

DOSAR

HEMATOLOGIE

LABORATOR CLINIC

V. KONDI

Amara W

V. KONDI

HEMATOLOGIE

LABORUL
CLINIC

IE

EDITURA MEDICALA

ECTE

za eritro-
arătoarea

inea 0,5,
e încărcă
10 de mi-
aminează
examina
ritrocite.
area in
nsă și
mişcarea
ezate pe
are încă
numără
ul făcîn-

și

acă prin
intre-
ce poate
e cu pi-
mără în

TARE

unea 1,
Apoi se
diluția
mogeni-

zare, se aruncă 2 picături din soluția de citrat care ocupă tubul capilar al pipetei, apoi conținutul pipetei se introduce într-un tub cu diametru mic de circa 5 mm. Tubul se lasă în poziție verticală circa 1-2 ore. În caz de urgență, tubul se poate centrifuga 1 minut la 1 000 ture/min.
Eritrocitele se sedimentează ușor, lăsând în partea de sus o coloană mică de lichid alb transparent. Cu ajutorul unei pipete Pasteur se ia o picătură din acest lichid supernatant și se umple camera de numărătoare în mod obișnuit. După aproximativ 15-20 de minute, necesare pentru sedimentare, se numără trombocitele.

Metoda este simplă și permite să se obțină o suspensie de trombocite aproape lipsită de eritrocite.

Numărul găsit în 1 mm^3 se înmulțește cu 10 (diluția inițială a singelui) și se află numărul de trombocite/ mm^3 .

Normal = 150 000-300 000 trombocite/ mm^3

NUMĂRĂTOAREA DE TROMBOCITE PRIN METODA BRECHER-CRÖNKITE

Reactivi necesari: oxalat de amoniu 1%.

Tehnica: se face o diluție a singelui de 1/100 în pipeta de eritrocite cu soluția de oxalat de amoniu.

Se agită bine pipeta, apoi se lasă în repaus timp de 15-30 minute necesar pentru hemoliză. După ce se agită din nou pipeta și apoi se aruncă 4-5 picături, se încarcă camera și se procedează la numărătoare.

STUDIUL MORFOLOGIC AL TROMBOCITELOR

Morfologia trombocitelor se studiază pe frotiuri colorate cu May-Grünwald-Giemsa, recoltate pentru formula leucocitară.

Pe frotiul obișnuit, în mod normal, trombocitele sînt agregate în grupuri de câte 2-3 sau mai multe elemente; în caz de trombocitopenie sau trombocitopenie dispăște această agregabilitate spontană, elementele fiind izolate.

Normal, diametrul trombocitelor este cuprins între 2 și 4μ .

Se pot întîlni macrotrombocite, celule care ating și depășesc 6-10 μ .

EXAMENUL MORFOLOGIC AL SINGELUI

INTINDEREA FROTIULUI

Principiu: se întinde o picătură de singe proaspăt recoltat pe o lamă, în strat subțire, în așa fel încît elementele să nu fie suprapuse, pentru a cerceta elementele figurate după colorarea cu metoda obișnuită panoptică.

Material necesar:

— material pentru recoltarea în picătură;

— lame.

Tehnica întinderii frotiului (fig. 60). Se recoltează o picătură proaspătă de singe pe marginea unei lame șlefuite; lama se aplică pe o altă lamă, orizontală, în așa fel încît picătura de singe să se întindă, prin capilaritate, la marginea de contact dintre cele două lame care fac un unghi de aproximativ 30° . Se

împună apoi lamei șlefuite o mișcare de translație ușoară, ceea ce permite singelui să se întindă într-un strat subțire.

Imediat după întinderea frotiului, lama se agită pentru uscarea rapidă la aer. În lățime, frotiul trebuie să aibă două margini paralele, ceea ce se poate obține prin întinderea lamei înainte ca picătura de singe să cuprindă întregul unghi dintre cele două lame sau prin întinderea singelui cu o lamă șlefuită având un colț rupt. Frotiul se întinde subțire, astfel ca elementele să nu fie suprapuse.

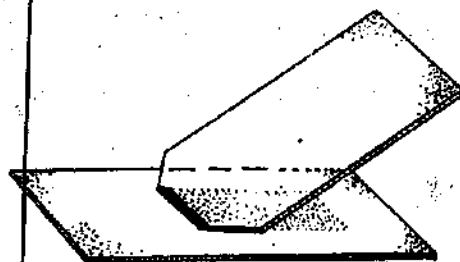


Fig. 60. Întinderea frotiului de singe.

Pentru ca frotiul să fie bun, trebuie folosit un material de sticlă curat, bine degresat.

Frotiul trebuie colorat cât mai curând întrucât, în lamele nefixate și necolorate, celulele se alterează, pierzându-și afinitatea tinctorială.

COLORAREA FROTIURILOR DE SINGE ȘI MĂDUVĂ

Clasa unui element sau gradul lui de maturare se stabilesc pe baza unor criterii care privesc bazofilia citoplasmei elementelor tinere, afinitatea tinctorială a granulațiilor granulocitelor și acidofilia eritrocitelor mature.

Actualmente se folosește colorarea dublă cu soluție May-Grünwald-Giemsa, care dă indicații asupra compoziției chimice a substanței vii celulare.

Acidofilia granulațiilor eozinofile este datorită alcalinității ($pH=11$) acestor granulații. O celulă bazofilă are pH acid și se colorează cu substanțe bazice. Eritrocitul ortocromatofil are $pH=4-5$, iar eritrocitul policromatofil are pH mai acid, aproape de 3.

Coloranții utilizați în hematologie se clasifică în coloranți simpli și compoși, sau coloranți acizi, bazici și neutri.

Coloranți acizi: eozină.

Coloranți bazici: albastrul de metilen, azurul de metilen, violetul de metilen.

Coloranți neutri: eozinat de albastru de metilen, eozinat de azur de metilen.

Metoda de colorație panoptică May-Grünwald-Giemsa dă indicații asupra pH -ului componentelor celulare. Astfel, coloranții acizi sînt fixați de porțiunile alcaline ale celulei, care deci sînt acidofile, iar coloranții bazici sînt fixați de părțile acide, deci sînt bazofile. Așa de exemplu, eozina, colorant acid, este fixată de granulațiile eozinofile care sînt alcaline ($pH=11$); albastrul de metilen, colorant bazic, este fixat de acidul ribonucleic din citoplasma eritroblastului bazofil, colorînd-o în albastru. Azurul de metilen fixează acidul dezoxiribonucleic din nucleul eritroblastului bazofil.

Nucleii celulelor sînt bogăți în acizi nucleici:

- acidul ribonucleic se găsește atât în citoplasmă, cît și în nucleu;
- acidul dezoxiribonucleic (timonucleic) se găsește numai în nucleu.

nite sin-

apidă la
se poate
intregul
au prin
șlefuită
intinde
nu fie

in, tre-
ă curat,

oit mai
ixate și
ă, pier-

ca unor
tincto-

inwald-
elulare.
H = 11)
bstante
matofil

și com-

e meti-

e meti-

asupra
iunile
xați de
d, este
de me-
eritro-
acidul

nucleu.

Azurofilia nucleului prin colorația Romanovski-Giemsa este datorită ambilor acizi nucleici. Nucleolul fixează albastrul de metilen deoarece conține acid ribonucleic de tip citoplasmatic.

Cu cât o celulă este mai tânără cu atât citoplasma ei este bazofilă, dat fiind concentrația mare de acid ribonucleic. Pe măsură maturării, celula devine tot mai acidofilă, deoarece scade concentrația în acid ribonucleic (ex. evoluția eritroblastilor). Limfocitele conțin o cantitate mică de acid ribonucleic în citoplasmă, pe când plasmocitele au o cantitate mare.

Termenii de eozinofil, oxifil și acidofil sînt sinonime care indică afinitatea față de coloranții acizi.

Compoziția colorantului panoptic și rezultatele obținute după afinitatea citochimică a părților componente celulare:

Soluția May-Grünwald:

eozinat de albastru de metilen
glicerină neutră p.a.
alcool metilic p.a.

1 g
50 ml
100 ml

Soluție Giemsa:

eozinat de azur de metilen
azur de metilen
glicerină neutră p.a.
alcool metilic

3 g
0,8 g
250 ml
200 ml

Tehnica colorării panoptice

Reactivi și materiale necesare:

- soluție May-Grünwald
- soluție Giemsa
- apă distilată neutră
- pipete Pasteur, pipete gradate.

pH-ul apei distilate trebuie să fie 7 sau 7,2. Apa distilată este de obicei acidă. Neutralizarea ei se obține adăugînd cîteva picături dintr-o soluție slabă alcalină de carbonat de sodiu 1% la 500 ml apă distilată, încercîndu-se pH cu indicator universal de hîrtie sau cu hematoxilină; pH-ul apei se controlează prin adaos de cîteva cristale de hematoxilină; colorarea apei în roz este indicația de neutralitate (hematoxilina este violet-albastră în mediul alcalin și galbenă în mediul acid).

Pentru malariologie se folosește o apă ușor alcalină.

Folosirea apei tamponate: se folosește un tampon fosfat cu pH = 7,2:

PO ₄ H ₂ K	0,49 g
PO ₄ HNa ₂	1,14 g
Apă distilată	200 ml

1 parte tampon + 9 părți apă

Folosirea unui tampon fosfat cu pH = 6,8 ne-a dat rezultate mai bune.

Tampon pH = 6,8:

I. PO ₄ H ₂ K	M/15	0,90 g%
II. PO ₄ HNa ₂	M/15	1,18 g%

Se amestecă soluția I cu soluția II în părți egale.

Se folosește 1 parte tampon cu 9 părți apă.

Tabelul XLIV

Părțile componente ale celulei	Soluție May-Grünwald	Soluție Giemsa	Culori
Granulocite:			
Neutrofil	+	-	Brun
Eozinofil	+	+	Portocaliu
Bazofil	+	+	Albastru închis-negru
Eritrocit	+	+	Roz roșatic
Nucleul	-	+	Violaceu de diferite intensități
Citoplasma	+	+	Neutrofile = roz
			L = albastră
			M = albastră
Granulații azurofile	-	+	Roșu-violet
Hematozoar	-	+	Roșu-violet

Semnul + = colorează,
semnul - = nu colorează.

Pentru fiecare soluție-tampon pH-ul trebuie verificat colorimetric sau electroionometric. Dacă valoarea pH-ului nu este cea dorită se va corecta adăugând fie soluția I, fie soluția II după cum amestecul este mai alcalin sau mai acid. Corectarea se face sub controlul pH.

Fizarea. Se acoperă frotiul cu un număr cunoscut de picături din soluția May-Grünwald și se lasă 2-3 minute.

— **Colorarea se face în 2 timpi:**

— timpul 1: se adaugă peste soluția May-Grünwald un număr egal de picături de apă tamponată, se omogenizează și se lasă astfel 2 minute;

— timpul 2: se varsă soluția de pe lamă și fără să se spele se acoperă cu soluție Giemsa diluată în proporție de 1 picătură soluție Giemsa pentru 1 ml apă tamponată. Se lasă în repaus 20 minute. Apoi lama se spală la robinet sub jet puternic de apă. Se șterge dosul lamei lăsând-o în stativ pentru uscare. Dacă lamele sînt slab colorate, se pregătește soluția Giemsa diluată cu 2 picături pentru 1 ml apă.

