

Metodologia de supraveghere a tusei convulsive

(actualizare la data de 24/07/2017)

I. Denumirea si incadrarea bolii

Cod CIM: A 37

II. Fundamentare

Tusea convulsiva este o boala infectioasa bacteriana acuta, cauzata de *Bordetella pertussis*, avand o incubatie medie de 7-10 zile, cu limite intre 5 si 21 zile. Transmiterea bacteriei apare in urma contactului apropiat, direct, cu o persoana infectata. Este inalt contagioasa, pana la 90% din contactii familiari dezvoltand boala.

Tusea convulsiva este o boala transmisibila prevenibila prin vaccinare, cuprinsa in HG 589/2007, cu raportare pe "Fisa Unica de Raportare caz de boala transmisibila" in 5 zile de la depistarea cazului suspect/confirmit.

De asemenea, boala este raportabila la ECDC, in sistemul Tessy.

III. Scop:

- Scaderea incidentei tusei convulsive pe teritoriul Romaniei si prevenirea aparitiei epidemiilor.

IV. Obiective:

- Monitorizarea incidentei bolii in scopul aprecierii eficientei programelor de control si a prevenirii epidemiilor
- Identificarea golurilor de imunitate in populatia infantila
- Monitorizarea posibilelor modificari in circulatia si rezistenta la antibiotice a tulpinilor de *Bordetella pertussis*

V. Definitia de caz

Criterii clinice: orice persoana care prezinta tuse cu o durata de cel putin doua saptamani **SI** cel putin unul dintre urmatoarele 3 simptome :

- accese paroxistice de tuse
- inspir zgomotos ("whooping")
- voma post-tuse, in lipsa altei etiologii confirmate

sau

- orice persoana diagnosticata cu tuse convulsiva de catre medicul curant

sau

- episoade de apnee la copilul in varsta de sub 1 an

Criterii de laborator: cel puțin unul din urmatoarele 3 :

- izolarea *Bordetellei pertussis* dintr-un specimen clinic
- detectia acidului nucleic al *Bordetellei pertussis* intr-un specimen clinic
- raspuns serologic specific *

****Interpretarea rezultatului examenului serologic prin metoda aglutinării în tub***

A.1. pentru anticorpi aglutinanți anti-Bordetella pertussis:

Rezultat pozitiv:

- ***titrare pe probă unică de ser:***

- titru aglutinant $\geq 1/320$ ** după 3-4 săptămâni de boală, la copiii nevaccinați și la persoanele la care intervalul între data ultimei doze de vaccin primite și data debutului este de cel puțin 1 an (Nicole Guiso 2010 și 2014; Riffelman M. 2010)

- ***titrare pe probe duble de ser:***

- titru aglutinant pentru proba a doua $\geq 1/1280$, indiferent de antecedentele vaccinale și de vârstă **SAU**

- titru aglutinant **în creștere** cu **minim 2 diluții** (cu excepția copiilor recent vaccinați-la mai puțin de 1 an-sau în curs de vaccinare), la care titrul probei a 2-a trebuie să fie de **minimum 1/320 SAU**

- titru aglutinant **in scadere** in serul obtinut in perioada de convalescenta (la 4 – 8 saptamani de la debutul bolii), cu excepția copiilor vaccinați în ultimul an (Francois Simondon et al. 1998)

** Din experiența Laboratorului National de Referinta din INCDMI Cantacuzino (date obținute în paralel cu ELISA, PCR și, uneori, cultura), titrul de 1/320 pentru anticorpii aglutinanți anti-B.pertussis poate fi considerat pozitiv.

Rezultat negativ:

- ***titrare pe probă unică de ser:***

- titru aglutinant $< 1/320$, la 3-4 săptămâni de boală, la copiii vaccinați sau în curs de vaccinare;

Document elaborat de Centrul National de Supraveghere si Control al Bolilor Transmisibile

- **titrare pe probe duble de ser:**

- titru aglutinant staționar <1/320 la copiii vaccinați sau în curs de vaccinare;
- titru aglutinant în creștere cu 2 tuburi, până la 1/160, indiferent de antecedentele vaccinale și de vârstă.

