **ASPJ** = rezultatul analizei epidemiologice efectuate la nivel national;
- Feed-back la sfarsitul perioadei de supraveghere, de la **CPCBT** catre **INCDMI Cantacuzino**, privind evolutia estivala a BDA (perioada iunie-noiembrie).

XII. Masuri de interventie recomandate :

A. Boala diareica acuta (BDA)

Atitudinea fata de cazuri si contacti:

- toate **cazurile** de BDA depistate se evaluateaza din punct de vedere al deshidratarii;
- cazurile de BDA cu deshidratare medie sau grava se interneaza;
- investigarea etiologica a cazurilor de BDA interneate este obligatorie pentru unitatea sanitara cu paturi;
- **contactii** cazurilor de BDA se supravegheaza clinic la domiciliu/in colectivitate;
- lucratorii cu diagnosticul de BDA din sectoarele de risc se scot temporar din productie;
- fostii bolnavi de BDA din sectoarele cu risc se reprimesc la locul de munca conform legislatiei in vigoare;
- tulpinile izolate de la cazurile interneate vor fi trimise la laboratorul de microbiologie al ASPJ;
- toate tulpinile care nu au putut fi identificate si, in cazul laboratoarelor de microbiologie din cadrul sectiilor de epidemiologie ale ISP regionale, 10% din agentii etiologici identificati (in cazul paucitatii, toate tulpinile), se vor trimite la INCDMI Cantacuzino pentru confirmare, tipizare fenotipica si moleculara, precum si testarea sensibilitatii la antibiotice;
- in cazul suspiciunii de infectie cu rotavirusuri si/sau norovirusuri, obligatoriu se vor trimite probe biologice la INCDMI Cantacuzino pentru diagnostic si tipizare moleculara (genotipare);
- diagnosticul de EPEC, EHEC/VTEC, EIEC, ETEC, DAEC si EAEC se confirma obligatoriu in INCDMI Cantacuzino prin metode fenotipice si molecularare;
- la nivelul ASPJ se va asigura, din fondurile Programului national de boli transmisibile, subprogramul 2.1 - supravegherea si controlul bolilor transmisibile prioritare, un stoc minim

de medicamente si materiale sanitare necesare controlului eficient al unei eventuale epidemii de holera in teritoriul respectiv.

b) Holera :

Atitudinea fata de cazuri, contacti si purtatori:

- pentru usurinta supravegherii epidemiologice, *definitia cazului suspect de holera* este urmatoarea: “*bolnav care prezinta diaree apoasa acuta, varsaturi, crampe musculare, hipotermie, colaps, deshidratare*”;
- suspiciunea de holera poate fi emisa de orice medic, pe baza definitiei de caz
- suspiciunea de holera se notifica imediat, telefonic, la ASPJ si a municipiului Bucuresti, conform HG nr. 589/2007 si se izoleaza obligatoriu in sectia/spitalul de boli infectioase;
- ASPJ va notifica imediat, telefonic, cazul suspect de holera la ISP regional, cat si la CPCBT, in prima ora de la depistare si vor incepe investigarea cazului;
- *confirmarea* cazului suspect de holera se bazeaza pe diagnosticul bacteriologic stabilit de catre I. Cantacuzino;
- este strict necesara respectarea *protocolului diagnosticului bacteriologic ierarhizat*.

Toate tulpinile suspecte pe mediu de cultura BSA, aglutinabile cu ser de grup O1 si oxidazo-pozitive vor fi trimise la I. Cantacuzino. De asemenea, se vor trimite la I. Cantacuzino toate tulpinile suspecte pe mediu de cultura BSA, oxidazopozitive, neaglutinabile cu ser O1, izolate de la bolnavii cu BDA.

- *contactii* cazurilor de holera confirmate bacteriologic se izoleaza obligatoriu in spitalul/sectia de boli infectioase;
- *purtatorii* de *V. Cholerae O1* si *O139* se supun tratamentului antibacterian in spitalul/sectia de boli infectioase;
- externarea bolnavilor de holera, a contactilor acestora si a purtatorilor se face conform normelor;
- reprimarea la fostele locuri de munca a lucratilor in sectoarele cu risc se face conform legislatiei in vigoare.

