



Metodologia de supraveghere a bolii diareice acute (BDA)

I. Denumirea și încadrarea bolii

Cod CIM:

- **A00 = Holera**

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

- **A02 = Alte salmonelloze** (cuprinde infecția sau intoxicația alimentară cu alte salmonelle decât *typhi* și *paratyphi*)

A02.0 – Enterita cu Salmonella (salmonelloze)

- **A03 = Shigelloza** (dizenteria bacilară)

A03.0 – Shigelloza cu *Shigella dysenteriae* (grupa A)

A03.1 – Shigelloza cu *Shigella flexneri* (grupa B)

A03.2 – Shigelloza cu *Shigella boydii* (grupa C)

A03.3 – Shigelloza cu *Shigella sonnei* (grupa D)

- **A04 = Alte infecții intestinale bacteriene**

A04.0 – Infecția enteropatogenă prin *Escherichia coli* patogen

A04.1 – Infecția enterotoxigenă prin *Escherichia coli* toxigen

A04.2 – Infecția enteroinvazivă prin *Escherichia coli*

A04.3 – Infecția enterohemoragică prin *Escherichia coli*

A04.5 – Enterita prin *Campylobacter*

A04.6 – Enterita prin *Yersinia enterocolitica*

- **A07 = Alte boli intestinale prin protozoare**

A07.1 – Giardiază

A07.2 – Cryptosporidioză

- **A08 = Alte infecții virale și intestinale, precizate**

A08.0 – Enterita prin *Rotavirus*

A08.3 – Alte enterite virale (pentru *Norovirus*)

II. Fundamentare

Etiologia bolii diareice acute este insuficient documentată în România. Holera, salmonellozele, campylobacteriozele, infecțiile cu *Yersinia*, *Listeria*, *Shigella*, precum și giardioza, cryptosporidioza și dizenteria amoebiană sunt boli transmisibile cuprinse în HG nr. 657/2022, cu raportare pe Fișa unică de raportare caz de boală transmisibilă, în 5 zile de la depistarea cazului suspect/confirmat.

De asemenea, aceste infecții sunt raportabile la UE/ECDC (sistemul TESSy), în baza Deciziei 2119/98/CE și Deciziei 2002/253/CE, modificată prin Decizia 2012/506/UE, Decizia 1082/2013/UE și Decizia 945/2018/UE.

III. Scop

- evaluarea potențialului epidemiologic al bolii diareice acute în România și a profilului microbiologic al acesteia

IV. Obiective

- monitorizarea incidenței bolii diareice acute în vederea depistării în timp util a focarelor/epidemiilor de BDA
- identificarea etiologiei în vederea analizării sindromului diareic pe tipuri de agenți determinanți
- monitorizarea rezistenței la antibiotice a germeilor bacterieni
- determinarea eficienței măsurilor de control aplicate

V. Definiții de caz

V.1. Boala diareică acută (definițiile de caz/agent etiologic detaliate în anexa 3)

Criteria clinice

Diaree acută: Orice persoană care prezintă cel puțin trei scaune moi în ultimele 24 de ore, cu sau fără deshidratare.

Diaree acută cu sânge: Diaree acută cu sânge vizibil.

Criteria de laborator

- identificarea agentului etiologic al BDA (bacterian, viral)

Criteria epidemiologice

Cel puțin unul din următoarele trei link-uri epidemiologice:

- expunere la o sursă comună
- transmitere interumană
- expunere la elemente contaminate din mediu

V.2. Diarei incluse în sistemul de alertă și răspuns rapid

V.2.1. Diaree acută apoasă (suspiciune de holeră)

Definiție: Diaree acută apoasă cu deshidratare severă la pacient cu vârsta peste 5 ani

Prag de alertă:

- 1 deces la pacient în vârstă de 5 ani sau peste
- cluster de 5 cazuri în aceeași săptămână, la pacienți cu vârsta de 5 ani și peste

V.2.2. Diareea acută cu sânge

Definiție: Diaree acută cu sânge vizibil

Prag de alertă:

- cluster de 5 cazuri în aceeași comunitate/colectivitate într-o săptămână
- dublarea numărului de cazuri în 2 săptămâni consecutive

V.2.3. Diaree acută

Definiție: Cel puțin 3 scaune moi în ultimile 24 ore cu/fără deshidratare

Prag de alertă:

- creșterea de 1,5 ori a numărului de cazuri față de media cazurilor din 3 săptămâni anterioare

VI. Clasificarea cazului

A. Caz posibil:

Orice persoană care întrunește criteriile clinice

B. Caz probabil:

Orice persoană care întrunește criteriile clinice și are un link epidemiologic

C. Caz confirmat:

Orice persoană care întrunește criteriile clinice și de laborator

VII. Tip de supraveghere

Supravegherea epidemiologică a bolii diareice acute (BDA), cu notificare și raportare în baza **HG nr. 657/2022**, este *pasivă* și se desfășoară la nivelul TUTUROR Direcțiilor de Sănătate Publică județene (DSP județene) și a municipiului București.

VIII. Populație: toți rezidenții României

IX. Perioada supravegherii

Supravegherea epidemiologică a cazurilor se desfășoară în perioada iunie-octombrie a fiecărui an (5 iunie – 5 noiembrie 2023).

Prima zi de raportare este 12 iunie 2023, pentru perioada 5 - 11 iunie 2023.

În cazul în care nu se transmit noi instrucțiuni, supravegherea BDA se va încheia la începutul lunii noiembrie, **ultima raportare** fiind în data de **6 noiembrie 2023**, pentru perioada **30 octombrie – 5 noiembrie 2023**.

X. Date de raportat

- număr total cazuri diagnosticate cu BDA (medici de familie + spitale);
 - număr cazuri BDA diagnosticate de medicul de familie;
 - număr cazuri internate cu suspiciune de BDA și diagnosticate ca: BDA cu etiologie precizată și ca BDA cu etiologie neprecizată;
 - număr cazuri internate cu suspiciune de BDA și infirmate ca BDA.
- Raportarea se face pe grupele de vârstă: sub 1 an, 1-4 ani, 5-9 ani, 10-14 ani, 15-64 ani și 65 de ani și peste.
- număr decese prin BDA înregistrate la copilul sub 1 an;
 - număr examene microbiologice efectuate și etiologiile identificate;
 - date minime privind cazurile diagnosticate cu BDA cu precizarea etiologiei;
 - date minime privind tulpinile izolate.