Dacă apa tamponată folosită este alcalină, eritrocitele apar albastre, iar dacă este prea acidă, apar roșu aprins; în ambele cazuri granulațiile nu se pot colora bine.

Colorarea pentru trombocite se face la fel, prelungind timpul de colorare cu Giemsa la 45 minute. Spălarea lamei pentru trombocite nu se face sub jet puternic de apă fiindcă apa antrenează trombocitele.

Prepararea soluției May-Grünwald-Giemsa amestecată (amestec panoptic)
(Virgil Ionescu).

Atunci cînd avem substanțe în stare de pulbere folosim următorul amestec

May-Grünwald	pulbere	1 g
Giemsa	pulbere	2 g
alcool metilic p.a.		1000 ml

Amestecul se lasă 24 h la 37° în sticlă bine închisă cu dop rotat.

Tehnica de colorare cu amestecul panoptic

— se acoperă frotiul cu acest amestec timp 2-3 minute;

- la bolnavii iradiați pentru tumori sau hemopatii maligne și insuficient supravegheați din punct de vedere hematologic;

- în caz de iradieri accidentale: accidente din centre atomice sau explozii de bombe atomice.

Dozele cuprinse între 200 și 600 r provoacă tulburările hematologice cele mai evidente. Peste 600 r moartea survine în câteva zile. Sub 200 r aplazia este parțială.

Evoluția sindromului hematologic este următoarea:

a) Primele 2 zile:

- leucocitoză cu polinuclează, limfopenie;

- eritrocitele, trombocitele, reticulocitele se mențin normale;

- hemostaza nu prezintă variații;

- măduva arată oprirea mitozelor.

b) Prima și a doua săptămână:

- leucopenie cu limfopenie și neutropenie;

- scad eritrocitele, trombocitele și reticulocitele;

- apar modificări de hemostază: timp de sîngerare crescut; timpul de coagulare poate fi crescut sau normal; consumul de protrombină este deficitar;

- măduva arată aplazie;

- se pot asocia hemoragii, infecții.

c) A treia și a patra săptămână: există două posibilități:

- evoluție spre vindecare: toate elementele eritrocitare, leucocitare și trombocitare sporesc; hemostaza se normalizează, măduva se regenerează complet;

- evoluția fatală: dacă după două săptămâni numărul leucocitelor se menține sub 2 000 și reticulocitele sînt absente, prognosticul este grav și aplazia medulară duce la moarte într-un timp variabil.

Bolnavii care supraviețuiesc la o astfel de iradiere sînt amenințați, în timp, de apariția posibilă a unei leucoze.

În general, iradierea predispune la leucoză. Statisticile arată că leucozele sînt de opt pînă la nouă ori mai frecvente la radiologii decît la medicii de altă specialitate. Este vorba de persoane iradiate timp îndelungat, cel puțin 10 ani, în condiții de protecție insuficientă.

De asemenea cazurile de leucoză sînt net mai frecvente în Japonia la populația iradiată de bomba atomică, decît în restul populației.

Mai des se observă leucoze acute sau subacute, uneori leucoze mieloid cronice. Leucozele limfoide apar mai rar.

VII. EXPLOAREA SERIEI LEUCOCITARE ȘI TROMBOCITARE

TEHNICI

NUMĂRĂTOAREA LEUCOCITELOR

Principiu: singele se diluează în pipetă cu un lichid de diluție care lizează eritrocitele, păstrînd numai elementele nucleate. Numărătoria se face după principii identice cu ale eritrocitelor.

ficient

explo-

logico
apla-

il de
fici-

e și
ază

se
și

in

co-
cili
m-

la

le

Material necesar:

- material pentru recoltare prin înțepătură (descrie la numărătoarea eritrocitelor);
- pipetă pentru diluția leucocitelor;
- cameră de numărat: Bürker, Goresaev, Bürker-Türk;
- microscop.

Pipeta pentru numărătoarea leucocitelor este formată dintr-un tub capilar cu zece gradații, cu notațiile 0,5 și 1, prelungit cu o bulă de diluție.

Deasupra bulii se poate citi notația 11. Diluția singelui recoltat pînă la 0,5 este de 1/20 și recoltat pînă la 1 este de 1/10. Capacitatea reală a pipetei este de 11 volume, dar diluția este 1/10 și 1/20, datorită faptului că un volum de diluent rămîne în tubul capilar și nu diluează singele.

Despre camerele de numărat și întreținerea materialului vezi numărătoarea de eritrocite.

Reactivul de diluție pentru leucocite:

- acid acetic 1 ml
- apă distilată 100 ml
- albastru de metilen 1% câteva picături

Tehnică: Recoltarea și umplerea camerei se face identic ca la eritrocite. Se numără câmpuri de câte 1 mm pătrat, 25 de pătrate de 1/25 mm² sau în-
treg câmpul de 1 mm², delimitat prin linii triple.

Dacă pe 5 mm² se găsesc 160 de leucocite, pe 1 mm² sunt 32 de leucocite. Dacă recoltarea se face pînă la notația 0,5, numărul de leucocite/mm³ (N) este:

$$N = 32 \times D \times I, \text{ în care:}$$

D = diluția 1/20

I = înălțimea camerei 1/10

$$\text{sau } 32 \times 20 \times 10 = 6400 \text{ leucocite/mm}^3$$

Dacă recoltarea se face pînă la notația 1, numărul de leucocite/mm³ este:

$$N = \text{numărul de leucocite/1 mm}^2 \times D \times I, \text{ în care:}$$

D = diluția 1/10, iar I = înălțimea camerei 1/10, deci

$$N = 64 \times 10 \times 10 = 6400 \text{ leucocite/mm}^3$$

Rezultate normale:

Adult 5 000—9 000/mm³

Sugar 8 000—12 000/mm³

Nou-născut 12 000—20 000/mm³

Erorile de determinare sînt descrise la numărătoarea eritrocitelor.

Variații fiziologice ale numărului și procentajului de leucocite.

1. Efectul digestiei: după o masă copioasă se întâlnește deseori o hiperleucocitoză care poate să ajungă la 10 000 pînă la 20 000 leucocite pe mmc, cu polinucleoză.

La unele persoane sensibilizate față de diferite alimente, mai ales pentru lapte, și care prezintă o intoleranță pentru alimentul respectiv, se constată o leucopenie sub 3 000 leucocite pe mmc.

2. Efortul muscular intens și susținut produce o hiperleucocitoză care poate să atingă 20 000 leucocite pe mmc.

3. Nou-născutul în mod fiziologic are un număr crescut de leucocite între 12 000 și 20 000 pe mmc. Sugarul și copilul mic prezintă un număr de leucocite între 10 000 și 20 000 pe mmc. Acest număr atinge cifrele de la adult, scăzînd treptat, între 5 și 7 ani.

4. La femeie, în timpul sarcinii, se produce o hiperleucocitoză cu polinucleoză care, în unele cazuri, merge până la 12 000 elemente pe mmc, la sfârșitul sarcinii. În timpul travaliului, numărul de leucocite poate să atingă 30 000 pe mmc (Kondi V.).

În ceea ce privește menstruația, variațiile sînt ușoare, fie în plus, fie în minus, ale numărului de leucocite.

5. Se poate vorbi de leucopenie cînd numărul de leucocite atinge 3 000 și sub 3 000 pe mmc. Unele persoane pot prezenta o leucopenie permanentă de 2 000 — 3 000 elemente pe mmc, fără să aibă însă nici o manifestare patologică.

Unele leucopenii sînt congenitale și rămîn neschimbate toată viața. Altele sînt trecătoare, durează cîteva luni sau cîteva ani, apoi dispar spontan. Astfel de persoane au însă o stare fiziologică normală.

CORECȚIA REZULTATELOR ÎN NUMĂRĂTOAREA LEUCOCITELOR ÎN CAZ DE ERITROBLASTOZĂ

În camera de numărătoare este imposibil să se facă deosebirea între un leucocit și un eritroblast. Numărul găsit nu reprezintă deci numărul de leucocite, ci suma leucocitelor și eritroblaștilor, adică a elementelor nucleate. Eritroblaștii sînt numărați în formula leucocitară și raportați la 100 de elemente albe.

Exemplu: numărul de elemente nucleate numărat în cameră este de 18 000/mm³ iar formula leucocitară arată 20 de eritroblaști la 100 de leucocite. Deci, dacă la 120 de elemente nucleate se găsesc 20 de eritroblaști, la 18 000 de elemente nucleate conținute într-un mm³ se găsesc

$$\frac{18\,000 \times 20}{120} = 3\,000 \text{ eritroblaști}$$

Deci, numărul real de leucocite este de 18 000 — 3 000 = 15 000/mm³.

NUMĂRĂTOAREA ÎN CAMERĂ A EOZINOFILILOR

Principiu: Singele recoltat este amestecat cu o soluție de acetonă-eozină care distruge celelalte celule, păstrînd numai eozinofilele, pe care le colorează slab. Numărătoarea se face în cameră Nageotte sau în cameră obișnuită de numărare.

Material necesar:

- material pentru recoltare;
- pipetă pentru recoltarea leucocitelor;
- cameră de numărare Nageotte (sau Burker, Goresev);
- microscop;

reactivul acetonă-eozină

eozină soluție apoasă 2%	5 ml
acetonă	5 ml
apă distilată	90 ml

Soluția se conservă la frigider la +4°, se filtrează înainte de folosire; nu se mai poate întrebuința după 15 zile de la preparare.

bină cu capacitatea de 20 mm³. Diluțiile hipotonice se fac cu un volum final de 2 ml la care se adaugă cîte 20 mm³ cu sînge în fiecare, realizînd astfel o diluție a sîngelui de 1/100. Se agită, se așteaptă să se producă hemoliza, 30 de minute, se centrifughează și se dozează la fotometru hemoglobina din fiecare supernatant. Ca probă albă (zero) se consideră un supernatant lipsit de hemoglobină, iar tubul cu hemoliza totală se socotește 100% hemoliză. Se fac extincțiile și cu o regulă de trei se poate afla în procente cîtă hemoglobină există în fiecare supernatant din intervalul 0—100%. Curba reprezintă procente de hemoglobină din supernatant în funcție de concentrație în CINA (fig. 38).

REZISTENȚA MECANICĂ A ERITROCITELOR

Principiu: Se verifică rezistența eritrocitelor la o anumită solicitare mecanică.

Tehnică: Se defibrinează singele cu perle. Se determină hematocritul. Se corectează hematocritul prin adaos sau scoatere de ser propriu pentru a obține cifra de 35%. Se pun 2 ml sînge într-un vas Erlenmayer de 50 ml capacitate, conținînd 20 de perle de sticlă șlefuite, de 4 mm diametru. Vasul este fixat orizontal pe o roată turnantă verticală astfel ca axul vasului să fie la 3,25 cm de axul roții. Roata trebuie să se învîrtească cu o viteză de 40 de rotații/minut timp de 2 ore.