Rezultatul implică efectuarea testului la debutul bolii și la 21-30 de zile de la debut (în dinamică).

A.2. pentru anticorpi aglutinanți anti-Bordetella parapertussis:

Rezultat pozitiv:

- titru $\geq 1/320$

Rezultat negativ:

- titru $\leq 1/160$

Rezultatul implică efectuarea testului la debutul bolii și la 21-30 de zile de la debut (în dinamică).

Procedurile de prelevare și transport al probelor pentru diagnosticul tusei convulsive sunt menționate în **Anexa 3**.

Criterii epidemiologice:

- un link epidemiologic (contact cu caz confirmat) la o persoană cu tablou clinic sugestiv pentru tuse convulsivă

VI. Clasificarea cazului:

Posibil: orice persoană care întrunește criteriile clinice

Probabil: orice persoană care întrunește criteriile clinice și are legătura epidemiologică cu un caz confirmat

Confirmat: orice persoană care întrunește criteriile clinice și de laborator

Va fi clasificat, în final, drept **caz infirmat**, cazul intrat inițial în sistemul de supraveghere ca și caz posibil, la care rezultatul investigațiilor de laborator este negativ și care **nu** are legătura epidemiologică cu un caz confirmat.

Va fi clasificat, in final, drept **caz probabil**, cazul care intruneste criteriile clinice, are rezultat negativ la investigatia de laborator, dar **are legatura epidemiologica** cu un caz confirmat.

Ramane clasificat, in final, drept **caz posibil**, cazul intrat initial in sistemul de supraveghere ca si caz posibil, care nu a fost investigat cu laboratorul sau la care rezultatul investigatiilor de laborator este neconcludent (ex. din cauza ca nu s-au respectat recomandarile privind momentul recoltarii probei).

Sunt raportabile in sistemul statistic (la CNSISP) cazurile confirmate si cele probabile.

VII. Tip supraveghere: bazata pe caz, pasiva

VIII. Populatie: toti rezidentii Romaniei

IX. Perioada: permanent

X. Date de raportare: conform Fisei de supraveghere a cazului de tuse convulsiva

XI. Flux informational si feedback

Nivelul periferic: spitale (inclusiv private)

- raporteaza la DSPJ cazul suspect/confirmat conform HG 589/2007;
- recolteaza si trimite imediat probele biologice la DSPJ (pentru cultura si/sau examen serologic); pentru dg.serologic cea de a doua proba de ser va fi recoltata la minimum 21 de zile si maximum 30 de zile de la debutul bolii;

Nivelul periferic: medici de familie, cabinete medicale de specialitate :

- raporteaza la DSPJ cazul suspect/confirmat conform HG 589/2007;
- trimite imediat persoana suspecta de tuse convulsiva la cel mai apropiat spital cu sectie de boli infectioase, pentru evaluare clinica si recoltarea probelor biologice pe care spitalul le va trimite in cel mai scurt timp la laboratorul DSPJ;

Nivelul local: DSPJ/a Mun.Bucuresti

- declanseaza investigatia epidemiologica la cazul suspect in primele 24 de ore de la raportarea la DSPJ;
- transmite saptamanal la CRSP, in fiecare zi de **marti**, pentru saptamana precedenta, baza de date in format EpiInfo;
- actualizeaza **lunar**, pana la data de 10, pentru luna precedenta, **baza de date** pe care o trimite la CRSP, ca si **Fisele de supraveghere** (formularul din **Anexa 1**), cu clasificarea finala a cazurilor, pe care le trimite atat la CRSP, cat si la CNSCBT;
- efectueaza izolarea *Bordetellei pertussis*;

Document elaborat de Centrul National de Supraveghere si Control al Bolilor Transmisibile

- trimite tulpinile izolate la INCDMI Cantacuzino;
- trimite cele 2 probe de ser la INCDMI Cantacuzino, insotite de **Buletinul de insotire a probelor biologice pentru diagnosticul tusei convulsive** (formularul din **Anexa 2**) ;
- raporteaza la CRSP, in 24 ore de la depistare, orice cluster cu ≥ 3 cazuri;
- efectueaza investigatia epidemiologica pentru cazurile sporadice si clustere;
- trimite rezultatele de laborator, imediat ce sunt disponibile, la nivelul periferic;
- trimite trimestrial si anual la nivelul periferic rezultatele analizei cazurilor;