XI. Frecvența raportării: *saptămânal*

XII. Flux informațional și feedback

XII.1.a. Nivelul periferic: spitale/secții de boli infecțioase, respectiv unități sanitare altele decât cele cu profil de boli infecțioase (inclusiv private)

1. În fiecare zi de *luni*, raportează către DSP județean, pentru săptămâna precedentă:

- număr total cazuri diagnosticate cu BDA;
- număr cazuri internate cu suspiciune de BDA și diagnosticate ca BDA cu etiologie precizată;
- număr cazuri internate cu suspiciune de BDA și diagnosticate ca BDA cu etiologie neprecizată;
- număr cazuri internate cu suspiciune de BDA și infirmate ca BDA;

Toate cele de mai sus se vor raporta pe grupele de vârstă: sub 1 an, 1-4 ani, 5-9 ani, 10-14 ani, 15-64 ani și 65 de ani și peste.

- numărul de decese prin BDA înregistrate la copilul sub 1 an.

2. Pentru fiecare caz de BDA la care s-a determinat etiologia, se va completa *Fișa unică de raportare caz de boală transmisibilă* (conform HG nr. 657/2022).

Date minime, centralizate în fișierul excel furnizat, vor fi transmise către DSP județean, în fiecare zi de *luni*, în cadrul raportării BDA.

3. Recoltează probe biologice pentru diagnosticul etiologic.

Prelevarea probelor biologice se va face înainte de administrarea de antibiotice.

4. Trimite probe pentru diagnostic de laborator și/sau pentru confirmare, la laboratorul de microbiologie al DSP județean (împreună cu biletul de însoțire a probei/tulpinii din anexa 1) Păstrarea și transportul probelor de la secția/spitalul de boli infecțioase, respectiv unitățile sanitare, altele decât cele cu profil de boli infecțioase, la DSP județean, se vor face conform protocoalelor de recoltare, păstrare și transport probe biologice din **anexele 4, 5 și 6**.

XII.1.b. Nivelul periferic: laboratoare de analize medicale (publice sau private, cu excepția laboratorului DSP județean)

În fiecare zi de *luni*, raportează către DSP județean, numărul de examene microbiologice efectuate și etiologiile identificate în săptămâna precedentă, conform anexei 2.

De asemenea, completează datele minime solicitate, pentru fiecare tulpină izolată, în fișierul excel furnizat și îl vor transmite DSP județean, odată cu raportarea săptămânală.

XII.1.c. Nivelul periferic: medici de familie

În fiecare zi de *luni*, raportează către DSP județean, pentru săptămâna precedentă:

- cazurile diagnosticate cu BDA în săptămâna precedentă, pe grupele de vârstă: sub 1 an, 1-4 ani, 5-9 ani, 10-14 ani, 15-64 ani și 65 de ani și peste;
- numărul de decese prin BDA înregistrate la copilul sub 1 an.

XII.2. Nivelul local: Direcțiile de Sănătate Publică județene și a municipiului București

1. *Săptămânal*, în fiecare zi de *marți*, transmit prin e-mail, secțiilor de epidemiologie a bolilor transmisibile din cadrul Centrelor Regionale de Sănătate Publică (CRSP) și la CNSCBT:

- macheta în format excel, care conține datele raportate în săptămâna precedentă raportării (*luni-duminică*);

- rezultatele testelor microbiologice efectuate în cadrul laboratorului propriu și în cadrul celorlalte laboratoare de analize medicale din județ, precum și centralizarea datelor minime privind cazurile de BDA cu etiologie precizată, raportate de către spitale, respectiv tulpinile izolate, raportate de către laboratoare, în machetele format excel.

2. Trimit pentru confirmare și teste suplimentare, inclusiv de evaluare a rezistenței la antibiotice, o parte din tulpinile izolate de la cazurile de BDA, însoțite de fișele de trimitere a tulpinii din anexa 1, către CRSP Iași (DSP județene arondate CRSP Iași), respectiv CRSP Cluj (DSP județene arondate CRSP Cluj), fie către INCDMM Cantacuzino.

XII.3. Nivelul regional: Centrele Regionale de Sănătate Publică (CRSP)

1. *Săptămânal*, în fiecare zi de *miercuri*, transmit datele primite de la DSP județene arondate la CNSCBT, prin e-mail, în formatul electronic furnizat

2. *Lunar* și la *sfârșitul perioadei de supraveghere*, trimit către DSP județene arondate, rezultatul analizei epidemiologice efectuate la nivel regional, în format electronic

3. Arondarea județelor la CRSP-uri este după cum urmează:

- CRSP București: Argeș, Brăila, Buzău, Călărași, Constanța, Dambovița, Giurgiu, Ialomița, Prahova, Teleorman, Tulcea, București, Ilfov;

- CRSP Cluj: Alba, Bihor, Bistrița Năsăud, Brașov, Cluj, Covasna, Harghita, Maramureș, Mureș, Satu Mare, Sălaj, Sibiu;

- CRSP Iași: Bacău, Botoșani, Galați, Iași, Neamț, Suceava, Vaslui, Vrancea;

- CRSP Timișoara: Arad, Caraș Severin, Dolj, Gorj, Hunedoara, Mehedinți, Olt, Timiș, Vâlcea.

XII.4.a. Nivelul național: Centrul Național de Supraveghere și Control al Bolilor Transmisibile (CNSCBT)

1. *Săptămânal*, în fiecare zi de *joi*, transmite Direcției Generale de Asistență Medicală, Medicină de Urgență și Programe de Sănătate Publică din Ministerul Sănătății (DGAMMUPSP-MS) analiza și interpretarea datelor săptămânale, prin e-mail.