După 2 ore de rotație se lucrează astfel:

Se ia din vas 0,1 ml sînge și se amestecă cu 9,9 ml soluție amoniacală 0,4%; se face extincția E₁ la fotometru. Restul sîngelui se aspiră cu pipeta de pe perle și se centrifughează. Din serul supernatant hemolizat se ia 0,25 ml și se amestecă cu 4,75 ml soluție amoniacală; se face extincția E₂.

La 0,25 ml ser inițial (nehemolizat) se adaugă 4,75 ml soluție amoniacală; se măsoară extincția E₃.

Se lucrează cu o cuvă de 5 mm grosime; cuva pentru proba albă se umple de apă distilată.

Calcul:

$$\text{Hemoliza \%} = \frac{(E_2 - E_3) \times 100}{(E_1 - E_3) \times 5} \text{ în care}$$

E₁ = extincția sîngelui complet hemolizat diluat 1/100

E₂ = extincția serului hemolizat diluat 1/20

E₃ = extincția serului netratat diluat 1/20

Valori normale: gradul de hemoliză a unui sînge normal, cu această tehnică, este sub 15%.

Rezistența mecanică este mult scăzută în majoritatea anemiilor hemolitice. În unele anemii hemolitice cu rezistența osmotică normală sau crescută, ca în talasemie există o netă scădere a rezistenței mecanice.

VITEZA DE SEDIMENTARE A ERITROCITELOR

Principiu: dacă singele este tratat cu un anticoagulant și lăsat în repaus, eritrocitele se sedimentează după un timp variabil.

Metoda *Westergreen* este cea mai mult utilizată.

Material și reactivi:

— seringă și ac de puncție venoasă;

- eprubete de hemoliză;
- pipete Westergreen cu diviziuni milimetrice de la 0 la 200;
- stativ;
- pipete gradate de 2 și 1 ml;
- citrat trisodic 3,8%.

Tehnica — cu o pipetă gradată de 1 ml se pun într-o eprubetă de hemoliză 0,4 ml citrat trisodic, 3,8%. Se scoate prin puncție venoasă, dacă se poate ridicând garoul, o cantitate de 2—3 ml sînge, care se pune într-o eprubetă

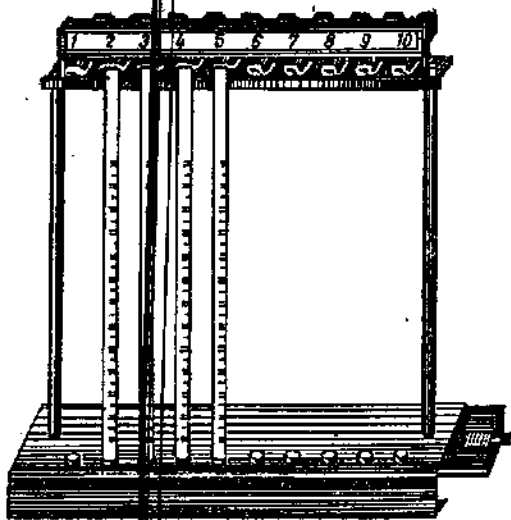


Fig. 39. Aparat Westergreen.

Cifre normale de adulți:

1 oră	2 ore
bărbați: 1—10 mm	7—15 mm
femei: 2—13 mm	12—17 mm
copii mici și sugari:	9—12 mm

Condițiile tehnice care trebuie asigurate în determinarea vitezei de sedimentare după metoda Westergreen sînt:

- tubul de sedimentare trebuie să aibă o înălțime gradată de 200 mm;
- diametrul trebuie să fie mai mare de 1 mm; în general se preferă diametrul de 2,5 mm sau 3 mm;
- tubul trebuie să fie perfect cilindric și curat;
- cînd pe tub nu sînt imprimare diviziuni, citirea se face cu o linie milimetrică;
- poziția tubului trebuie să fie verticală; în tuburi înclinate viteza este mai mare. Procedeu *Fuente-Hita*, care folosește tuburi înclinate de 45°, arată o viteză de 4 ori mai rapidă. Pentru controlul verticalității în metoda Westergreen se folosește, montat pe aparat, un fir de plumb;
- anticoagulantul folosit în mod unanim este citratul de sodiu. Folosirea oxalatului de sodiu dă viteze mai accelerate.

Determinarea vitezei trebuie să se facă imediat după recoltare sau cel mai târziu în primele 2—3 ore. Conservarea singelui micșorează viteza.

Interpretarea rezultatelor: factorii care influențează viteza de sedimentare sînt eritrocitari și plasmatici.

Factorii eritrocitari: anemia accelerează viteza de sedimentare.

Factorii plasmatici: variațiile de viteză care se observă cînd eritrocitele sînt în număr normal, sau diferențele de viteză care se observă între două probe de sînge cu același număr de eritrocite țin de factorii plasmatici. Tendința fiziologică a eritrocitelor de a forma rulouri este mult exagerată într-un sînge cu viteza crescută.

Factorii plasmatici care favorizează formarea de rulouri sînt proteinele, ca fibrinogenul, globulinele.

Viteza de sedimentare a eritrocitelor crește în boli infecțioase sau inflamatoare: tuberculoză activă, reumatism poliarticular acut, boli infecțioase, inflamații, septicemii;

— în hemopatii, leucoze, reticuloze, ca și în mielom, în boala Hodgkin, în macroglobulinemia Waldenström;

— în nefroze, în infarctul cardiac.

Măsurarea și urmărirea vitezei permit, de asemenea, urmărirea evoluției unei infecții (în tuberculoză).

Valori scăzute se găsesc în hepatita epidemică, în stări alergice.

Variații fiziologice: la femeie, în timpul menstruației viteza crește; valori crescute se întîlnesc în sarcină, mai ales în ultimele luni; la copii viteza este ceva mai mare decît la adult.

Surse de erori: influența temperaturii: VSH crește cu temperatura. Între 20 și 27° variațiile sînt de mică importanță și determinarea se poate face la T° camerei. În alte condiții de temperatură cu variații mari se recomandă ca stativul cu tubul să se introducă în termostat cu T° constantă de 20°.

În cazul bolnavilor cu crioglobulinemie, VSH efectuat la temperatura camerei poate să dea erori mari, datorită împiedicării sedimentării eritrocitelor prin gelificarea plasmei simulînd viteze normale sau ușor crescute.

În astfel de împrejurări stativul cu tubul de VSH trebuie menținut la termostat de 37° care prin împiedicarea crioprecipitării dă valorile reale în astfel de cazuri.

— Determinarea trebuie să se facă imediat după recoltarea singelui, orice întîrziere poate să scadă VSH-ul.

— Trebuie să se respecte proporția între anticoagulant și sînge.

— Anemia crește VSH; policitemia scade VSH.

Se recomandă uneori ca VSH-ul să se corecteze în funcție de hematocrit sau numărul de eritrocite. Aceste curbe sînt însă imprecise și dau erori mari, iar VSH-ul fiind de mică importanță pentru un bolnav anemic, corectarea VSH-ului în funcție de anemie este fără valoare.

METODE DE COLORARE ȘI REACȚII CITOCHIMICE DE EXPLORARE A SĂRII ERITROCITARE

Cercetarea reticulocitelor.

Principiu. Reticulocitele (fig. 40) se pun în evidență prin colorații vitale, în care sîngele scos din organism, fără să fie fixat se pune în contact cu colorantul.

IOANA BRUDAȘĂ

ANCA CRISTEA

GHID DE LABORATOR

**EDITURA MEDICALĂ UNIVERSITARĂ
"IULIU HAȘIEGANU"
CLUJ-NAPOCA, 2005**

Examinările hematologice se pot efectua în prezent prin metode automatizate, pe analizoare care determină practic toți parametrii de interes. Aparatura existentă este variată, astfel încât valorile de referință ale parametrilor hematologici pot să difere de la un laborator la altul, iar medicul practician trebuie să interpreteze datele obținute prin raportarea lor la valorile de referință ale laboratorului în care s-au efectuat testele. În multe situații se impune ca determinările efectuate automatizat să fie completate cu examinarea microscopică de către medicul de laborator a froturilor sanguine în unele cazuri comenzi patologice necesită consult hematologic și examinări specifice: puncție medulară, biopsie de creastă iliacă, colorații speciale, analiză citogenetică, imunofenotipare. Aceste investigații se efectuează în laboratoare specializate și depășesc cadrul acestui ghid.

HEMOLEUCOGRAMA

HEMOGLOBINA

Semnificația testului

Hemoglobina este o proteină conținută în eritrocite care servește la transportul oxigenului și al dioxidului de carbon. Intervine ca sistem tampon în menținerea echilibrului acidobazic.

Testul se utilizează pentru evaluarea anemiei și policitemiei și monitorizarea răspunsului la terapie; pentru calcularea indicilor eritrocitari care servesc la caracterizarea anemiilor.

Valori normale

Nou născuți până la o săptămână:	17 - 22 g/dl
Nou născuți între 7 - 30 zile:	15 - 20 g/dl
Nou născuți în vârstă de 1 lună:	11 - 15 g/dl
Copii:	11 - 13 g/dl

82

Rezi:

Vârșnici (bărbați):
(femei):

12,4 - 14,9 g/dl
11,7 - 13,8 g/dl

Interpretarea rezultatelor

Valori scăzute

- hemodiluție
- hemoragii recente
- anemii de diverse etiologii

Valori crescute

- hemoconcentrație (deshidratare)
- poliglobulie - primară: sindrom mieloproliferativ cronic secundară: BPCO, insuficiență cardiacă congestivă, tumori renale

Factori care interferează

- recoltarea incorectă: nerespectarea proporției între sânge și anticoagulant, neomogenizarea amestecului sânge - anticoagulant, hemoliza probei, menținerea prelungită a garoului (determină hemoconcentrație)
- gentamicina și metil dopa pot determina nivele crescute de hemoglobină

Observații

Persoanele care trăiesc la altitudine au valori crescute ale hemoglobinei.
În sarcină cantitatea de hemoglobină este mai scăzută.

Alte investigații privitoare la hemoglobină

Aceste determinări nu se efectuează de rutină și nici nu sunt accesibile oricărui laborator; ele se indică pentru caracterizarea unor hemoglobinopatii sau în expunerea la diferite toxice și reprezentarea apanajului unor laboratoare specializate.

- Determinarea hemoglobinei fetale (Hb F)
- Determinarea hemoglobinei S
- Determinarea hemoglobinei Bart
- Determinarea methemoglobinei, sulfhemoglobinei, carboxihemoglobinei

83

HEMATOCRIT (Hc)

Semnificația testului

Hematocritul reprezintă volumul (exprimat în procente) ocupat de hematii după centrifugarea probei de sânge.

Hematocritul depinde în principal de numărul hematiilor, dar și de dimensiunile acestora. Anumite situații în care hematiile își măresc volumul (concentrații sangvine ridicate de glucoză sau sodiu) pot determina creșterea hematocritului.

Testul se utilizează pentru investigarea anemiilor și poliglobuliilor; servește la calcularea indicilor eritrocitari. Hematocritul este folosit și pentru evaluarea stării de hidratare și conducerea tratamentului de substituție volemică.