ANEXA 1

ASPJ/ISP _____

FORMULARUL DE TRIMITERE A TULPINIICod caz*: _____ Sex: masculin feminin

Domiciliu: _____

Data nasterii: (zz/l/l/aaaa) ____/____/____ Varsta (luni/ani impliniti): _____

Data debutului bolii: ____/____/____

Data recoltarii probei: ____/____/____

Data expedierii tulpinii: ____/____/____

Tipul tulpinii: _____

Tulpina izolata din: materii fecale lichid de varsatura
 sange altele (specificati): _____Diagnostic clinic: gastroenterocolita
 BDA
 TIA
 altul (specificati) _____

Investigarea starii de portaj :

- investigatie epidemiologica (contacti)
- control la angajare/periodic

A primit antibiotic? DA NU

Daca DA, tipul si durata administrarii _____

*Cod caz = abrevierea auto a judetului/numarul cazului/anul in curs

(Ex: AR/001/08)
.....

Completat de: _____

Telefon: _____

Data: ____/____/____

ANEXA 2

Laboratorul _____
Saptamana _____

FORMULAR DE RAPORTARE NUMERICA SAPTAMANALA A EXAMENELOR COPROBACTERIOLOGICE EFECTUATE IN LABORATORUL DE ANALIZE MEDICALE DIN JUDET SI A ETIOLOGIILOR IDENTIFICATE

Nr. total coproculturi efectuate/ categorie persoane	Nr.coproculturi pozitive pentru:								Nr. copro-culturi negative
	Salmonella	Shigella	E.coli O157	Alte patotipuri de E. coli	Yersinia	Vibrión holeric	Campylo-bacter	Rotavirus	Giardia
Cazuri									
Contacti									
Sanatosi									
Total									

Data: ____/____/____

**Semnatura si parafa medicului coordonator
al laboratorului de analize medicale**

ANEXA 3

ASPJ _____
Saptamana _____

**FORMULAR DE RAPORTARE NUMERICA SAPTAMANALA
A EXAMENELOR COPROBACTERIOLOGICE EFECTUATE IN
LABORATORELE DE MICROBIOLOGIE DIN JUDET SI AL ASPJ
SI A ETIOLOGIILOR IDENTIFICATE**

Nr. total coproculturi efectuate in laboratorul ASPJ	Nr.coproculturi pozitive pentru :								Nr.copro -culturi negative
Cazuri	Salmonella								
Contacti		Shigella							
Sanatosi			E.coli O157						
Total				Alte patotipuri de E. coli					
Nr. total copro- culturi efectuate in alte laboratoare din judet	Nr.coproculturi pozitive pentru :								Nr.copro -culturi negative
Cazuri	Salmonella								
Contacti		Shigella							
Sanatosi			E.coli O157						
Total				Alte patotipuri de E. coli					

Data: ____/____/_____

**Semnatura si parafa medicului sef
al laboratorului de microbiologie**

ANEXA 4

PROCEDURA PENTRU RECOLTAREA, STOCAREA SI TRANSPORTUL PROBELOR DE MATERII FCALE PENTRU COPROCULTURA SI EXAMEN COPROPARAZITOLOGIC

Scop

Prezenta procedura descrie tehnica de recoltare, stocare si transport a materiilor fecale pentru coprocultura si examen coproparazitologic.

Domeniu de aplicare

Prezenta procedura se aplica pentru:

- diagnosticul microbiologic al infectiilor enterice bacteriene (*Salmonella spp.*, *Shigella spp.*, *Yersinia enterocolitica*, *E.coli* patotipurile diareogene, *Campylobacter*, *Vibrio cholerae* etc.), virale (*Rotavirusuri*, *Enterovirusuri* etc.) si parazitare (*Giardia*, *Entamoeba*, *Cryptosporidium* etc.), viral (*Rotavirusuri*, *Enterovirusuri*, *Adenovirusuri* etc.).
- diagnosticul microbiologic al starii de portaj pentru: *Salmonella*, *Shigella*, *Vibrio* etc.

Definitii si abrevieri

BDA = boala diareica acuta

Consideratii de biosecuritate

Probele recoltate trebuie considerate potential infectate si tratate ca atare.

Orice manopera de prelevare reprezinta un risc biologic atat pentru pacient cat si pentru personalul medical implicat in prelevarea, ambalarea, transportul probelor si curatenie.

Reguli generale:

- prelevarea se face din recipiente curate (ex. plosca de unica utilizare);
- se respecta regulile generale de igiena personala si protectia muncii (echipament de protectie, spalarea mainilor, etc); se folosesc manusi in timpul recoltarii si manipularii produselor patologice;
- transportul probelor se face in container etans, impachetat in pungi de plastic sigilate, cu respectarea recomandarilor din ghidul de biosecuritate privind stocarea si transportul substantelor de diagnostic;
- cererea de analiza va fi ambalata in plicuri, separat de recipientele de recoltare.