2. *La sfârșitul perioadei de supraveghere*, va realiza analiza epidemiologică a supravegherii estivale, care va fi trimisă către Direcției Generale de Asistență Medicală, Medicină de Urgență și Programe de Sănătate Publică din Ministerul Sănătății (DGAMMUPSP-MS), INCDMM Cantacuzino, CRSP-uri și DSP județene, în format electronic.

XII.4.b. Nivelul național: INCDMM Cantacuzino

Comunică la CNSCBT (cnscbt@insp.gov.ro):

1. *Săptămânal*, în fiecare zi de *miercuri*, numărul de tulpini primite, instituția care le trimite, scopul trimiterii (ex. confirmare, serotipare);

2. *Lunar, până în data de 10 a lunii*, pentru luna precedentă, rezultatele de confirmare, tipizare și rezistența la antibiotice a tulpinilor primite.

Datele vor fi transmise prin e-mail, în formatele excel furnizate.

NOTĂ:

* Pentru toate cazurile de BDA comunitare, indiferent de vârstă, precum și pentru cazurile de sindrom hemolítico-uremic (SHU), analiza microbiologică trebuie să aibă în vedere și detecția/identificarea tulpinilor patogene de *E. coli* aparținând grupului *E. coli* producătoare de toxine Shiga (STEC).

* Confirmarea și genotipizarea tulpinilor de STEC (stabilire tip/subtip de gene *stx*) se vor face la INCDMM Cantacuzino, prin metode fenotipice și moleculare.

* În consecință:

1. Se trimite la INCDMM Cantacuzino orice tulpină de *E. coli* izolată din materii fecale și suspectată ca patogenă pentru intestin, pe baza informațiilor clinice și/sau epidemiologice și/sau datelor de laborator, după cum urmează:

- *fenotip sorbitol negativ pe agar MacConkey cu sorbitol (agar SMAC),*
- *rezultat pozitiv la testul de aglutinare cu seruri comerciale care conțin anticorpi anti-O157,*
- *rezultat pozitiv la teste de aglutinare cu seruri comerciale polivalente/monovalente care conțin anticorpi pentru EPEC și/sau STEC/EHEC (serogrupuri non-O157).*

2. În vederea izolării unei tulpini de STEC dintr-o probă de materii fecale, se trimit la INCDMM Cantacuzino:

- *probe de materii fecale cu rezultat pozitiv la teste rapide pentru toxine Shiga și/sau culturile primare corespunzătoare acestora (de preferință, cultura totală dezvoltată pe un mediu slab selectiv de tip agar MacConkey),*
- *probe de materii fecale PCR pozitive pentru genele stx,*
- *5-10 colonii de *E. coli* sau colonii lactozo-pozitive/pacient, provenind dintr-o coprocultură cu rezultat negativ pentru enteropatogenii bacterieni tradiționali (*Salmonella, Shigella, Yersinia* și *Campylobacter*).*

3. Toate tulpinile de *Campylobacter* și *Yersinia*, identificate în laboratoare de microbiologie (DSPJ/CRSP/spitale), vor fi trimise la INCDMM Cantacuzino pentru confirmare și caracterizare suplimentară.

4. Minim 50% din tulpinile de *Salmonella* identificate lunar în laboratoare de microbiologie (DSPJ/CRSP/spitale), provenind din cazuri sporadice de infecție, vor fi trimise pentru confirmare/serotipare/antibiotipare și genotipizare la INCDMM Cantacuzino.

5. Toate tulpinile de *Salmonella* asociate cu un focar vor fi trimise la INCDMM Cantacuzino pentru confirmare/serotipare/antibiotipare și stabilirea gradului de înrudire genetică prin analiză genomică (secvențierea întregului genom).

6. Toate tulpinile de *Salmonella* cu fenotip de multirezistență la antibiotice se vor trimite la INCDMM Cantacuzino.

Genotipizarea *stx* pentru tulpinile de STEC, precum și analiza genomică a tulpinilor de *Campylobacter* și *Salmonella* provenite din focare de TIA sau cu fenotip de multirezistență la antibiotice, se realizează în baza acordului de colaborare dintre INCDMM Cantacuzino și INSP.

XIII. Măsurile de control în focar

Se instituie imediat după depistarea cazului/cazurilor **posibil/probabil**.

Atitudinea față de cazuri și contacti

- Toate **cazurile** de BDA depistate se evaluează din punct de vedere al deshidratării - cazurile de BDA cu deshidratare medie sau gravă se internează.

Investigarea etiologică a cazurilor de BDA internate este obligatorie pentru unitatea sanitară cu paturi. Tulpinile izolate de la cazurile internate vor fi trimise la laboratorul de microbiologie al DSP județean.

- Pentru tipizare microbiologică în vederea confirmării focarelor și a trasabilității infecției, DSP județene trimit la INCDMM Cantacuzino, toate tulpinile izolate atunci când în focar sunt implicați până la 5 persoane, respectiv 10 tulpini/focar, când se înregistrează focare de extindere mai mare.
- **Contactii** cazurilor de BDA se supraveghează clinic la domiciliu /în colectivitate.
- Lucrătorii cu diagnostic de BDA din sectoarele de risc se scot temporar din producție. Foștii bolnavi de BDA din sectoarele cu risc se reprimesc la locul de muncă conform legislației în vigoare.
- În situațiile de **focare de BDA** în care etiologia rămâne neprecizată, dacă datele clinice și epidemiologice aduc argumente, se vor face investigații pentru etiologii virale, inclusiv *Rotavirus* și *Norovirus*.
- În limita disponibilităților, se vor trimite probe biologice la INCDMM Cantacuzino pentru diagnostic și genotipare.