Nivelul regional : CRSP

- transmite la CNSCBT saptamanal , in fiecare zi de **joi**, pentru saptamana precedenta, baza de date pentru tuse convulsiva, inclusiv raportare „zero”;
- raporteaza la CNSCBT, in 24 ore de la raportarea primita de la DSPJ arondate, orice cluster cu ≥ 3 cazuri;
- intervine in desfasurarea investigatiei epidemiologice a clusterelor si acorda sprijin la solicitarea DSPJ din teritoriul arondat;
- trimite trimestrial la CNSCBT si DSPJ analiza epidemiologica a cazurilor din teritoriul arondat;

Nivelul national : CNSCBT

- efectueaza analiza epidemiologica a bazei nationale de date si transmite trimestrial rezultatul acesteia catre MS-DGSPCSP, CRSP si DSPJ ;

INCDMI Cantacuzino :

- transmite rezultatele investigatiilor de laborator efectuate pentru cazurile suspecte de tuse convulsiva, inclusiv interpretarea acestora, in 24 de ore de la finalizare, catre DSPJ-uri, iar cele pozitive si catre CNSCBT ;

XII. Masuri de control

Se instituie imediat dupa depistarea cazului posibil, fara asteptarea rezultatelor de laborator.

1) Atitudinea fata de caz :

Un caz este considerat **infectios** de la debutul simptomelor si pana la minimum 48 de ore de tratament corect **SAU** timp de 21 zile de la debut, in lipsa tratamentului sau daca tratamentul a fost incomplet.

In consecinta, sunt necesare urmatoarele:

- aplicarea masurilor de **izolare respiratorie** in sectia de boli infectioase sau izolare la domiciliu, pana la **minimum 48 ore de tratament corect** sau timp
-

- de **21 zile de la debut, in cazul in care tratamentul nu s-a efectuat sau a fost incomplet;**
- instituirea tratamentului antibiotic dupa recoltarea primei probe de ser;
 - declansarea investigatiei epidemiologice in maximum 24 ore de la raportarea cazului;

2) Atitudinea fata de contacti:

Grupurile prioritare pentru interventia de sanatate publica sunt urmatoarele:

Grupul 1: Persoane la risc crescut de a dezvolta complicatii severe

(„vulnerabile”)

- sugarii nevaccinati (cu varsta sub 2 luni), indiferent de statusul vaccinal al mamei **SAU**
- sugarii cu varsta de minimum 2 luni care sunt nevaccinati sau sunt partial vaccinati (mai putin de 3 doze de DTPa pana la varsta de 1 an), indiferent de statusul vaccinal al mamei

Grupul 2: Persoane la risc crescut de a transmite bacteria persoanelor din

Grupul 1

- gravidele (>32 saptamani de sarcina);
 - personalul medico-sanitar care lucreaza cu sugari si/sau gravide;
 - persoane a caror activitate presupune contact regulat, apropiat sau prelungit cu sugari prea mici pentru a fi complet vaccinati;
 - persoane care locuiesc in aceeasi casa cu un sugar prea mic pentru a fi complet vaccinat
- **Expunerea semnificativa asociata ingrijirii medicale** presupune contact direct, neprotejat, la distanta de **sub 2 metri**, pentru o **perioada cumulativa mai mare de 1 ora**, cu un caz infectios **SAU** contact direct cu secretii respiratorii de la un caz infectios, de exemplu in timpul unei proceduri sau examinari a nasului/gatului, fara purtarea echipamentului de protectie corespunzator. In cazul in care persoanele expuse sunt sugari nevaccinati sau partial vaccinati, conditiile de mai sus nu sunt obligatorii. De asemenea, aceste conditii nu sunt valabile in situatia in care expunerea a avut loc inafara unitatilor care acorda ingrijiri medicale.

Cele 2 interventii principale de sanatate publica sunt profilaxia post-expunere si vaccinarea.