Descrierea procedurii

I. Recoltare

I.1. Materiale necesare pentru recoltare

- container curat, uscat, de preferat de unica folosinta pentru colectarea materiilor fecale;
- container etans, curat, uscat pentru colectarea esantionului de examinat;
- mediu de transport adecvat pentru transportul tampoanelor rectale de la copii;
- solutie apoasa de formaldehida 10% sau polivinil-izopropil alcool (PAV);
- tampon rectal cu dop insurubat pentru recoltarea materiilor fecale de la copilul mic sau de la alte categorii de pacienti necooperanti.

I.2. Momentul optim al recoltarii

- prelevarea produsului patologic trebuie facuta cat mai aproape de debutul bolii;
- materiile fecale au cea mai mare valoare pentru diagnosticul microbiologic daca sunt colectate imediat dupa debutul sindromului diareic (pentru virusuri < 48 ore, pentru bacterii < 4 zile);
- este de preferat recoltarea inainte de initierea terapiei cu antibiotice;
- pentru cresterea sanselor de izolare se recomanda colectarea a 2 sau 3 probe in zile diferite.

I.3. Recoltarea

I.3.1. Prelevare din scaun emis spontan

Este de preferat si se indica in toate formele de diaree acuta, cand emisia de materii fecale este frecventa. Prelevarea din masa fecaloida se face cu tamponul sau "lingurita" coprorecoltorului, vizand portiunile: lichide, mucoase si/sau sangvinolente atunci cand ele exista.

- colectati materii fecale proaspata emise in cantitate de 5 g (marimea unui bob de mazare) sau 5 ml, intr-un contineur;
- etichetati contineurerul.

I.3.2. Prelevare cu tamponul rectal de la copii sau alte categorii de pacienti necooperanti

- inmisiati tamponul in ser fiziologic steril;
 - inserati tamponul prin sfincterul anal si rotiti usor;
 - retrageti tamponul si examinati-l pentru a va asigura ca a venit in contact cu materiile fecale.
-
- introduceti tamponul intr-un contineur cu mediu de transport adevarat pentru examen bacteriologic sau virologic;
 - rupeti partea superioara a batului fara a atinge tubul si insurubati ferm dopul contineurerului;
 - etichetati contineurerul.

Acest mod de prelevare este recomandat si in: Shigelozelle cronice si la investigarea purtatorilor cronici de *Shigella*, *Salmonella* cu exceptie *S.Typhi*.

II. Stocare si transport

II.1. Probe recoltate pentru coprocultura

REGULA: orice prelevat care nu se insamanteaza pe medii de izolare (imbogatire sau selective) intr-un interval de minimum 2 ore, trebuie supus unui proces de conservare :

II.1.1. Conservare prin refrigerare:

- **rotavirusuri** = - 70°C;
- **bacterii** = limitata, cel mult 24 h la +2°C...+8 °C

Nota 1: *Shigella* si *Campylobacter* sunt in mod deosebit sensibile la temperaturi inalte

Nota 2: Majoritatea probelor pot fi pastrate la temperatura camerei, daca proba urmeaza a fi procesata in 24 ore

Nota 3: Prezervarea prin refrigerare trebuie considerata cu rezerve pentru bacteriile sensibile la frig (ex. *Vibrio*)

II.1.2. Conservare in medii speciale

* **semisolide:**

- **mediu Cary-Blair** (pastrat in recipiente bine inchise care sa impiedice evaporarea poate asigura o buna conservare la temperatura mediului ambiant pana la 7 zile.
- **mediul Amies**
- **mediul Stuart**: foarte scump

* **lichide:**

- **solutie salina tamponata – Sachs**
- **solutie EDTA – Shipe**

II.1.3. In suspiciunea de holera se impune efectuarea examenului direct din scaunul apos proaspat recoltat pentru evidențierea vibrionilor.