Valori normale

Bărbați:	41 - 51%
Femei:	37 - 47%
Nou născut:	50 - 62%

Interpretarea rezultatelor

Valori scăzute

- hemodiluție
- anemie

Valori crescute

- hemoconcentrație (deshidratare)
- poliglobulie

Factori care interferă

- menținerea prelungită a garoului determină hemoconcentrație
- recoltarea din brațul în care s-a administrat perfuzia modifică rezultatul prin hemodiluție
- nerespectarea proporției între sânge și anticoagulant și hemoliza probei modifică rezultatul

Observații

Persoanele care trăiesc la altitudine au valori crescute ale hematocritului.

În sarcină valoarea hematocritului este scăzută.

În caz de anemii microcitare sau macrocitare, hematocritul nu evoluează în paralel cu numărul de hematii.

MEDIE DE

...ă din hematii
hematiilor). La
tât concentrația

o unitate de
mică decât
terial stromal

ice

RED CELL

surătoare

e de volum
gradului de
onitorizarea

Interpretarea rezultatelor

Modificări ale coeficientului de variație (CV) apar în:

- anemia Biermer (CV = 12,9%)
- anemia postehmoragică (CV = 9,9%)

RDW este util în diferențierea anemiilor cronice simple (cu VEM scăzut sau normal și RDW normal) de anemiile feriprive incipiente (cu VEM scăzut sau normal și RDW crescut).

RDW poate fi util la diferențierea formelor heterozigote de talasemie necomplicată (cu VEM scăzut și RDW normal) de deficitul de fier (cu VEM scăzut și RDW crescut).

RETICULOCITE

Semnificația testului

Reticulocitele sunt hematii tinere, imature, care prezintă în citoplasmă un reticul care se colorează specific în albastru pe frotiul periferic, permițând diferențierea acestor celule față de hematiile mature.

Testul este utilizat pentru diferențierea anemiilor regenerative față de cele neregenerative, pentru a evalua răspunsul măduvei la anemie și eficacitatea terapiei în anemii; pentru a stabili efectul substanțelor radioactive sau al radiațiilor la persoanele expuse.

Valori normale

3 - 18 %

Numărul de reticulocite este crescut la gravide și la nou născuți.

$$\text{Număr absolut de reticulocite} = \frac{\text{nr. reticulocite \%} \times \text{nr. hematii}}{100}$$

- valori normale 25 000 - 75 000 / mm³.

$$\text{Indice reticulocitar} = \frac{\text{nr. reticulocite \%} \times \text{hematocrit}}{\text{hematocrit normal (40 - 42)}}$$

- valori normale 1,5 - 2

$$\text{Indice de producție} = \frac{\text{indice reticulocitar}}{\text{timp de maturație}}$$

Ht	Timp de maturație
45	1
35	1,5
25	2
15	2,5

- Un indice de producție > 3 denotă hiperproducție

Interpretarea rezultatelor

Valori crescute

Indică un răspuns al măduvei la anemia cauzată de pierderi sau distrucții de hematii. Uneori descoperirea unei reticulocitoze poate duce la depistarea unor hemoragii cronice oculte sau a unei hemolize neidentificate până în momentul respectiv (alasemie, siclemie).

- anemii hemolitice
- post hemoragii (la 3 -4 zile)
- după tratamentul eficient al anemiilor (test terapeutic)

Valori scăzute

Indică o producție medulară inefficientă.

- anemie aplastică
- anemie Biermer
- sindrom mielodisplazic
- invadare medulară (tumori, metastaze)
- iradiere

Factori care interferă

- menținerea prelungită a garoului determină hemoconcentrație care duce la creșterea numărului de reticulocite
- recoltarea din brațul în care s-a administrat perfuzie duce la hemodiluție, cu scăderea numărului de reticulocite
- nerespectarea proporției între sânge și anticoagulant și hemoliza probei modifică rezultatele

Obse

furni
(baza

eluc
dist
dier
de
cre
me

LJ

S

C

1

pretențioase: acestea sunt în majoritatea lor teste funcționale, reactivii folosiți sunt în general reactivi biologici (tromboplastină, plasmă deficitară în diferiți factori ai coagulării, etc). Din aceste considerente este extrem de importantă respectarea strictă a protocoalelor de recoltare, conservare și transport a probelor.

HEMOSTAZA PRIMARĂ

HEMOSTAZA PRIMARĂ

Semnificația testului

Este un test practicat in vivo care explorează hemostaza primară. Testul depinde de calitatea peretelui vascular, de numărul și funcția plăcuțelor sangvine, de factorul von Willebrand și de fibrinogen.

Testul este utilizat în rutină în cadrul bilanțului general al hemostazei și pentru explorarea sindroamelor hemoragice.

Valori normale
Metoda Duke (din lobul urechii): 2 - 4 minute
Metoda Ivy (incizie pe fața anterioară a antebrațului): 8 - 10 minute

Interpretarea rezultatelor

Prelungirea TS apare în:

- trombocitopenii
- boala von Willebrand
- trombocitopatii - dobândite:
 - medicamentoase
 - în diverse stări patologice (insuficiență renală, hepatică, anemii severe)

- congenitale (sindrom Bernard Soulier, trombastenia Glanzmann, anomalii de secreție)

CID

Factori care interferează

- dezinfectarea locului inciziei cu alcool
- aspirina și alte AINS, sulfonamidele, diureticele tiazidice, citostaticele, dextranul, consumul de alcool determină prelungirea TS

Observații

În caz de TS prelungit se recomandă:

- confirmarea prin repetarea testului
- număratoarea plăcuțelor. Până la 80 000 plăcuțe/mm³ TS poate fi normal. În caz de trombocitopenie prelungirea TS este nespecifică

- verificarea valorii Hb (la valori ale Hb sub 10g/dl, TS poate fi prelungit)

- verificarea absenței insuficienței renale sau a altei patologii
- anamneză privind consumul de medicamente (aspirină, ticlopidin)
- studiul funcției plachetare (agregare la ristocetină, collagen, ADP, acid arahidonic, adrenalină)

NUMĂRĂTOAREA TROMBOCITELOR

Semnificația testului

Trombocitele (plăcuțele sangvine) intervin în hemostaza primară prin formarea dopului plachetar la locul lezunii vasculare și participă la amorțirea coagulării pe calea intrinsecă.

Număratoarea trombocitelor este utilizată pentru bilanțul de rutină al hemostazei, investigarea sindroamelor hemoragice și a trombofililor, supravegherea tratamentului prin chimio-radioterapie.

Valori normale

140 000 - 440 000/mm³

Variații fiziologice

valori scăzute în prima zi de viață la nou născuți

valori scăzute premenstrual

valori crescute după efort fizic intens sau
expunere la altitudine

Interpretarea rezultatelor

Valori scăzute (trombocitopenii)

- defecte de producere
 - trombocitopenie diminuată (iradiere medulară, toxice medulare, infecții, invadare medulară)
 - trombocitopenie deficitară (deficit de B12, acid folic, mielodisplazii)
 - anomalii de repartiție
 - hipersplenism

Valori crescute

- trombocitopenie reactivă
 - postsplenectomie
 - după intervenții chirurgicale
 - boli infecțioase
 - după hemoragii acute
 - anemie feriprivă
 - cancer
 - după tratament cu vitamina B12 sau acid folic în anemia Biermer

Valori crescute

- trombocitemii
 - sindrom mieloproliferativ cronic (trombocitemia esențială, policitemia vera, leucemia granulocitară cronică, metaplazia mieloidă-ea-mielofibroză)

Factori care interferă

Numărul de trombocite poate fi scăzut în chimioterapie, tratament cu cloramfenicol, penicilină, streptomycină, carbamazepină, metildopa, antidepresive triciclice, fenilbutazonă, indometacin, salicilați, diuretice tiazidice, sulfonamide, heparină.

102

Observații

Număratoarea trombocitelor se efectuează din sângele recoltat pentru hemoleucogramă (pe EDTA).

În unele cazuri trombocitele se distrug în sângele recoltat pe EDTA; în aceste situații, numărarea lor trebuie repetată în camera de numărare din sânge recoltat din pulpa degetului; de asemenea se urmărește prezența trombocitelor pe frotul sangvin colorat May Grünwald Giemsa.

ASPECȚIA PLACHETARĂ

Semnificația testului

Testul explorează capacitatea plăcuțelor de a agrega la tratarea cu diferiți stimuli (colagen, ADP, adrenalină, acid arahidonic, ristocetină). Principiul testului constă în urmărirea și înregistrarea creșterii transmisiei luminoase la trecerea unui fascicul de lumină printr-o suspensie de plăcuțe care au fost stimulate cu diferiți agoniști (cu cât agregarea este mai intensă, cu atât transmisia luminoasă este mai mare).

Testul este utilizat în completarea bilanțului uzual al hemostazei atunci când se suspectează o trombocitopenie (anomalie funcțională) a plăcuțelor, respectiv pentru diagnosticarea bolii von Willebrand.

Interpretarea rezultatelor

Curbele de agregare sunt interpretate în funcție de tipul și de concentrația stimulilor folosiți; ele trebuie integrate în contextul clinic al bolnavului.

Agregarea plachetară este diminuată în:

- boala von Willebrand
- sindromul Bernard Soulier
- trombastenia Glanzmann
- boala rezervorului de stocare
- sindroamele Wiscott - Aldrich, Chediak - Higashi, May - Hegglin
- afecțiuni mieloproliferative
- uremie
- prezența anticorpilor antiplachetari

103

NATALIA MITRICĂ-KONDI

**LABORATORUL
CLINIC**

B I O C H I M I E

EDITURA MEDICALĂ

CAPITOLUL VI

SINGELE
SUBSTANȚE ORGANICE

DOZAREA PROTEINELOR

Metodele colorimetrice de determinare a proteinelor în ser se bazează

pe proprietățile compușilor cu legături peptidice NH

de a reacționa cu ionul cupru în soluție alcalină, dând săruri complexe de culoare violetă.

Intensitatea culorii este proporțională cu concentrația proteinelor.

Metodele folosite sînt:

1. Metoda biuretului

Reactivul biuret:

- sulfat de cupru 1,5 g (dizolvat în 500 ml H₂O)
- tartrat dublu de sodiu și potasiu (sare Seignette) 6 g (dizolvat în 200 ml H₂O)
- hidroxid de sodiu 30 g (dizolvat în 300 ml H₂O)
- iodură de potasiu 1 g
- apă pînă la 1 000 ml

Modul de lucru: în 2 eprubete se pipetează:

	Probă	Martor
- probă (1-10 mg) proteină)	1 ml	-
- apă	-	1 ml
- reactiv biuret	4 ml	4 ml

Se agită și se lasă 30' la temperatura camerei. Se citesc extincțiile la $\lambda = 540-560\text{m}\mu$, cuva de 1 cm.

Calcul: Concentrația proteinei din probă se obține prin interpolarea extincțiilor citite într-o curbă etalon. Curbă este efectuată cu ajutorul a cinci diluții obținute dintr-o soluție stoc conform tabelului LXXXII. Soluția conține 10 mg proteină pură (albumină cristalizată) pe ml. Curbă de etalonare poate fi efectuată și cu ser uman.