XIV. Atitudinea în situații de alertă

În conformitate cu *Ordinul MS nr. 1738/2022, pentru aprobarea Normelor metodologice cu privire la modalitatea și frecvența de raportare de către furnizorii de servicii medicale, precum și circuitul informațional al fișei unice de raportare a bolilor transmisibile și pentru aprobarea Sistemului de alertă precoce și reacție privind prevenirea și controlul bolilor transmisibile:*

1. DSP județene și a municipiului București

- vor raporta *imediat, telefonic*, la secțiile de epidemiologie a bolilor transmisibile din CRSP regionale orice situație epidemiologică specială depistată în cadrul sistemului de supraveghere (caz suspect sau confirmat de holeră, caz suspect de sindrom hemolitic uremic (SHU), focare de BDA etc.);
- vor trimite *Raportul preliminar de alertă epidemiologică*, în cazul depășirii pragului de alertă.

2. CRSP - secțiile de epidemiologie

- vor comunica, *imediat*, la CNSCBT datele referitoare la situațiile epidemiologice speciale raportate de DSP județene arondate;
- vor trimite *Raportul preliminar de alertă epidemiologică*, în cazul depășirii pragului de alertă în unul sau mai multe dintre județe.

3. CNSCBT

- va transmite la DGAMMUPSP-MS, situațiile epidemiologice deosebite depistate în cadrul sistemului de alertă precoce și răspuns rapid (caz suspect sau confirmat de holeră, caz suspect de sindrom hemolitic uremic (SHU), focare de BDA de colectivitate cu risc crescut pentru sănătatea publică), *în ziua raportării*;

XIV. Analiza epidemiologică recomandată

- număr de cazuri și rata incidenței lunare și estivale a BDA, pe grupe de vârstă, sex, medii și arie geografică;
- rata de fatalitate lunară și estivală specifică, la grupa de vârstă 0-1 an, la nivel județean, regional și național;
- ponderea lunară și estivală a cazurilor diagnosticate ca BDA cu etiologie identificată din totalul cazurilor raportate la nivel județean, regional și național;
- ponderea lunară și estivală a diferitelor etiologii din totalul celor identificate la nivel județean, regional și național;
- profilul rezistenței la antibiotice a tulpinilor izolate, lunar și estival, la nivel județean, regional și național;
- subtipuri circulante și evidențierea tulpinilor de import.

XV. Indicatori de evaluare a sistemului de supraveghere

- % din județele care raportează - *creșterea cu 10% a cazurilor de BDA cu etiologie identificată*, comparativ cu anul precedent.

Anexa 1

DSPJ/CRSP

FORMULARUL de TRIMITERE a TULPINII

Cod caz:

Inițialele nume, prenume

Sex: masculin feminin

Domiciliu:

Data nașterii:/...../..... Vârsta (luni/ani impliniti):

Data debutului bolii:/...../.....

Data recoltării probei / primirii probei în laborator:/...../.....

Data izolării tulpinii:/...../.....

Data expedierii tulpinii:/...../.....

Agent etiologic izolat:

Tulpină izolată din: materii fecale lichid de vărsătură sânge altele (specificați):
_____Diagnostic clinic: gastroenterocolită BDA TIA altul (specificați): _____Investigarea stării de portaj: investigație epidemiologică (contacti) control la angajare/
periodicA primit antibiotic? DA NU*Daca DA, tipul și durata administrării:*

Completat de:

Nr. telefon:

Data:/...../.....

Anexa 2

Laboratorul

Săptămâna

**FORMULAR de RAPORTARE NUMERICĂ SĂPTĂMÂNALĂ
a EXAMENELOR MICROBIOLOGICE EFECTUATE în
LABORATORUL de ANALIZE MEDICALE**

Nr. total coproculturi efectuate/ categorii persoane	Nr. coproculturi pozitive pentru:										Nr. coproculturi negative	
	Salmonella	Shigella	E.coli O157	Alte patotipuri de E. coli	Yersinia	Vibrio holeric	Campylobacter	Rotavirus	Giardia	Cryptosporidium		Altele (precizați)
Cazuri												
Contacti												
Sănătoși												
TOTAL												

Data: ___/___/___

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

Anexa 3

DEFINIȚIILE de CAZ (conform Deciziei 945/2018/UE)

1. ENTERITA CAUZATĂ de *SALMONELLA*

Criterii clinice

Orice persoană care prezintă cel puțin unul dintre următoarele patru:

- diaree
- febră
- durere abdominală
- vărsături

Criterii de laborator

Cel puțin unul dintre următoarele două:

- izolarea *Salmonella* (alta decât *S. Typhi* sau *S. Paratyphi*) dintr-o probă clinică
- detectarea de acidul nucleic al *Salmonella* (alta decât *S. Typhi* sau *S. Paratyphi*) dintr-o probă clinică

Notă: Testarea sensibilității la antimicrobiene a *Salmonella enterica* se efectuează pe un subset de izolate reprezentative.

Criterii epidemiologice

Cel puțin una dintre următoarele cinci legături epidemiologice:

- transmitere de la om la om
- expunere la o sursă comună
- transmitere de la animal la om
- expunere la alimente/apă potabilă contaminate
- expunere la mediu

Clasificarea cazurilor

A. Caz posibil

Neaplicabil

B. Caz probabil

Orice persoană care îndeplinește criteriile clinice și care are o legătură epidemiologică

C. Caz confirmat

Orice persoană care îndeplinește criteriile clinice și de laborator

Notă: În cazul în care sistemul național de supraveghere nu captează simptome clinice, toate persoanele afectate confirmate prin teste de laborator se raportează ca fiind cazuri confirmate.

Rezistență la antimicrobiene

Rezultatele testelor de sensibilitate trebuie raportate în conformitate cu metodele și cu criteriile convenite de ECDC cu statele membre, astfel cum sunt specificate în protocolul UE privind monitorizarea armonizată a rezistenței la antimicrobiene a tulpinilor de *Salmonella* și *Campylobacter* izolate de la oameni (*).

(*) Protocelele UE, inclusiv viitoarele actualizări ale acestora, pot fi consultate la următoarea pagină de internet a ECDC (<https://ecdc.europa.eu/en/publications-data/eu-protocol-harmonised-monitoring-antimicrobial-resistance-human-salmonella-and-0>)

2. ENTERITA CAUZATĂ de *CAMPYLOBACTER*

Criterii clinice

Orice persoană care prezintă cel puțin unul dintre următoarele trei:

- diaree
- durere abdominală
- febră

Criterii de laborator

Cel puțin unul dintre următoarele două:

- izolarea *Campylobacter spp.* patogene pentru om dintr-o probă clinică
- detectarea de acid nucleic al *Campylobacter spp.* într-o probă clinică

Notă: Testarea sensibilității la antimicrobiene a *Campylobacter spp.* se efectuează pe un subset de izolate reprezentative.