II.2. Probe recolțate pentru examen coproparazitologic

II.2.1. Probele care se vor examina pentru paraziți

- se transporta după omogenizare cu formaldehida 10% sau alcool polivinil - izopropilic (PAV) în proporția: 3 parti materii fecale la 1 parte prezervant.
- se transportă la temperatură ambiantă în containere ambalate în pungi de plastic sigilate

II.2.2. Pentru evidențierea trofozoitilor

- este strict necesar examenul extemporan din proba proaspata
- pentru creșterea sanșelor de evidențiere a paraziștilor este necesara ideal colectarea a trei probe consecutive, în decurs de maximum 10 zile, care vor fi examineate imediat
- **Apa peptonată – Vibrio, Campylobacter**
- **Bulion tioglicolat – Vibrio, Campylobacter**
- **Solutie Tris tamponata** - virusuri

Nota: În context epidemic personalul responsabil de recoltarea probelor va anunța laboratorul de destinație în legătura cu transportul care urmează să se facă și va furniza datele necesare despre proba.

Laboratorul expeditor va face demersurile necesare pentru transportarea pe cale terestră a probelor.

Laboratorul de destinație va informa expeditorul dacă a primit sau nu probele.

Neconformități

Prelevatul poate fi refuzat de laborator în următoarele cazuri :

- absenta etichetei pe esantionul de analizat ;
- absenta cererii de analiza;
- identificarea pacientului: absenta, incompleta, eronata sau indescifrabilă;
- lipsa datelor referitoare la prelevat;
- tampon de prelevare necorespunzător (fără mediu de transport, uscat, etc.);
- nerăspunderea intervalului și condițiilor de stocare și transport recomandate.

Formulare/inregistrari, documente conexe

- formular insotitor proba
- registrul de înregistrare probe
- buletin de analiza

ANEXA 5

EXAMENUL COPROPARAZITOLOGIC

Parazitii cu localizare intestinala sau biliara pot fi identificati prin examinarea materialului fecal, a aspiratului duodenal sau sigmoidian. Elementele parazitare sunt de obicei uniform raspandite in masa fecala datorita motilitatii colonului, care asigura o amestecare a continutului. Formele vegetative pot fi gasite eventual in portiunea terminala a bolului fecal mai curand decat in cea initiala, care este mai veche.

Deoarece, cel putin in infectiile cronice, eliminarea diferitelor stadii parazitare nu este continua, se recomanda recoltari si examinari repeatate; de exemplu, trei probe la intervale de 24 - 48 de ore. Uneori numarul probelor examineate trebuie sa fie mai mare.

Recoltarea

Recoltarea se face in recipiente speciale, bine inchise. De obicei, aceste recipiente sunt prevazute cu mici dispozitive ce usureaza operatia. Aceasta se face din mai multe puncte ale bolului fecal, in special din portiunile mai putin consistente, din cele mucoase sau eventual cu sange.

!!!!!! Se recomanda ca materialul fecal sa nu fie amestecat cu urina.

Urina poate inactiva si distrugе formele vegetative ale unor paraziti.

In unele situatii, medicul poate recomanda administrarea unui purgativ usor. De exemplu, o eventuala infectie cu Entamoeba histolytica poate fi mai usor pusa astfel in evidenta.

Proba recoltata trebuie supusa examinarii in cel mai scurt timp posibil (aproximativ 30 de minute), mai ales cand scaunul este diareic si deci, se presupune existenta unor forme vegetative ce au o durata de supravietuire scurta.

Scaunele formate sau cele consistente pot fi examineate dupa intervale de timp mai mari, deoarece se presupune ca vor contine forme chistice, oua sau fragmente de paraziti sau paraziti intregi (helminti).

In cazul in care, examinarea nu se poate face imediat, se recomanda fixarea materialului fecal.

Fixarea

Fixarea are rolul de a prezerva forma si structura elementelor parazitare pentru a fi mai usor recunoscute, dar si de a realiza o inactivare a lor si a celorlalte forme biologice posibil patogene.

In tabelul urmator (după Garcia 1995 si CDC - Diagnostic Procedures) sunt prezentati principalii agenti fixatori impreună cu avantajele si dezavantajele ce pot intervenii in utilizarea lor.