2.1. Profilaxia post-expunere:

In vederea instituirii profilaxiei post-expunere, este necesara identificarea si catagrafierea tuturor contactilor familiali si a altor contacti apropiati, asa cum au fost descrisi mai sus.

Document elaborat de Centrul National de Supraveghere si Control al Bolilor Transmisibile

Profilaxia post-expunere se aplica in primele **21 zile** de la debutul cazului index.

Dozele de antibiotic necesare sunt aceleasi ca in cazul tratamentului si sunt prezentate in tabelul de mai jos, in functie de varsta si categoria la risc.

Tabel 1: Tratamentul si profilaxia post-expunere recomandate, in functie de varsta si categoria la risc

Grupa de varsta	Claritromicina	Azitromicina	Eritromicina*	Cotrimoxazol**
Nou nascuti (sub 1 luna)	De preferat la nou-nascuti 7,5 mg/kgc X 2/zi, 7 zile	10 mg/kgc, 1/zi, 3 zile	Nerecomandata din cauza asocierii cu stenoza pilorica hipertrofica	Nelicentiat pentru sugarii cu varsta sub 6 saptamani
Sugari (1-12 luni) si copii > 12 luni	1 luna – 11 ani:	1-6 luni: 10 mg/kgc, 1/zi, 3 zile	1-23 luni: 125 mg la 6 ore, 7 zile	6 sapt.-5 luni: 120 mg X 2/zi, 7 zile
	Sub 8 kg: 7,5 mg/kgc X 2/zi, 7 zile	>6 luni: 10 mg/kgc (max 500 mg), 1/zi, 3 zile	2-7 ani: 250 mg la 6 ore, 7 zile	6 luni - 5 ani: 240 mg X 2/zi, 7 zile
	8-11 kg: 62,5 mg X 2/zi, 7 zile		8-17 ani: 500 mg la 6 ore, 7 zile	6 -11 ani: 480 mg X 2/zi, 7 zile
	12-19 kg: 125 mg X 2/zi, 7 zile			12 - 17 ani: 960 mg X 2/zi, 7 zile
	20-29 kg: 187,5 mg X 2/zi, 7 zile			
	30-40 kg: 250 mg X 2/zi, 7 zile			
	12-17 ani: 500 mg X 2/zi, 7 zile			
Adulti	500 mg X 2/zi, 7 zile	500 mg/zi, 1/zi, 3 zile	500 mg la 6 ore, 7 zile	960 mg X 2/zi, 7 zile
Gravide	Nerecomandata	Nerecomandata	De preferat	Contraindicat

* dozele pot fi dublate in infectii severe

** in cazul in care macrolidele sunt contraindicate sau netolerate

Sursa: PHE – Guidelines for the Public Health Management of Pertussis in England

Document elaborat de Centrul National de Supraveghere si Control al Bolilor Transmisibile

2.2. Vaccinarea contactilor:

- La contactii nevaccinati sau partial vaccinati in **varsta de pana la 10 ani**, ar trebui completata schema de vaccinare. In acest scop, este necesara cercetarea statusului vaccinal al contactilor si initierea, in cel mai scurt timp, a completarii vaccinarilor recomandate, utilizand schema rapida, cu intervalul minim recomandat intre doze.
 - La contactii in **varsta de peste 10 ani** care nu au primit o doza de vaccin cu componenta pertussis in ultimii 5 ani si nicio doza de vaccin dT- IPV in luna precedenta, ar trebui administrata o doza booster de vaccin cu componenta pertussis.
 - La gravidele expuse, dupa varsta sarcinii de 32 saptamani
 - La gravidele expuse, la orice varsta a sarcinii, daca sunt la risc de a transmite bacteria la persoane din Grupul 1
-
- Profilaxia post-expunere si vaccinarea nu sunt recomandate in unitati de ingrijire medicala in care nu sunt implicate gravide sau sugari.