Tabelul LXXXII

Concentrația albuminei în mg/ml	ml din soluția stoc	ml H ₂ O	Extincția
10	1	—	0,515
8	0,8	0,2	0,410
6	0,6	0,4	0,315
4	0,4	0,6	0,215
2	0,2	0,8	0,110
1	0,1	0,9	0,055

$$F = \frac{C}{E} = \frac{4}{0,215} = 18$$

Se recomandă păstrarea soluției stoc la minus 4°C deoarece cu timpul se denaturează.

Pe abscisă se trec cantitățile în mg ale soluțiilor diluate, iar pe ordonată extincțiile citite. Rezultanta este o dreaptă. În acest caz, calculul se poate simplifica înmulțind extincția cu factorul de pantă, care este raportul dintre concentrație și extincție.

Volumul final la care se diluează soluția colorată a etaloanelor trebuie să fie același ca la probă.

2. Metoda Weichselbaum

Reactivi

Reactiv Weichselbaum:

sare Seignette (tartrat dublu de potasiu și sodiu) 45 g dizolvate în 200 ml apă distilată

hidroxid de sodiu 30 g dizolvat în 200 ml apă

sulfat de cupru 15 g dizolvat în 200 ml apă

iodură de potasiu 5 g

Se completează cu apă până la 1 000 ml.

Modul de lucru: în două eprubete, proba și martorul, se pipetează:

	Probă	Martor
apă distilată	7,8 ml	8 ml
ser uman	0,2 ml	—
r. Weichselbaum	4 ml	4 ml

După 30' se citesc probele la spectrofotometru $\lambda = 550\text{m}\mu$, în cuva 1 cm

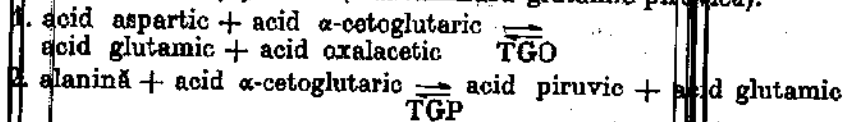
Calcul:

Concentrația proteică a probei de cercetat se obține fie prin interpolarea extincțiilor citite într-o curbă etalon, fie înmulțind extincțiile citite cu factorul.

DOZAREA TRANSAMINAZELOR

Transaminazele au capacitatea de a transfera în condiții standard gruparea aminică de la un aminoacid la un cetoacid cu formarea unui nou aminoacid și a unui alt cetoacid.

Sînt cunoscute două transaminaze cu valoare clinică TGO (transaminaza glutamic-oxal-acetică) și TGP (transaminaza glutamic-piruvică).



Transaminazele se pot determina prin metode colorimetrice și spectrofotometrice.

METODE COLORIMETRICE

Principiu: cetoacidul format reacționează cu 2-4 dinitrofenilhidrazina (DNPN) cu formarea unei dinitrofenilhidrazone care în mediul alcalin dă o colorație roșie, a cărei intensitate este proporțională cu activitatea enzimei.

1) Metoda Reetman și Frenkel

Reactivi:

1. — soluția tampon fosfat pH = 7,4:

fosfat disodic	15 g
fosfat monopotasic	1,099 g
apă distilată pînă la	500 ml
2. — soluție etalon acid piruvic 1 g% || piruvat de sodiu | 0,125 g |
| tampon fosfat | 100 ml |

Soluția se diluează 1/10 cu tampon în momentul trebuințării, ceea ce corespunde la 100 μg acid piruvic/ml.

3. — soluție substrat GOT pH = 7,4:

acid α-cetoglutamic	29,2 mg
acid DL aspartic	2,66 g
NaOH N pînă la	20 ml

Se completează cu soluție tampon pînă la 100 ml

4. — soluție substrat GPT pH = 7,4

acid α-cetoglutamic	29,2 mg
DL-alanină	1,78 g
tampon fosfat pînă la	100 ml
5. — soluție NaOH N
6. — soluție HCl N
7. — soluție 2-4-dinitrofenilhidrazină

2,4 dinitrofenilhidrazină	19,8 g
HCl 1 N	100 ml

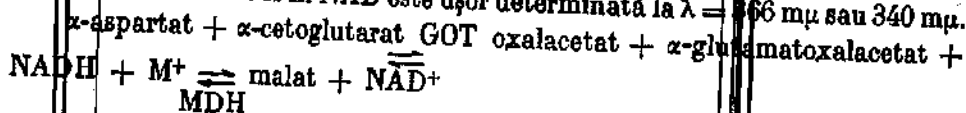
Se încălzește încet la 60°C pînă la dizolvarea completă.

8. — soluție NaOH 0,4 N

METODE SPECTROFOTOMETRICE

Metoda spectrofotometrică pentru determinarea activității enzimice a glutamat-oxal-acetat transaminazei (TGO)

Principiu: activitatea GOT este determinată prin viteza eliberării oxalacetatului din reacție. Oxalacetatul sub acțiunea enzimei malic dehidrogenaza (MDH) și în prezența NADH este transformat în malat și NAD^+ . Viteza de transformare a NADH în NAD este ușor determinată la $\lambda = 366 \text{ m}\mu$ sau $340 \text{ m}\mu$.



Reactivi: tampon aspartat pH 7,4
 tampon fosfat 0,1 M pH = 7,4
 α -aspartat 0,04 M
 — soluție NADH 0,012 M
 — soluție MDH 0,25 mg/ml
 — soluție α -cetoglutarat 0,25 M.

Modul de lucru: în cuva spectrofotometrului se pipetează:

— tampon aspartat	3,00 ml
— NADH 0,012 M	0,05 ml
— MDH	0,05 ml
— ser	0,2 ml

Se agită, se lasă 5' la 25°C.	
α -cetoglutarat	0,10 ml

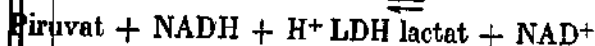
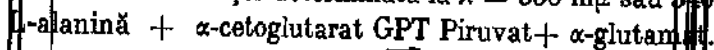
Se agită, se citește imediat extincția la $\lambda = 366 \text{ m}\mu$ sau $340 \text{ m}\mu$ la 30" și apoi la 3 minute față de apă.

Calcul:

(Extincția la $\lambda = 366 \text{ m}\mu$, 3 minute — extincția la $\lambda = 366 \text{ m}\mu$, 30 secunde) \times 2240 = mU/ml ser, sau (extincția la $\lambda = 340 \text{ m}\mu$, 3 minute — extincția la $\lambda = 340 \text{ m}\mu$, 30 secunde) \times 1185 = mU/ml.

Metoda spectrofotometrică pentru determinarea activității enzimice a glutamat-piruvat-transaminazei (TGP)

Principiu: activitatea GPT este definită prin viteza cu care se formează piruvatul. Acesta sub acțiunea enzimei lactic dehidrogenaze (LDH) și în prezența NADH este transformat în lactat și NAD^+ . Viteza de transformare a NADH în NAD este ușor determinată la $\lambda = 336 \text{ m}\mu$ sau $340 \text{ m}\mu$.



Reactivi: — tampon alanină
 tampon fosfat 0,1 M pH = 7,4 care conține DL alanină 0,08 M
 — soluție NADH 0,012 M
 — soluție LDH 0,25 mg/ml
 — soluție α -cetoglutarat 0,25 M

Modul de lucru: în cuva spectrofotometrului se pipetează:

- tampon alanină	3,00 ml
- soluție NADH	0,05 ml
- soluție LDH	0,05 ml
- ser	0,50 ml
<hr/>	
Se agită, se lasă 5' la 25°	
ceoglutinat	0,10 ml

Se agită. Se citește imediat extincția la $\lambda = 366 \text{ m}\mu$ sau $340 \text{ m}\mu$ la 30'' și 3 min. față de apă.

Calcul:

(Ext. la $366 \text{ m}\mu$ 3' — Ext. 30'' la $366 \text{ m}\mu$). 2240 = mU/ml ser

(Ext. la $340 \text{ m}\mu$ 3' — Ext. 30'' la $340 \text{ m}\mu$). 1185 = mU/ml ser

Valori normale:

GOT = 12 mU/ml ser

GPT = 10 mU/ml ser.

Raport normal: $\frac{\text{GOT}}{\text{GPT}}$ este de 1 pînă la 1,2.

Valori crescute pentru TGP se întâlnesc în special în hepatită virală acută și în necroza toxică a ficatului.

Hepatita anicterică are drept semn de diagnostic creșterea acestor enzime. În hepatita acută activitatea GPT este mai mare decît a GOT-ului, raportul $\frac{\text{GOT}}{\text{GPT}}$ fiind subunitar.

În boli hepatice cronice, în majoritatea cazurilor GOT crește moderat iar creșterea activității GPT este mică.

În icterul obstructiv creșterea activității transaminazelor este mică.

GOT crește activitatea în infarctul miocardic cu valori maxime în primele 24—48 ore și cu revenire la normal după 4—7 zile.

Creșterea activității GPT la cîteva zile după infarct indică o insuficiență cardiacă dreaptă.

Creșterea transaminazelor serice în cancerle hepatice este un test tot așa de sensibil ca și fosfataza serică, nefiind, spre deosebire de aceasta, influențat prin metastazele osoase.

Tumorile benigne nu sînt însoțite de creșteri apreciable, valori ridicate găsindu-se, în majoritatea cazurilor, la bolnavii cu malignizări.

Făcîndu-se o corelație între activitatea enzimatică TGO, bilirubină și timol într-un lot de bolnavi cu hepatită acută s-a ajuns la următoarea clasificare:

1. Boli asimptomatice, cu TGO, bilirubină și timol normale.
2. Boli asimptomatice, cu TGO crescut, bilirubină și timol normale.
3. Boli asimptomatice, cu TGO foarte crescut, bilirubină normală și timol normal.
4. Boli simptomatice cu TGO, bilirubină și timol anormale.
5. Boli simptomatice, cu hepatită icterică și teste modificate. Aceste date prezintă o mare importanță epidemiologică, întrucît indică posibilitatea decelării cazurilor importante, care pot fi o sursă de contaminare.

Din punct de vedere al activității transaminazei în ciroze se pot sistematiza următoarele aspecte:

1. Ciroză neevolutivă și compensată, cu teste hepatice anormale și TGO în limitele valorilor normale.
 2. Ciroză neevolutivă, dar decompensată, cu manifestări clinice (icter), teste hepatice modificate față de normal și TGO în limite normale.
 3. Ciroză evolutivă, dar compensată, cu alterare celulară, fără decompensare, teste hepatice modificate față de normal și TGO crescută.
 4. Ciroză evolutivă și decompensată, cu retenție de lichid, hiperbilirubinemie, teste hepatice profund alterate și TGO mult crescută.
- Diagnosticul diferențial dintre viroza biliară primară și secundară, pe baza activității TGO, este ne semnificativă.