Criterii epidemiologice

Cel puțin una dintre următoarele cinci legături epidemiologice:

- transmitere de la animal la om
- transmitere de la om la om
- expunere la o sursă comună
- expunere la alimente/apă potabilă contaminate
- expunere la mediu

Clasificarea cazurilor

A. Caz posibil

Neaplicabil

B. Caz probabil

Orice persoană care îndeplinește criteriile clinice și care are o legătură epidemiologică

C. Caz confirmat

Orice persoană care îndeplinește criteriile clinice și de laborator

Notă: În cazul în care sistemul național de supraveghere nu captează simptome clinice, toate persoanele afectate confirmate prin teste de laborator se raportează ca fiind cazuri confirmate.

Rezistență la antimicrobiene

Rezultatele testelor de sensibilitate trebuie raportate în conformitate cu metodele și cu criteriile convenite de ECDC cu statele membre, astfel cum sunt specificate în protocolul UE privind monitorizarea armonizată a rezistenței la antimicrobiene a tulpinilor de *Salmonella* și *Campylobacter* izolate de la oameni (*).

(*) Protocelele UE, inclusiv viitoarele actualizări ale acestora, pot fi consultate la următoarea pagină de internet a ECDC: <https://ecdc.europa.eu/en/publications-data/eu-protocol-harmonised-monitoring-antimicrobial-resistance-human-salmonella>

3. INFECȚIE cu *E. COLI* PRODUCĂTOARE de TOXINĂ SHIGA/VEROCITOTOXINĂ (STEC/VTEC), INCLUSIV SINDROMUL HEMOLITIC-UREMIC (HUS)

Criterii clinice

Diaree cauzată de STEC/VTEC

Orice persoană care prezintă cel puțin unul dintre următoarele două:

- diaree
- durere abdominală

HUS

Orice persoană cu insuficiență renală acută care prezintă cel puțin unul dintre următoarele două:

- anemie hemolitică microangiopatică
- trombocitopenie

Criterii de laborator

Cel puțin unul dintre următoarele patru:

- izolarea/cultivarea *Escherichia coli* producătoare de toxină Shiga/verocitotoxină sau care are o genă sau gene *stx1/vtx1* sau *stx2/vtx2*
- izolarea *Escherichia coli* O157 care nu fermentează sorbitol (NSF) (fără teste de detectare a toxinelor sau a genelor care codifică toxine);
- detectarea directă de acid nucleic al genelor *stx1/vtx1* sau *stx2/vtx2*;
- detectarea directă a toxinei Shiga libere/verocitotoxinei libere în fecale.

Doar în cazul HUS, următorul criteriu de laborator poate fi folosit pentru a confirma STEC/VTEC:

- apariția de anticorpi specifici de serogrup împotriva *Escherichia coli* (LPS).

Criterii epidemiologice

Cel puțin una dintre următoarele cinci legături epidemiologice:

- transmitere de la om la om
- expunere la o sursă comună
- transmitere de la animal la om
- expunere la alimente/apă potabilă contaminate
- expunere la mediu

Clasificarea cazurilor

A. Caz posibil de HUS asociat STEC

Orice persoană care îndeplinește criteriile clinice pentru HUS

B. Caz probabil de STEC/VTEC

Orice persoană care îndeplinește criteriile clinice și care are o legătură epidemiologică

C. Caz confirmat de STEC/VTEC

Orice persoană care îndeplinește criteriile clinice și de laborator

Notă: În cazul în care sistemul național de supraveghere nu captează simptome clinice, toate persoanele afectate confirmate prin teste de laborator se raportează ca fiind cazuri confirmate.

4. SHIGELOZA

Criteria clinice

Orice persoană care prezintă cel puțin unul dintre următoarele patru:

- diaree
- febră
- vărsături
- durere abdominală

Criteria de laborator

Pentru un caz confirmat:

- izolarea *Shigella spp.* dintr-o probă clinică

Pentru un caz probabil:

- detectarea de acid nucleic al *Shigella spp.* într-o probă clinică.

Notă: Dacă este posibil, se efectuează testarea sensibilității la antimicrobiene a *Shigella*.

Criteria epidemiologice

Cel puțin una dintre următoarele patru legături epidemiologice:

- transmitere de la om la om
- expunere la o sursă comună
- expunere la alimente/apă potabilă contaminate
- expunere la mediu.

Clasificarea cazurilor

A. Caz posibil

Neaplicabil

B. Caz probabil

Orice persoană care îndeplinește criteriile clinice și care are o legătură epidemiologică SAU orice persoană care îndeplinește criteriile clinice și criteriile de laborator pentru un caz probabil

C. Caz confirmat

Orice persoană care îndeplinește criteriile clinice și criteriile de laborator pentru un caz confirmat

Notă: În cazul în care sistemul național de supraveghere nu captează simptome clinice, toate persoanele afectate confirmate prin teste de laborator se raportează ca fiind cazuri confirmate.

Rezistență la antimicrobiene

Rezultatele testelor de sensibilitate la antimicrobiene se raportează în conformitate cu metodele și criteriile convenite de ECDC cu statele membre.

5. ENTERITA CAUZATĂ de *YERSINIA ENTEROCOLITICA* sau de *YERSINIA PSEUDOTUBERCULOSIS*

Criteria clinice

Orice persoană cu cel puțin unul dintre următoarele cinci:

- febră
- diaree
- vărsături
- durere abdominală (pseudoapendicită)
- tenesme rectale.