XIII. Analiza epidemiologica recomandata:

- numar de cazuri si rata incidentei pe luna si an, grupe de varsta, sex, medii si arie geografica;
- numarul si proportia cazurilor vaccinate corespunzator varstei si a celor nevaccinate corespunzator varstei;
- acoperirea vaccinala la DTPa3, anual , la nivel judetean si national;
- acoperirea vaccinala la R1, anual , la nivel judetean si national;
- rata de fatalitate a cazurilor;
- mortalitatea specifica;
- rata de atac in caz de epidemii

XIV. Indicatori de evaluare a sistemului de supraveghere:

- % din judetele care raporteaza corect (complet si la timp) la CRSP regional;
- % din cazurile suspecte la care investigatia epidemiologica a fost declansata de catre medicul epidemiolog in primele 24 de ore;
- % din cazurile posibile care au fost confirmate;
- % din cazurile confirmate cu sursa de infectie cunoscuta.

Intocmit, redactat:
Dr. Odette Popovici

FISA DE SUPRAVEGHERE A CAZULUI DE TUSE CONVULSIVA

Cod caz:

|_|_|_|_|_|_|_|_|_|_|_|_|_|_|_|_|

(abreviere auto judet / nr.din Registrul unic de boli transmisibile, conform HG 589/2007)

PACIENT :

Initale nume, prenume: |_|_|_|_|_|

Data nasterii: |_|_|_|_|_|_|_|_|_|

Varsta: |_|_|_| ani , |_|_|_| luni

Sex: M F

Domiciliul: Judet: |_|_|_| Localitate _____ Strada _____

Mediul : U R

Data debutului : __/__/____

Data izolarii : __/__/____

Locul izolarii : _____

Nr.zile spitalizare : |_|_|_|

TABLOU CLINIC:Tuse cu durata de min 2 saptamani Tuse paroxistica Inspir zgomotos Voma post – tuse Apnee la copilul sub 1 an **COMPLICATII :**Pneumonie Encefalopatie acuta Convulsii **TRATAMENT:**Au fost administrate antibiotice ? **DECES:** Da / Nu

Daca Da, data decesului : __/__/____

Daca Da, Ampicilina Eritromicina

Altele (precizati) _____

REZULTATELE INVESTIGATIILOR DE LABORATOR :

Tip investigatie de laborator	Data recoltarii probei	Rezultat
Cultura		
Serologie (ser I)		
Serologie (ser II)		
Rezultat final serologie (pozitiv, negativ, neconcludent)	XXXXXXXXXX XXXXXXXXXX	
Detectia acidului nucleic (PCR)		

INFORMATII EPIDEMIOLOGICE:

Inscris la medic de familie : Da / Nu

Data vaccinarii DTP :1. __/__/____ 2. __/__/____ 3. __/__/____
4. __/__/____ 5. __/__/____

Nr. total doze DTP primite : | _ |

Vaccinat DTP conform varstei : Da / Nu

Daca Nu, motivul :
Contraindicatie medicala
Refuz parinti
Neprezentare
Confirmare anterioara pertussis prin izolare din cultura,
serologie sau determinarea acidului nucleic
Altul (precizati) _____

Data raportarii la DSPJ : __/__/____

Data declansarii investigatiei epidemiologice : __/__/____

Caz sporadic Cazul provine din focar

Daca Da, precizati focarul :

Judet: | _ | _ | Localitate _____

Strada, nr. _____ Colectivitate _____

Locul probabil al transmiterii agentului infectios :

scoala/gradinita armata
liceu/facultate detentie
centru de plasament calatorii internationale tara, localitatea _____
cabinet medical altul (precizati) _____
spital necunoscut

Nr.contacti : | _ | _ | _ | , din care copii | _ | _ | _ | (sub 18 ani)

Comentarii : _____

Clasificarea cazului : posibil / probabil / confirmat / infirmat

Data clasificarii finale a cazului : __/__/____

Medic epidemiolog :
(semnatura si parafa)

DSPJ _____

**BULETIN DE INSOTIRE A PROBELOR BIOLOGICE
PENTRU DIAGNOSTICUL TUSEI CONVULSIVE**

Cod caz : | _ | _ | _ | _ | _ | _ | _ | _ | _ | _ |

(abreviere auto judet / nr.din Registrul unic de boli transmisibile, conform HG 589/2007)

Data nasterii : __ / __ / ____ Varsta : _____

Data vaccinarii cu DTP :

1. __ / __ / ____
2. __ / __ / ____
3. __ / __ / ____
4. __ / __ / ____
5. __ / __ / ____
6. __ / __ / ____