DETERMINAREA ACTIVITĂȚII FOSFATAZELOR

Fosfatazele sînt enzime care catalizează hidroliza unor esteri organici ai acidului fosforic. În laboratorul clinic se determină fosfataza alcalină care prezintă activitate maximă la pH = 8,5-10 și fosfataza acidă care prezintă activitate maximă la pH 4,5-5.

DOZAREA ACTIVITĂȚII FOSFATAZEI ALCALINE

1. Metoda Bodansky

Principiu: se dozează fosforul anorganic eliberat de enzimă din β -glicerofosfat de sodiu, la pH 8,6.

Reactivi:

- 1) Soluția stoc β -glicerofosfat

— glicerofosfat de sodiu	1 g
— dietil-barbiturat de sodiu	0,8 g
— apă	100 ml

Se agită, se încălzește pînă la dizolvare, se răcește.

- 2) Soluție substrat tampon pH = 8,6:

soluție stoc β -glicerofosfat	50 ml
NaOH N/10	100 ml

- 3) Soluție acid tricloracetic 10%

- 4) Soluție acid molibdic

a) molibdat de amoniu	25 g
apă	300 ml
b) acid sulfuric concentrat	75 ml
apă	125 ml

Se amestecă soluția a și b și se completează la 500 ml cu apă distilată.

- 5) Soluția acid ascorbic 1% în HCl 0,1 N

- 6) Soluția stoc fosfat acid de potasiu

KH_2PO_4	0,43949 g
apă	1 000 ml

Din soluția stoc se iau 25 ml și se completează la 200 ml apă distilată.

2 ml din această soluție corespund la 0,025 mg fosfor.

DOZAREA COLESTEROLULUI

1. Metoda Lieberman-Burchard

Principiul: Colesterolul formează cu acidul sulfuric și anhidrida acetică compuși colorați (Reacția Lieberman).

Reactivi:

- anhidrida acetică 305 ml
- acid acetic glacial 195 ml
- După răcire la apă se adaugă
- acidul sulfosalicilic 5,5 g
- Acid sulfuric $d = 1,84$
- Standard - 250 mg colesterol în 100 ml acid acetic glacial.

Modul de lucru: în 3 eprubete se pipetează:

	P	S	B
ser	0,1 ml	—	—
standard	—	0,1 ml	—
reactiv Lieberman	2,5 ml	2,5 ml	2,6 ml
5' la temperatura camerei			
acid sulfuric	0,5 ml	0,5 ml	0,5 ml
10' la temperatura camerei.			

Citire față de blanc la $\lambda = 625 \text{ m}\mu$, cuva 1 cm.

Calcul: mg colesterol/100 ml ser = $\frac{EP}{ES} \times 250$.

2. Metoda P.F. Ferro și A.B. Hanu (modificată de Haung)

Principiul: se bazează tot pe reacția Lieberman.

Reactivi:

- 1) acid acetic glacial 30 ml
- anhidridă acetică 60 ml
- acid sulfuric concentrat 10 ml
- sulfat de sodiu anhidru 2 g
- 2) soluție colesterol (standard)
- colesterol 0,2 g
- acid acetic glacial 100 ml

Modul de lucru: în 3 eprubete se pipetează:

	Probă	Standard	Factor
reactiv	2,5 ml	2,5 ml	—
ser	0,1 ml	—	—
Standard colesterol	—	0,1 ml	—
apă distilată	—	—	—

Se agită și se lasă în repaus 20' la temperatura camerei iar citirea se face la $\lambda 550-550 \text{ m}\mu$, cuvă 1 cm.

Calcul: g colesterol la 1 000 ml ser $\frac{EP}{E_s} \times 2$

3. Metoda Raport modificată

Principiu: se bazează pe reacția Lieberman

Reactivul folosit conține:

acid acetic	30 ml
anhidridă acetică	60 ml
acid sulfuric.....	10 ml
sulfat de sodiu	2 g

Reactivul se păstrează la frigider.

Soluția de colesterol:

— colesterol	0,25 g
— cloroform	100

Observație: reactivul se concentrează în timp.

Modul de lucru:

Modul de lucru	Probă	Martor	Standard
reactiv	2,5 ml	2,6 ml	2,5 ml
ser	0,1 ml	—	—
apă distilată	—	0,1 ml	—
standard	—	—	0,1 ml

Se agită și se lasă 20' la temperatura camerei.

Citire la λ 570 m μ , cuva 1 cm.

Calcul: g colesterol %₀₀ ml ser = $E_p \times F = E_p \times 12$

E_p = extincția probei

F = factor = 12, obținut dintr-o curbă realizată cu 5 diluții succesive ale soluției standard de colesterol.

Sau se calculează aplicând formula:

$$g \text{ colesterol } \%_{00} \text{ ml ser} = \frac{E_p}{E_s} \times C_s$$

E_p = extincția probei

E_s = extincția standardului

C_s = concentrația standardului.

4. Metoda turbidimetrică

Principiu: colesterolul total din ser poate fi determinat prin măsurarea turbidității provocată în urma adăugării alcoolatului de sodiu la ser:

Reactivi:

— soluție alcoolat de sodiu

alcool absolut	45 ml
NaCl 30%	1 ml
apă distilată	35 ml

— soluție NaCl 9 g%₀₀

— soluție etalon

colesterol	0,3 g
alcool etilic	100 ml

Modul de lucru: în două eprubete se pipetează

	Probă	Martor probă	Etalon	Martor etalon
ser fiziologic	1 ml	6 ml	1 ml	6 ml
ser	0,2 ml	0,2 ml	—	—
etalon colesterol	—	—	0,2 ml	0,2 ml
alcoolat de sodiu	5 ml	—	5 ml	—

Se agită și se lasă în repaus la temperatura laboratorului 10'.
Citirile se fac la $\lambda = 550 \text{ m}\mu$ a probei față de martor-probă și a etalonului față de martor-etalon.

$$\text{Calcul: } g \text{ colesterol } \% \text{ ml ser} = \frac{E_p}{E_e} \times 0,3$$

DOZAREA COLESTEROLULUI TOTAL, LIBER ȘI ESTERIFICAT

Metoda Assous, E.F. și Girard M.L.

Principiu: colesterolul în mediu acid reacționează cu soluția sulfurică de clorură ferică, dînd o culoare roșie-violetă.

Reactivi:

— Acid acetic glacial purificat.

Pentru purificare acidul acetic glacial este ținut 24 ore în contact cu acidul cromic. Proporție: 20 g acid cromic și 100 ml acid acetic glacial, apoi se distilă eliminîndu-se prima și ultima fracțiune.

— Soluție clorură ferică 1% în acid acetic purificat

— amestec acid acetic purificat cu acid sulfuric concentrat volum la volum.

— Etalon colesterol:

colesterol 0,3 g
acid acetic glacial purificat 100 ml

Modul de lucru: pentru colesterolul total se pipetează în 4 eprubete.

	Probă	Martor-probă	Etalon	Martor-etalon
ser	0,05 ml	0,05 ml	—	—
Etalon	—	—	0,1 ml	0,1 ml
Apă bidistilată	0,05 ml	0,05 ml	—	—
Acid acetic concentrat	2,7 ml	2,9 ml	2,7 ml	2,9 ml
Soluție FeCl ₃	0,2 ml	—	0,2 ml	—
H ₂ SO ₄ concentrat	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml

Eprubetele sînt lăsate să se răcească. Citirea extincțiilor se face la 30' la $\lambda = 560-580 \text{ m}\mu$, cuva de 1 cm.

Pentru colesterolul liber se pipetează în 4 eprubete

	Probă	Martor-probă	Etalon	Martor-etalon
ser	0,1 ml	0,1 ml	—	—
etalon	—	—	0,1 ml	0,1 ml
acid acetic concentrat	0,7 ml	0,9 ml	0,7 ml	0,9 ml
soluție FeCl ₃	0,2 ml	—	0,2 ml	—
amestec acid acetic și acid sulfuric	4 ml	4 ml	4 ml	4 ml

Se agită și se lasă la 20° în baie timp de 10 minute.

Se agită și se lasă în repaus 30' la temperatura laboratorului. Citirea extincțiilor se face identic ca la determinarea colesterolului total.

$$\text{Calcul: } g \text{ colesterol } \% \text{ ml ser} = \frac{E_p}{E_s} \times 3$$

colesterol esterificat = colesterol total - colesterol liber.

Valorile normale sînt aceleași la toate metodele cu foarte mici deosebiri. Cazul metodei turbidimetrice care prezintă valori mai mici (160 ± 20 mg% ml ser).

$$\begin{aligned} \text{mg colesterol total } \% \text{ ser} &= 260 \pm 40 \\ \text{mg colesterol liber } \% \text{ ml ser} &= 70 \pm 20 \\ \text{mg colesterol esterificat } \% \text{ ml ser} &= 150 \pm 30 \end{aligned}$$

$$\frac{\text{Colesterol liber}}{\text{Colesterol total}} = 0,32 \pm 0,05$$

$$\frac{\text{Colesterol esterificat}}{\text{Colesterol total}} = 0,85 \pm 0,05$$

Colesterolul esterificat reprezintă 50-80% din colesterolul total.

Valoarea colesterolului seric la naștere este scăzută, crește în câteva zile și variază în funcție de vîrstă, sex, rasă, alimentație, echilibru neuro-endocrin, profesie.

Valori crescute ale colesterolului seric se întîlnesc în modificări ale metabolismului lipidic ca: ateroscleroză, hiperlipemie esențială, obezitate, diabet, în sindroame nefrotice, în perioada menstruală și graviditate.

Valori scăzute survin în distrofia galbenă a ficatului în afecțiuni ale suprarenalelor, în unele decompensări cardiace, în diferite forme de anemie, inanție și ciroză.

DETERMINAREA COLESTEROLULUI DIN FRAȚIUNEA BETA-LIPOPROTEICĂ

1. Metoda cu heparină

Principiu: colesterolul din fracțiunea β -lipoproteică serică este precipitat selectiv de heparina în prezența cationilor bivalenți.

Reactivi: Clorură de calciu 0,1 M
 clorură de calciu anhidră 11,1 g
 apă distilată 1 000 ml
 Clorură de calciu 0,025 M
 Extemporaneu se diluează 1 volum din sol. 0,1 M cu 3 volume apă distilată.
 Soluție heparină 1%

Modul de lucru: în eprubetă de centrifugă se pipetează:

clorură de calciu 0,025	10 ml
ser	1 ml
heparină	0,2 ml

Se agită și se centrifughează sau se lasă pînă a doua zi. Se decantează supernatantul, iar precipitatul e redizolvat în 2 ml ser fiziologic, care sînt folosiți pentru determinarea colesterolului aplicînd metodele cunoscute.

2. Metoda Kunkel 12-6

Principiu: β -lipoproteinele sînt precipitate de clorura de sodiu în prezența fenolului.

La 10 ml filtrat se adaugă 5 ml acid clorhidric N și se închide și se lasă
 20 minute la 130° în autoclav. După răcire se adaugă
 hidroxid de sodiu N 5 ml
 apă pînă la 20 ml

Se iau 10 ml pe care se dozează apoi creatinina după tehnica descrisă.
 Calcul: se ține seama de diluție.