Criteria de laborator

Cel puțin unul dintre următoarele două:

- izolarea *Yersinia enterocolitica* sau *Yersinia pseudotuberculosis* patogene pentru om dintr-o probă clinică
- detectarea genelor responsabile de virulența *Y. enterocolitica* sau *Y. pseudotuberculosis* într-o probă clinică

Criteria epidemiologice

Cel puțin una dintre următoarele patru legături epidemiologice:

- transmitere de la om la om
- expunere la o sursă comună
- transmitere de la animal la om
- expunerea la alimente contaminate

Clasificarea cazurilor

A. Caz posibil

Neaplicabil

B. Caz probabil

Orice persoană care îndeplinește criteriile clinice și care are o legătură epidemiologică

C. Caz confirmat

Orice persoană care îndeplinește criteriile clinice și de laborator

Notă: În cazul în care sistemul național de supraveghere nu captează simptome clinice, toate persoanele afectate confirmate prin teste de laborator se raportează ca fiind cazuri confirmate.

6. HOLERA

Criterii clinice

Orice persoană care prezintă cel puțin unul dintre următoarele două:

- diaree
- vărsături

Criterii de laborator

- izolarea *Vibrio cholerae* dintr-o probă clinică

ȘI

- demonstrarea prezenței antigenilor O1 sau O139 în izolat

ȘI

- demonstrarea prezenței enterotoxinei holerice sau a genei enterotoxinei holerice în izolat.

Criterii epidemiologice

Cel puțin una dintre următoarele patru legături epidemiologice:

- expunere la o sursă comună
- transmitere de la om la om
- expunere la alimente/apă potabilă contaminate
- expunere la mediu

Clasificarea cazurilor

A. Caz posibil

Neaplicabil

B. Caz probabil

Orice persoană care îndeplinește criteriile clinice și care are o legătură epidemiologică

C. Caz confirmat

Orice persoană care îndeplinește criteriile clinice și de laborator;

Notă: În cazul în care sistemul național de supraveghere nu captează simptome clinice, toate persoanele afectate confirmate prin teste de laborator se raportează ca fiind cazuri confirmate.

7. ECHINOCOZOĂ

Criteria clinice

Nerelevante în scop de supraveghere

Criteria de diagnostic

Cel puțin unul dintre următoarele cinci:

- histopatologie sau parazitologie compatibilă cu *Echinococcus multilocularis* sau *granulosus* (de exemplu, vizualizare directă a protoscolexului în lichidul chistic)
- detectarea morfologiei macroscopice patognomonice pentru *Echinococcus granulosus* la nivelul chistului (chisturilor) prelevat(e) chirurgical
- leziuni tipice de organ detectate prin tehnici imagistice (de exemplu, tomografie computerizată, ecografie, IRM) ȘI confirmate printr-un test serologic
- anticorpi serici specifici împotriva *Echinococcus spp.* detectați printr-un test serologic cu sensibilitate mare ȘI confirmați printr-un test serologic cu specificitate mare
- detectarea de acid nucleic al *Echinococcus multilocularis* sau *granulosus* într-o probă clinică.

Criteria epidemiologice

Neaplicabil

Clasificarea cazurilor

A. Caz posibil

Neaplicabil

B. Caz probabil

Neaplicabil

C. Caz confirmat

Orice persoană care îndeplinește criteriile de diagnostic

8. LAMBLIAZĂ

Criterii clinice

Orice persoană care prezintă cel puțin unul dintre următoarele patru:

- diaree
- durere abdominală
- meteorism
- semne de malabsorbție (de exemplu, steatoree, pierdere ponderală)

Criterii de laborator

Cel puțin unul dintre următoarele trei:

- demonstrarea prezenței chisturilor sau trofozoizilor de *Giardia lamblia* în scaun, în lichidul duodenal sau în biopsia de intestin subțire
- demonstrarea prezenței antigenilor de *Giardia lamblia* în scaun, în lichidul duodenal sau în biopsia de intestin subțire
- detectarea de acid nucleic al *Giardia lamblia* în scaun, în lichidul duodenal sau în biopsia de intestin subțire

Criterii epidemiologice

Cel puțin una dintre următoarele patru legături epidemiologice:

- expunere la alimente/apă potabilă contaminate
- transmitere de la om la om
- expunere la o sursă comună
- expunere la mediu

Clasificarea cazurilor

A. Caz posibil

Neaplicabil

B. Caz probabil

Orice persoană care îndeplinește criteriile clinice și care are o legătură epidemiologică

C. Caz confirmat

Orice persoană care îndeplinește criteriile clinice și de laborator

Notă: În cazul în care sistemul național de supraveghere nu captează simptome clinice, toate persoanele afectate confirmate prin teste de laborator se raportează ca fiind cazuri confirmate.

Anexa 4

PROCEDURA pentru RECOLTAREA, STOCAREA și TRANSPORTUL PROBELOR de MATERII FECALE pentru COPROCULTURĂ și EXAMEN COPROPARAZITOLOGIC*

Domeniu de aplicare

Prezenta procedură se aplică pentru::

- diagnosticul microbiologic al infecțiilor enterice: bacteriene: *Salmonella spp.*, *Shigella spp.*, *Yersinia enterocolitica*, *E. coli* patotipurile diareigene, *Campylobacter*, *Vibrio cholerae* etc.; virale: *Rotavirusuri*, *Enterovirusuri* etc. și parazitare: *Giardia*, *Entamoeba*, *Criptosporidium* etc.;
- stării de portaj pentru: *Salmonella spp.*, *Shigella spp.*, *Vibrio cholerae* etc.

Considerații de biosecuritate

Probele recoltate trebuie considerate potențial infectate și tratate ca atare.

Orice manoperă de prelevare reprezintă un risc biologic atât pentru pacient cât și pentru personalul medical implicat în prelevarea, ambalarea, transportul probelor și curățenie.

Reguli generale:

- prelevarea se face din recipiente curate (ex. plosca de unică utilizare)
- se respectă regulile generale de igienă personală și protecția muncii (echipament de protecție, spălarea mâinilor, etc)
- se folosesc mănuși în timpul recoltării și manipularii produselor patologice
- transportul probelor se face în container etanș, împachetat în pungi de plastic sigilate, cu respectarea recomandărilor din ghidul de biosecuritate privind stocarea și transportul probelor biologice
- buletinul de solicitare a analizei va fi ambalat în plicuri, separat de recipientele de recoltare.