Data debutului bolii : __ / __ / ____

Tip proba : _____

Data recoltarii probei : __ / __ / ____

Data trimiterii probei la INCDMI Cantacuzino : __ / __ / ____

Medic Sef Laborator DSPJ : _____
(semnatura si parafa)

PRELEVAREA SI TRANSPORTUL PROBELOR BIOLOGICE PENTRU DIAGNOSTICUL TUSEI CONVULSIVE

1. SCOP

Procedura stabilește metodologia de prelevare si transport a probelor intr-un sindrom de tuse spastica cu suspiciune de implicare a germenilor din genul *Bordetella*

2. DOMENIUL DE APLICARE

Procedura se utilizeaza in scopul efectuarii diagnosticului microbiologic la suspecti sau bolnavi de tuse convulsiva si la contactii acestora.

Procedura este recomandata atat personalului medical din laboratoarele de spital care recolteaza probe pentru izolarea si identificarea speciilor genului *Bordetella* implicate etiologic in tusea convulsiva cat si personalului sanitar care recolteaza probe pentru diagnosticul serologic al bolii.

Examenul microbiologic al prelevatelor recoltate permite evidentierea germenilor genului *Bordetella* prezenti la nivelul celulelor ciliate ale epiteliului tractusului respirator superior.

Examenul serologic pune in evidenta raspunsul imun dupa un contact cu speciile genului raspunzatoare pentru tusea convulsiva.

3. DOCUMENTE DE REFERINTA

3.1. Muray P.R.-Manual of clinical Microbiology, 8th edition ASM Press.,Washington D.C. 2003;

3.2. WHO/CDS/CSR/EDC/2000.4- Guidelines for collection of clin specimens during field investigation of outbreaks.

3.3. CDC-VPD Surveillance Manual, 5th Edition, 2011 Pertussis: Chapter 10-3

3.4. HPA Guidelines for the Public Health Management of Pertussis – updated oct. 2012

4. DEFINITII SI PRESCURTARI

4.1. Definitii

Tusea convulsiva este o boala infectioasa, inalt contagioasa, determinata de speciile genului *Bordetella*, *B. pertussis* si *B. parapertussis*, agenti patogeni prin excelenta pentru om, putand afecta toate varstele. Simptomele sunt diferite in functie de varsta: in timp ce adolescentii si adultii prezinta, in general, forme clinice de boala medii, copiii mici neimunizati, cei mai vulnerabili, pot prezenta forme foarte severe cu rate foarte mari ale complicatiilor si deceselor.

4.2. Prescurtari

5. DESCRIEREA ACTIVITATII

5.1. Consideratii de biosecuritate

Prelevarea secretiilor nazofaringiene la pacientii cu tuse convulsiva poate precipita aparitia acceselor de tuse, ce pot fi cauza de obstructie a cailor aeriene. Din acest motiv se recomanda prelevarea in unitati spitalicesti dotate cu echipament de resuscitare.

Reguli generale:

- personalul care preleva proba trebuie sa evite contactul direct cu tusitorul prin utilizare de masca de protectie si halat.
- la recoltarea sau manipularea probelor se utilizeaza halat si manusi de unica folosinta din latex sau nitril pentru fiecare pacient;
- se face dezinfectia zilnica a locului destinat recoltarii
- se respecta regulile generale de igiena personala si protectia muncii (echipament de protectie – masca, halat si manusi de unica folosinta, etc);
- echipamentul sau materialele contaminate care nu sunt de unica folosinta trebuie submerjate timp de 5 minute in solutie de cloramina cu o concentratie de 1%, apoi spalate cu apa si sapun si sterilizate inainte de utilizare;

5.2. Materiale necesare

- Tamponane pentru recoltarea exsudatului nazofaringian, cu capul de recoltare din poliester (Dacron sau rayon), iar tija din aluminiu sau plastic flexibil. Tamponanele din bumbac sau calcium alginat **nu** se accepta, deoarece reziduurile acestor materiale pot inhiba cresterea *B. pertussis* sau reactia PCR.
- Cateter si seringă sterile pentru recoltarea aspiratului nazofaringian
- Recipient de plastic steril pentru aspiratul nazofaringian
- Mediu de transport (semisolid Regan Lowe sau mediu lichid Amies).
- mediu Bordet-Gengou cu sange de berbec 15% selectiv (cu adaus de cefalexina)

5.3. Prelevarea probelor

Probele pentru examen bacteriologic (exsudat sau aspirat nazofaringian) se recolteaza in faza acuta a bolii, cat mai aproape de debut (evolutia bolii scade rata de izolare de la 90%, in prima saptamana, la < 20% dupa a 3-a saptamana), si inaintea administrarii de antibiotice.