Din cifra găsită la dozare (care reprezintă suma creatină + creatinină) se scade valoarea creatininei dozată anterior fără dezaeraminizare, iar diferența este înmulțită cu 1,16, obținându-se astfel creatinina.

Valori normale: creatină = 0,6—2 mg/100 ml
 creatină + creatinină = 3—4 mg/100 ml

$$\text{Indicele creatininei} = \frac{\text{creatină}}{\text{creatină} + \text{creatinină}} = 0,5$$

Observații: Concentrația creatininei nu este influențată de regimul alimentar sau de efort fizic. Concentrația crescută a creatininei totale se găsește în afecțiuni renale, în gută și în unele afecțiuni hepatice în bolile caracterizate printr-o distrugere intensă a proteinelor.

DOZAREA GLUCOZEI

În studiul metabolismului glucidic metodele de dozare cantitativă a glucozei au un rol determinant.

Descriem metoda de orientare Crecelius și metodele cantitative: titrimetrică (Hagedorn-Jensen) și pe cele colorimetrice (cu ortotolidină și antronă).

Metoda Hagedorn-Jensen este cea mai veche și cu toate inconvenientele pe care le prezintă prin etapele de lucru numeroase este și astăzi foarte mult aplicată în laboratorul clinic datorită rezultatelor reproductibile pe care le prezintă. Totuși, se observă înlocuirea acestei metode de către metode colorimetrice care sînt simple și se aplică direct pe ser.

Variațiile glicemiei se pot manifesta prin:

- hipoglicemii și
- hiperglicemii.

1. Metoda orientativă (Crecelius)

Principiu: substanțele reducătoare dau cu acidul picric în mediu alcalin, acidul picramic care este de culoare roșu-cărămiziu.

Reactivi: — Soluție saturată de acid picric 1,2%
 — Hidroxid de sodiu 20%

Modul de lucru: în 2 eprubete se pipetează:

	Probă	Martor
apă distilată	1,8 ml	2 ml
sînge total	0,2 ml	—
acid picric	1 ml	1 ml

Agitare, repaus, filtrare

supernatant	1 ml	1 ml
NaOH 20%	0,1 ml	0,1 ml

5' fierbere, răcire

Citirea se face la aparatul Grecolius.

Valori normale 90—140 mg%.

2. Metoda Hagedorn-Jensen

Principiu: glucoza din sînge în mediu alcalin la fierbere reduce fericianura de K în ferocianură, care în prezența sulfatului de zinc precipită sub formă de sare dublă de zinc și potasiu. Excesul de fericianură se titrează iodometric.

Reactivi:

- 1 — NaOH N/10
- 2 — Soluție stoc sulfat de zinc45 g%
— se diluează 1/100 în momentul întrebunțării.
- 3 — Soluție fericianură K N/200
fericianură de potasiu1,65 g
carbonat de sodiu anhidru10,6 g
apă distilată1000 ml
- 4 — Soluție sulfat de zinc — clorură de sodiu
sulfat de zinc 50 g
NaCl 250 g
apă distilată1000 ml
- 5 — Soluție iodură de potasiu — sulfat de zinc — clorură de sodiu
— în momentul întrebunțării se amestecă:
2,5 g KI în 100 ml sulfat de zinc — clorură Na
- 6 — Acid acetic 3%
- 7 — Soluție amidon 1%
- 8 — Soluție tiosulfat de sodiu N/200 — (se prepară în momentul întrebunțării)

Modul de lucru:

— *Deproteinizare:* în 2 eprubete se pipetează:

	Probă	Martor
soluție NaOH N/10	1 ml	1 ml
soluție sulfat Zn 0,45%	5 ml	5 ml
sînge	0,1 ml	—
apă distilată	—	0,1 ml.

Cu ajutorul unui stativ metalic, eprubetele se fierb 3 minute pe baie de apă. Se filtrează cantitativ conținutul fiecărei eprubete în eprubete Hagedorn (20/20) prevăzute cu plinii de sticlă în care se găsesc filtre de hîrtie, spălate în prealabil de câteva ori cu apă distilată fierbinte pentru îndepărtarea substanțelor reducătoare existente. După deproteinizare, filtratului obținut i se adaugă:

	Probă	Martor
Fericianură de potasiu	2 ml	2 ml
Se fierbe pe baie de apă 15 minute. Se răcește la curent de apă. reactiv iodură de potasiu		
sulfat de zinc	3 ml	3 ml
NaCl		
acid acetic 3%	2 ml	2 ml
soluție amidon 1%	4 picături	4 picături

Titrarea se efectuează cu tiosulfat de sodiu N/200 pînă la dispariția culorii albastre.

Calcul

Se caută în tabelul LXXXV cantitatea de glucoză corespunzătoare mililitrilor de tiosulfat N/200 întrebuințați la titrarea matorului și a probei. Diferența obținută exprimă cantitatea de glucoză la 100 ml sînge de cercetat.

Tabelul LXXXV

Tabel pentru microdazări glucoză (flage-lorn-Jensen (ml tiosulfat N:200 = mg glucoză‰))

ml tiosulfat N/200	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0,0	385	382	379	376	373	370	367	364	361	358
0,1	355	352	350	348	345	343	341	338	336	335
0,2	331	329	327	325	323	321	318	316	314	312
0,3	310	308	306	304	302	300	298	296	294	292
0,4	290	288	286	284	282	280	278	276	274	272
0,5	270	268	266	264	262	260	259	257	255	253
0,6	251	249	247	245	243	241	240	238	239	234
0,7	232	230	228	226	224	222	221	219	217	215
0,8	213	211	209	208	206	204	202	200	199	197
0,9	195	193	191	190	188	186	184	182	181	179
1,0	177	175	173	172	170	168	166	164	163	161
1,1	159	157	155	154	152	150	148	146	145	143
1,2	141	139	138	136	134	132	131	129	127	125
1,3	124	122	120	119	117	115	113	111	110	108
1,4	106	104	102	101	99	97	95	93	92	90
1,5	088	086	084	083	081	079	077	075	074	072
1,6	070	068	066	065	063	061	059	057	056	054
1,7	052	050	048	047	045	043	041	039	038	036
1,8	034	032	031	029	027	026	024	022	020	019
1,9	017	015	014	012	010	008	007	005	003	002

Exemplu:

mator alb = 1,85 ml tiosulfat de sodiu N/200 (0,005 N)

probă = 1,26 ml tiosulfat de sodiu 0,005 N

mg glucoză % ml sînge = 131 - 26 = 105.

Valori normale: mg glucoză % ml sînge = 70 - 120.

3. Metoda cu orto-toluidină (reactiv cromogen)

Principiu: Grupările aldo și ceto ale hexozelor dau cu aminele aromatice compuși colorați. Pentru glucozamină cea mai indicată este orto-toluidina.

Reactivi:

— acid tricloracetic soluție 10%

— reactiv orto-toluidină

orto-toluidină60 ml

acid acetic 50% pînă la1000 ml

tiouree1,5 g

atunci cînd reactivul este foarte intens colorat orto-toluidina trebuie redistilată.

— Standard glucoză 1‰

glucoza100 mg

soluție saturată de acid benzoic100 ml

Modul de lucru: in trei eprubete se pipetează:

	Probă	Standard	Blanc
singe (ser, plasmă, LCR)	0,2 ml	—	—
acid tricloracetic 10%	2 ml	0,2 ml 2 ml	— 0,5 ml
Se amestecă și după 5 minute se centrifughează			
supernatant singe	0,5 ml	—	—
supernatant standard orto-toluidină	1,5 ml	0,5 ml 1,5 ml	— 1,5 ml

Se amestecă și se ține 20 minute la fierbere în baie. Se răcește cu gheață și apoi se citește extincția probelor EP și a standardului ES față de blanc la $\lambda = 660 \text{ m}\mu$, cuva de 1 cm.

$$\text{Calcul: } \text{mg glucoză}/100 \text{ ml sînge} = \text{EP}/\text{ES} \times 100$$

Metoda se poate aplica și fără deproteinizare atunci cînd serul sau plasma sînt clare și lipsite de orice fel de hemoliză.

	Probă	Standard	Blanc
ser	0,1 ml	—	—
apă distilată	—	—	0,1 ml
standard orto-toluidină	3,0 ml	0,1 ml 3,0 ml	— 3,0 ml

Se fierbe 10 minute, se răcește cu gheață. Citirea la $\lambda = 660 \text{ m}\mu$, cuva 1 cm față de maritor.

4. Metoda cu antronă

Principiu: glucoza dă cu antrona un complex colorat a cărui intensitate de culoare e proporțională cu concentrația de glucoză.

Reactivi:

- Acid tricloracetic 10%
- Reactiv antrona-tiouree în acid sulfuric 66%
- Acid sulfuric 66% — În balon de 1000 ml se pun:
apă distilată..... 340 ml
acid sulfuric concentrat 600 ml

În alt balon cotat de 1000 ml se pipetează:
acid sulfuric 66% 300 ml și se adaugă
antrona..... 500 ml
tiouree 10 g

Amestecul se încălzește la 80° pentru dizolvare. Se aduce apoi la semn cu acid sulfuric 66%.

— Soluție etalon de glucoză 2‰.

Modul de lucru: în 2 eprubete se pipetează:

	Probă	Maritor
singe	1 ml	—
acid tricloracetic 10%	9 ml	—
Filtrare		
filtrat	1 ml	—
apă	—	1 ml
reactiv antronă	10 ml	10 ml

Proba și martorul se fierb 15 minute la întuneric. Citirea se face la $\lambda = 620 \text{ m}\mu$, apoi se răcesc la întuneric. Citirea se face la $\lambda = 620 \text{ m}\mu$, cuva de 1 cm.
Extincțiile citite sînt interpolate în curba de etalonare făcută din cel puțin 3 diluții ale soluției stoc de glucoză. Diluțiile conțin între 1,80—0,60 g glucoză %.

Din aceste diluții se ia 1 ml și se tratează cu reactivul antronă-tiourée ca și proba de analizat.
Valori normale pentru modelele colorimetrice:
mg glucoză % ml ser = 70—120.

Observații:

Intensitatea culorii produsă de glucoză și fructoză este aproximativ egală. Galactoză dă numai 54% din culoarea glucozei. Reacția cu pentoze este mult mai puțin sensibilă și are maximum de absorbție la 610 m μ . Acizii nucleici nu reacționează decât foarte slab și numai la concentrații mari. Acidul ascorbic dă o culoare roșie, triptofanul se colorează în roșu portocaliu, iar acidul glutamic și gelatina dau o culoare albastră. Acidul levulinic, acetatul, metilglicoxalul și polialcoolii nu interferă reacția. Prezența clorurii de sodiu dă extincții mai mari.

Reacția cu antronă este pozitivă, fără hidroliză prealabilă cu polizaharidele compuse din hexoze ca: glicogenul, celuloza, dextrane, dextranul, polizaharidele plantelor, polizaharidele pneumococului tip II și III etc.