Descrierea procedurii

I. Recoltare

I.1. Materiale necesare pentru recoltare

- container curat, uscat, de preferat de unică folosință, pentru colectarea materiilor fecale
- container etanș, curat, uscat pentru colectarea eșantionului de examinat/coprorecoltor cu mediu de cultură adecvat
- mediu de transport adecvat pentru transportul tampoanelor rectale de la copii
- soluție apoasă de formaldehidă 10% sau polivinil-izopropil alcool (PAV)
- tampon rectal cu dop înșurubat pentru recoltarea materiilor fecale de la copilul mic sau de la alte categorii de pacienți necooperanți

I.2. Momentul optim al recoltării

- prelevarea produsului patologic trebuie făcută cât mai aproape de debutul bolii
- materiile fecale au cea mai mare valoare pentru diagnosticul microbiologic dacă sunt colectate imediat după debutul sindromului diareic (pentru virusuri < 48 ore, pentru bacterii < 4 zile)
- este indicat ca recoltarea să se realizeze înainte de inițierea terapiei cu antibiotice
- pentru creșterea șanselor de izolare, se recomandă colectarea a 2 sau 3 probe în zile diferite

I.3. Recoltarea

I.3.1. Prelevare din scaun emis spontan

- este de preferat
- se indică în toate formele de diaree acută, când emisia de materii fecale este frecventă
- prelevarea din masa fecaloidă se face cu tamponul sau “lingurița” coprorecoltorului, vizând porțiunile: lichide, mucoase și/sau sanguinolente, atunci când ele există
- se colectează materii fecale proaspat emise, în cantitate de 5g (mărimea unui bob de mazare) sau 5 ml, într-un container
- se etichetează containerul

I.3.2. Prelevare cu tamponul rectal de la copii sau alte categorii de pacienți necooperanți

- se înmoaie tamponul în ser fiziologic steril
- se inseră tamponul prin sfîcterul anal și se rotește ușor
- se retrage tamponul și se examinează pentru a se asigura că a venit în contact cu materiile fecale
- tamponul se introduce într-un container cu mediu de transport adecvat pentru examen bacteriologic sau virologic
- partea superioară a bățului se rupe, fără a atinge tubul și se înșurubează ferm dopul containerului
- se etichetează containerul

Acest mod de prelevare este recomandat și în: investigarea purtătorilor cronici de *Shigella*, *Salmonella* cu excepția purtătorilor de *Salmonella Typhi*.

II. Stocare și transport

II.1. Probe recoltate pentru coprocultură

REGULA: orice prelevat care nu se însămânțează pe medii de izolare (îmbogațire sau selective) într-un interval de minimum 2 ore, trebuie supus unui proces de conservare.

II.1.1. Conservare prin refrigerare:

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

Nota 1: *Shigella* și *Campylobacter* sunt în mod deosebit sensibile la temperaturi înalte și la schimbări bruște de temperatură.

Nota 2: dacă proba urmează a fi procesată în 24 ore, majoritatea probelor pot fi păstrate la temperatura camerei

Nota 3: pentru bacteriile sensibile la frig (ex. *Vibrio cholerae*), prezervarea prin refrigerare trebuie considerată cu rezerve.

II.1.2. Conservare în medii speciale*** semisolide:**

- mediu Cary-Blair: poate asigura o bună conservare la temperatura mediului ambiant până la 7 zile; este păstrat în recipiente bine închise, care să împiedice evaporarea
- mediul Amies
- mediul Stuart

*** lichide:**

- soluție salină tamponată: Sachs
- soluție EDTA: Shipe

II.1.3. În suspiciunea de holeră se impune efectuarea examenului direct din scaunul apos proaspăt recoltat, pentru evidențierea vibrionilor.**II.2. Probe recoltate pentru examen coproparazitologic****II.2.1. Probele care se vor examina pentru paraziți**

- se transportă după omogenizare cu formaldehidă 10% sau alcool polivinil-izopropilic (PAV) în proporția: 3 părți materii fecale/1 parte preservant
- se transportă la temperatură ambiantă, în containere ambalate în pungi de plastic sigilate

II.2.2. Pentru evidențierea trofozoitilor

- este strict necesar examenul extemporaneu din proba proaspătă
- ideal, pentru creșterea șanselor de evidențiere a paraziților, este necesară colectarea, în decurs de maximum 10 zile, a 3 probe consecutive, care vor fi examinate imediat

NOTĂ:

În context epidemic:

- personalul responsabil de recoltarea probelor va anunța laboratorul de destinație în legătură cu transportul care urmează să se facă și va furniza datele necesare despre probă
- 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 :

- absența etichetei pe eșantionul de analizat
- absența cererii de analiză
- identificarea pacientului: absentă, incompletă, eronată sau indescifrabilă
- lipsa datelor referitoare la prelevat
- tampon de prelevare necorespunzător (fără mediu de transport, uscat, etc.)
- nerespectarea intervalului și condițiilor de stocare și transport recomandate

Formulare/înregistrări, documente conexe

- formular însoțitor probă
- registru de înregistrare probe
- buletin de analiză

Anexa 5

EXAMENUL COPROPARAZITOLOGIC*

Paraziții cu localizare intestinală sau biliară pot fi identificați prin examinarea materialului fecal, a aspiratului duodenal sau sigmoidian. Elementele parazitare sunt de obicei uniform răspândite în masa fecală datorită motilității colonului, care asigură o amestecare a conținutului. Formele vegetative pot fi găsite eventual în porțiunea terminală a bolului fecal mai curând decât în cea inițială, care este mai veche.

Deoarece eliminarea diferitelor stadii parazitare nu este continuă, cel puțin în infecțiile cronice, se recomandă recoltări și examinări repetate: de exemplu, 3 probe, la intervale de 24-48 de ore. Uneori numărul probelor examinate trebuie să fie mai mare.

Recoltarea

Recoltarea se face în recipiente speciale, bine închise.