Agentul fixator	Avantaje	Dezavantaje
Formol 5% (tamponat sau netamponat)	<ul style="list-style-type: none"> - ușor de preparat - perioada lunga de folosire - bun fixator mai ales al concentratelor parazitare - nu interferă cu diversele kituri de diagnostic ce utilizează anticorpi monoclonali și nici cu coloratiile acid-fast 	<ul style="list-style-type: none"> - nu conservă bine formele vegetative - nu conservă bine morfologia parazitilor mai ales atunci când se urmărește obținerea unor preparate microscopice fixate și colorate - influențează rezultatele obținute prin PCR
Merthiolat – Iod - Formol	<ul style="list-style-type: none"> - în cazul preparatelor umede se obține concomitent o fixare și o colorare a parazitilor - este ușor de preparat - are o perioadă lungă de folosire - nu conține mercur 	<ul style="list-style-type: none"> - pe preparatele permanente morfologia parazitilor nu este la fel de bine pastrată în comparație cu PVA sau Schaudinn - iodul poate influența unele colorări sau reacții de fluorescentă
Sodiul acetat + Acid acetic + Formol (SAF)	<ul style="list-style-type: none"> - este un fixator cu acțiune bună asupra concentratelor - este utilizat ca fixator al unor preparate colorate - nu interferă cu diversele kituri de diagnostic ce utilizează anticorpi monoclonali și nici cu coloratiile acid-fast - fixarea este compatibilă cu tehniciile de diagnostic serologic - este utilizat în fixarea preparatelor obținute din scaunul fecal proaspăt sau pentru formele gasite mai ales la suprafața mucoasei intestinale - este un excelent conservant atât ale formelor vegetative cât și a chistilor 	<ul style="list-style-type: none"> - micsorează capacitatea de aderență a organismelor pe lama (se poate adăuga un amestec de albumina și glicerina) - în cazul în care, fixarea este urmată de colorația trichrom, morfologia parazitilor apare mai puțin bine pastrată; acest inconvenient poate fi înălțat când fixarea este urmată de o colorație cu hema-toxilina ferică - nu se recomandă utilizarea în procedeele de concentrare - conține săruri de mercur - asigură o aderență scăzută în condițiile în care paraziții se află înglobați într-o fază lichida sau mucoasă - nu asigură o bună conservare a morfologiei helmintilor, a ouălor, a larvelor, a coccidiilor și a microsporidiilor
PVA Schaudinn + Polivinylalcool	<ul style="list-style-type: none"> - conservă foarte bine formele vegetative și chistică pentru colorări permanente - asigură o bună aderență de lama - poate fi utilizat în procedeele de concentrare (totuși formalina este mai bună) - are durată lungă de utilizare 	<ul style="list-style-type: none"> - conține derivati de mercur - este dificil de preparat în laborator - nu poate fi utilizat atunci când se folosesc kituri de diagnostic cu anticorpi monoclonali sau colorări de tip acid-fast
PVA modificat (Cooper, zinc bases)	<ul style="list-style-type: none"> - poate fi utilizat în prepararea amprentelor și a frotiurilor colorate - poate fi utilizat în tehniciile de concentrare - nu conține compusi pe bază de mercur. 	<ul style="list-style-type: none"> - morfologia protozoarelor este mai puțin bine conservată - conservarea este mai bună cu PVA pe baza de sulfat de zinc - vizualizarea organismelor necesită o oarecare experiență

ANEXA 6

DIAGNOSTICUL GASTROENTERITEI ROTAVIRALE

Infectia rotavirala este una din cauzele principale ale gastroenteritelor nebacteriene la copil. Dupa unii autori, acest virus este agentul etiologic la aproximativ 50% din copii in varsta de sub 2 ani, internati pentru boala diareica acuta. Din experienta laboratorului nostru, rotavirusul s-a izolat, in medie, in 21% din probele primite, in sezonul rece, de la copii, in varsta de pana la 3 ani, cu boala diareica acuta.

Deoarece tehnicele de izolare a virusului pe culturi celulare si microscopia electronica sunt laborioase si costisitoare, tehnicele imunologice sunt utilizate ca metode de electie pentru diagnosticul gastroenteritei rotavirale.

Metoda imunoenzimatica (ELISA), care utilizeaza anticorpi monoclonali pentru identificarea rotavirusului, ofera un diagnostic rapid si permite evitarea administrarii inutile a antibioticelor si reducerea timpului de spitalizare.

Recoltarea probelor de materii fecale

- in cursul recoltarii probelor masurile de precautie privind manipularea sunt cele standard pentru materialele potential infectioase;
- se recolteaza circa 1 g de materii fecale, intr-un recipient curat (fara urme de detergent, ser sau conservanti);
- se recomanda ca recoltarea sa se faca in faza acuta a bolii, cat mai aproape de debut; exista posibilitatea ca, probele recolcate la peste 6 zile de la aparitia simptomelor sa nu mai contin antigen suficient pentru a determina o reactie pozitiva.

Pastrarea probelor

- la +2 - 8°C pana la 24 ore;
- peste 24 ore probele se vor pastra la -20°C;
- congelarile-decongelarile repeatate pot deteriora proba;

Transportul probelor

- la +2 - 8°C.