5.3.1. Recoltarea exs. nazofaringian (cel mai des utilizat)

Document elaborat de Centrul National de Supraveghere si Control al Bolilor Transmisibile

- Se pune pacientul sa-si sufle nasul pentru a scoate orice exces de mucozitati din cavitatea nazala
- Se imobilizeaza capul pacientului, usor spre spate
- Se insera usor tamponul nazal, prin narina si avanseaza pe peretele inferior al nasului pana in nazofarinxul posterior, unde se mentine pentru cateva secunde, sau pana cand pacientul tuseste;
- Se rasuceste apoi tamponul, cu blandete, inainte de a-l scoate din narina;
- Se pot recolta doua probe - cate una din fiecare narina;
- Daca este posibil, se descarca tamponul, la patul bolnavului, pe mediu Bordet-Gengou cu sange de berbec 15% selectiv (cu adaus de cefalexina)

5.3.2. Recoltarea aspiratului nazofaringian

- Aspiratul nazofaringian este colectat cu ajutorul unui cateter introdus cu grija prin narina pana la peretele posterior al nazofaringelui;
- Recoltarea probei se efectueaza prin aspiratie intermitenta;
- Aspiratul este colectat într-un recipient de plastic steril, care va fi transportat la laborator cat mai repede posibil.

5.3.3. Recoltarea sangelui venos pentru examenul serologic

- Se face cat mai aproape de debutul bolii (proba 1) si dupa 1 luna de la debutul bolii (proba 2) sau o singura proba dupa cel putin 21 de zile de la debutul bolii.
- Dupa separarea serului, se recomanda ca cele doua probe se fie lucrate in aceeasi sedinta, cu mentiunea ca proba 1 sa fie mentinuta la -20°C pana la sosirea probei 2.

5.4. Transportul probelor

- Daca nu este posibila insamantarea prelevatului la patul bolnavului, acesta se trimite la laborator intr-unul din urmatoarele medii de transport:
 - mediu semisolid Regan Lowe, sau Regan Lowe cu cefalexina (previne cresterea florei normale nazofaringiene)
 - mediu lichid Amies
- Plaseaza tamponul cu exs.nazofaringian intr-un tub cu mediu de transport, rupe tija tamponului, astfel incat sa se poata inchide tubul etans cu ajutorul capacului.
- Eticheteaza tubul cu numele si sursa prelevatului, data si ora recoltarii.
- Stocheaza apoi tubul cu mediu de transport la temperatura mediului ambiant.
- Completeaza cererea de analiza
- Pentru transportul la distanta este necesara impachetarea conform reglementarilor din ghidul de transport al substantelor infectioase si de diagnostic.
- Transportul prelevatului la laborator trebuie finalizat in 24 ore, astfel incat inocularea pe mediul de cultura sa poata fi realizata in maxim 24 ore de la recoltarea prelevatului clinic.
- Probele de ser pot fi stocate maximum 5 zile la $+2^{\circ}\text{C}...+8^{\circ}\text{C}$, sau maximum 3 luni la -20°C , sau la -70°C pentru un timp nedefinit;
- Se evita congelarea si decongelarea repetata.

5.5. Neconformitati

Prelevatul poate fi refuzat in urmatoarele cazuri:

- trimiterea de tampoane uscate;
- trimiterea de seruri contaminate, icterice, lipemice sau hemolizate;
- absenta etichetei pe esantionul de analizat;
- absenta cererii de analiza;
- identificarea pacientului: absenta, incompleta, eronata sau indescifrabila;
- recipient necorespunzator (deteriorat, deschis)