În general, aceste recipiente sunt prevăzute cu mici dispozitive care ușurează operația. Recoltarea se face din mai multe puncte ale bolului fecal, în special din porțiunile mai puțin consistente, din cele mucoase sau eventual cu sânge.

!!!!!! Se recomandă ca materiile fecale să nu fie amestecate cu urina.

Urina poate inactiva și distruge formele vegetative ale unor paraziți.

Uneori, medicul poate recomanda administrarea unui purgativ ușor. De exemplu, astfel poate fi mai ușor pusă în evidență o eventuală infecție cu *Entamoeba histolytica*.

Proba recoltată trebuie supusă examinării în cel mai scurt timp posibil (aproximativ 30 de minute), mai ales când scaunul este diareic și deci, se presupune existența unor forme vegetative ce au o durată de supraviețuire scurtă.

Scaunele formate sau cele consistente pot fi examinate după intervale de timp mai mari, deoarece se presupune că vor conține forme chistice, ouă sau fragmente de paraziți sau paraziți întregi (helminți).

În cazul în care examinarea nu se poate face imediat, se recomandă fixarea materialului fecal.

Fixarea

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

În tabelul următor (după Garcia 1995 și CDC-Diagnostic Procedures) sunt prezentați principalii agenți fixatori împreună cu avantajele și dezavantajele ce pot interveni în utilizarea lor.

Notă: În cazul în care se suspicionează infecție cu norovirusuri, probele biologice, recoltate ca în cazul suspiciunii de infecție cu enterovirusuri, se trimit pentru investigații la INCDMM Cantacuzino.

Agentul fixator	Avantaje	Dezavantaje
Formol 5% (tamponat sau netamponat)	<ul style="list-style-type: none"> - ușor de preparat - perioadă lungă de folosire - bun fixator mai ales al concentratelor parazitare - nu interferă cu diversele kituri de diagnostic ce utilizează anticorpi monoclonali și nici cu colorațiile acid-fast 	<ul style="list-style-type: none"> - nu conservă bine formele vegetative - nu conservă bine morfologia paraziților 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 paraziților - este ușor de preparat - are o perioadă lungă de folosire - nu conține mercur 	<ul style="list-style-type: none"> - pe preparatele permanente morfologia paraziților nu este la fel de bine păstrată în comparație cu PVA sau Schaudinn - iodul poate influența unele colorații sau reacții de fluorescență
Sodiu 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 colorațiile acid-fast - fixarea este compatibilă cu tehnicile de diagnostic serologic - este utilizat în fixarea preparatelor obținute din scaunul fecal proaspăt sau pentru formele găsite mai ales la suprafața mucoasei intestinale - este un excelent conservant atât al formelor vegetative cât și al chiștilor 	<ul style="list-style-type: none"> - micșorează capacitatea de aderare a organismelor pe lamă (se poate adăuga un amestec de albumină și glicerină) - în cazul în care, fixarea este urmată de colorația trichrom, morfologia paraziților apare mai puțin bine păstrată; acest inconvenient poate fi înlăturat când fixarea este urmată de o colorație cu hematoxilină 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 lichidă sau mucoasă - nu asigură o bună conservare a morfologiei heminților, a ouălor, a larvelor, a coccidiilor și a microsporidiilor
PVA Schaudinn + polivinylalcohol	<ul style="list-style-type: none"> - conservă foarte bine formele vegetative și chistice pentru colorații permanente - asigură o bună aderență de lamă - poate fi utilizat în procedeele de concentrare (totuși formalina este mai bună) - are durată lungă de utilizare 	<ul style="list-style-type: none"> - conține derivați de mercur - este dificil de preparat în laborator - nu poate fi utilizat atunci când se folosesc kituri de diagnostic cu anticorpi monoclonali sau colorații 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 tehnicile de concentrare - nu conține compuși pe bază de mercur. 	<ul style="list-style-type: none"> - morfologia protozoarelor este mai puțin bine conservată - conservarea este mai bună cu PVA pe bază de sulfat de zinc - vizualizarea organismelor necesită o oarecare experiență

Anexa 6

DIAGNOSTICUL GASTROENTERITEI ROTAVIRALE*

Infecția rotavirală este una din cauzele principale ale gastroenteritelor nebacteriene la copil. După unii autori, acest virus este agentul etiologic la aproximativ 50% din copii în vârstă de sub 2 ani, internați pentru boală diareică acută.

Din experiența laboratorului nostru* (INCDMM Cantacuzino), *Rotavirusul* s-a izolat, în medie, în 21% din probele primite, în sezonul rece, de la copii, în vârstă de până la 3 ani, cu boală diareică acută.

Deoarece tehnicile de izolare a virusului pe culturi celulare și microscopia electronică sunt laborioase și costisitoare, tehnicile imunologice sunt utilizate ca metode de elecție pentru diagnosticul gastroenteritei rotavirale. Metoda imunoenzimatică (ELISA), care utilizează anticorpi monoclonali pentru identificarea rotavirusului, oferă un diagnostic rapid, permite evitarea administrării inutile a antibioticelor și reducerea timpului de spitalizare.

Recoltarea probelor de materii fecale

- în cursul recoltării probelor, măsurile de precauție privind manipularea sunt cele standard, pentru materialele potențial infecțioase
- se recoltează circa 1g de materii fecale, într-un recipient curat (fără urme de detergent, ser sau conservanți)
- se recomandă ca recoltarea să se facă în faza acută a bolii, cât mai aproape de debut - există posibilitatea ca probele recoltate la peste 6 zile de la apariția simptomelor să nu mai conțină antigen suficient pentru a determina o reacție pozitivă

Păstrarea probelor

- la + 2 - 8°C până la 24 ore
- peste 24 ore probele se vor păstra la -20°C
- congelările-decongelările repetate pot deteriora proba

Transportul probelor

- la + 2 - 8°C.

***Notă:** Anexele 4, 5 și 6 au fost elaborate și furnizate de către colegii biologi, microbiologi și parazitologi din laboratoarele INCDMM Cantacuzino.