Interpretări

Valori crescute se întîlnesc în infecții, intoxicații cu oxid de carbon, cămină, în tumori și accidente cerebrovasculare și în special în diabet. Tot o creștere se întîlnește și în tumorile glandelor suprarenale. Valori scăzute se întîlnesc după administrare de doze prea mari de insulină, sau în carcinomul insulelor Langerhans.

Proba hiperglicemiei provocate

Se face în cazurile suspecte de diabet, cu glucoză în serul sanguin de 1,20—1,30 g%.

Se recoltează sînge „a jeun” proba I, după care i se dă bolnavului să bea 100 g glucoză dizolvată într-un pahar cu apă.

Următoarele probe II, III, IV sînt recoltate la intervale de 30 minute (parte exact).

Se dozează glucoza în toate probele. În mod normal proba II va avea valoarea cea mai mare, urmînd ca la probele III și IV valoarea să descrească, proba IV fiind aproximativ egală cu proba I.

În caz de diabet probele III și IV rămîn crescute (în platou) ca și proba II.

DOZAREA BILIRUBINEI

În ser există bilirubină insolubilă legată de proteine și bilirubină conjugată (glicuronat) solubilă. Prima poartă numele de bilirubină indirectă, cea de a doua—bilirubină directă.

Bilirubina conjugată formează cu acidul sulfanilic diazotat în mediu neutru, un compus colorat.

Bilirubina legată de proteine ca să formeze cu acidul sulfanilic diazotat același compus colorat trebuie ca în prealabil să fie tratată cu cafeină-benzoat.

Serurile cu concentrații mai mari de 18 mg% se vor repeta determinările după diluarea prealabilă a serului de cercetat, iar la calcul se va ține seama de diluția respectivă.

Valori fiziologice:

Femei: 4-6 mg %
Bărbați: 4-7 mg %

Valori crescute se găsesc în nefrite acute sau subacute, gută, leucemii, anemii pernicioase, tuberculoză renală, artrite deformante, eclampsii, decompensări cardiace și intoxicații cu plumb.

DOZAREA CREATININEI

Principiu: creatinina, anhidrida acidului metilguanidin acetic, reduce acidul picric în acidul picramic de culoare galben-portocaliu (reacția Jaffé).

În afară de creatinină, reacția Jaffé este pozitivată nespecific de acidul ascorbic, piruvatul, acetona, acidul diacetic, levuloza, glucoza, proteinele, paraamino-hipuratul etc.

Pentru a mări specificitatea metodei au fost încercate diferite procedee de eliminare a substanțelor enumerate, dar fără rezultate. Singurul criteriu de diferențiere rămânând viteza de apariție a culorii picratului alcalin de creatinină față de viteza apariției reacțiilor nespecifice.

1. Metoda de defecare

Reactivi: — Soluție saturată de acid picric:
acid picric 1,2 g
apă distilată 100 ml
— Sol. hidroxid de sodiu 10 %
— Sol. tungstat de sodiu 10 %
— Sol. acid sulfuric 2/3 N
— Sol. acid clorhidric 1 N
— Sol. etalon creatinină 1 g% ml apă.

În momentul întrebuițării se diluează soluția etalon după formula:

Soluție creatinină 1% 10 ml
Acid clorhidric 1 N 10 ml
Apă distilată până la 1000 ml

Concentrația acestei soluții este de 100 mg %.

Modul de lucru: în balon cotate de 25 ml se introduc:

ser 2,5 ml
tungstat de sodiu 2,5 ml
acid sulfuric 2/3 N 2,5 ml
apă distilată 17,5

Se agită și se filtrează.

În alte 2 baloane cotate de aceeași capacitate se introduc:

	Probă	Etalon
filtrat	10	—
etalon	—	1
acid picric	5	5
NaOH 10%	1	1
apă distilată	9	18

Se agită: după 5' se citește extincția probei și a etalonului față de apă distilată la $\lambda = 530 \text{ m}\mu$, cu cuvă de 1 cm.

Calcul: $\text{mg } \% \text{ creatinină în ser} = \frac{EP}{EE} \times 10$.

2. Metoda simplificată (standardizare)

Reactivi: soluție saturată de acid picric (soluția se face la cald)

- acid picric 1,2 g
- apă distilată 100 ml

Soluție stoc creatinină 5 mg%
 creatinină 5 mg
 apă 100 ml

Modul de lucru: în eprubete de centrifugă se pipetează:

	Probă	Martor
ser	4 ml	—
acid picric	12 ml	5 ml
centrifugare sau filtrare		
supernatant	5 ml	—
NaOH 10%	0,25 ml	0,25 ml

După 20' citire la $\lambda = 530 \text{ m}\mu$, cuvă 1 cm.

Valorile citite se interpolează într-o curbă obținută din diluțiile succesive ale soluției stoc sau se utilizează factorul de pantă (F).

$$F = \frac{C}{E}$$

C = concentrația substanței în mg a probelor etalon
 E = extincția probelor etalon.

Valori normale în ser 0,6—1,2 mg %.

DOZAREA CREATINEI ȘI CREATININEI

Principiul: Prin hidroliza cu acidul clorhidric creatina trece în creatinină care se dozează apoi după una din tehnicile cunoscute.

- Reactivi:** — wolfram de Na 10% în apă distilată
 — acid sulfuric 0,7N
 — acid clorhidric N
 — hidroxid de sodiu N

Reactivii necesari pentru dozarea creatininei sînt aceiași ca la celelalte metode.

Modul de lucru:

ser, plasmă	2 ml
apă distilată	14 ml
wolfram de sodiu 10%	2 ml
acid sulfuric 2/3 N	2 ml

Se agită bine și se filtrează

- Se păstrează la frigider
 — diacetilmonoximă 0,6 g în 10 ml acid acetic 5%
 — standard uree 50 mg % ml acid triloracetic 10%

Tehnică

Serul se diluează 1/10 în ser fiziologic (0,1 ml ser + 0,9 ml ser fiziologic)

	Probă	Standard	Blanc
Ser diluat	0,1	—	—
Standard	—	0,1	—
Apă distilată	—	—	0,1
Reactiv combinat	2,5	2,5	2,5
Diacetilmonoximă	0,5	0,5	0,5

Se fierbe 8 minute.

Se răbește, citire între 5 minute — 20 minute la spektr $\lambda = 525 \text{ m}\mu$.

Calcul:

Calcul mg uree/100 ml ser (plasmă—singe) = EP/ES $\times 50$

Valori normale 16—40 mg % ml ser.

3 a) Metoda cu urează

DOZARE UREE

Principiu: ureaza acționează specific asupra ureei, ducând la eliberare de amoniac care este apoi determinat cu reactivul Nessler.

Reactivi — Tampon acetat pH = 6,5

- acetat de sodiu anhidru 1,5 g
- acid acetic glacial 1 ml
- apă 100 ml
- Soluție standard de uree
 - uree 100 mg
 - apă 100 ml
- Soluție urează
 - urează 100 mg
 - tampon EDTA pînă la 50 ml
- tampon EDTA pH = 6,5
 - EDTA (sare sodică) 20 g
 - apă distilată 1,5 l
 - NaOH 1N oca 40 ml
 - apă pînă la 2000 ml
- Soluție de deproteinizare
 - Soluție ZnSO₄ 10 g %
 - Soluție NaOH 0,5 N

Reactiv Nessler

- iodură mercurică 50 g
- iodură de potasiu 25 g
- apă 350 ml
- hidroxid de sodiu 100 g

Se completează cu apa la 500 ml.

— Soluție clorură de sodiu 9%.

Modul de lucru: în eprubete se pipetează:

	Probă	Martor	Standard	Blanc
- Ser fiziologic	3 ml	3,5 ml	3 ml	3,5 ml
- Soluție tampon	0,5 ml	0,5 ml	0,5 ml	0,5 ml
- Ser	0,5 ml	0,5 ml	-	-
- Soluție ureează	0,5 ml	-	0,5 ml	0,5 ml
- Soluție standard	-	-	0,5 ml	-
Se menține sistemul 20' la 50-55° în baia de apă				
- Soluție ZnSO ₄	0,5 ml	0,5 ml	0,5 ml	0,5 ml
- Soluție NaOH	0,5 ml	0,5 ml	0,5 ml	0,5 ml
Omogenizare și centrifugare, se lucrează pe supernatant				
Apă distilată	11 ml	11 ml	11 ml	11 ml
Supernatant	0,5 ml	0,5 ml	0,5 ml	0,5 ml
Reactiv Nessler	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml

Reactivul Nessler se adaugă strict înaintea citirii. Citirea la $\lambda = 410$ cuva de 1 cm.

$$\text{Calcul: mg uree \% ml ser} = \frac{E_P - E_M}{E_S - E_B} \times 40$$

Se poate face și o curbă cu o soluție standard de uree.

Valori normale:

20 mg - 40 mg % ml ser.

3 b. Metoda Berthelot, vezi addendum.

4 a. Metoda cu hipobromit de sodiu (Kowarski) și vezi addendum.

Ureea [O = C-(NH₂)₂] este descompusă cu ajutorul unei soluții alcaline de hipobromit de sodiu în N₂, CO₂ și H₂O.

CO₂ este adsorbit de hidroxidul de sodiu care este în exces, iar volumul azotului degajat se măsoară volumetric.

Reactivi: 1. Soluție saturată de clorură de sodiu și sulfat de potasiu:

- | | |
|----------------------------|----------|
| 1 - sulfat de potasiu | 150 g |
| clorură de sodiu | 350 g |
| apă distilată | 1 000 ml |
| 2 - Hidroxid de sodiu 33% | |
| 3 - Brom | |
| 4 - Acid tricloracetic 20% | |

Aparatura. Dozarea se face în volumetrul Kowarski (fig. 33). Aparatul se compune dintr-un tub în formă de U, care este divizat în trei părți prin 3 robinete, cel de la partea superioară avînd 2 căi, iar cel inferior 3 căi. Sub robinetul superior, tubul subțire are o capacitate de 1 ml și este divizat în fracțiuni de 0,2 ml. Spre partea inferioară tubul se lărgște și este divizat în decimi de ml. Tubul

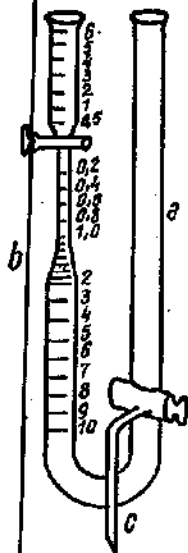


Fig. 33. -- Aparatul Kowarski.

a - braț de umplere; b - braț gradat pentru citirea rezultatelor; c - braț de scurgere.

Proba și martorul se fierb 15 minute la întuneric apoi se răcesc la întuneric. Citirea se face la $\lambda = 620 \text{ m}\mu$, cuva de 1 cm.

Extincțiile citite sînt interpolate în curba de etalonare făcută din cel puțin 3 diluții ale soluției stoc de glucoză. Diluțiile conțin între 1,80—0,60 g glucoză %₀₀. Din aceste diluții se ia 1 ml și se tratează cu reactivul antronă-tiouree ca și proba de analizat.

Valori normale pentru modelele colorimetrice:

mg glucoză % ml ser = 70—120.

Observații:

Intensitatea culorii produsă de glucoză și fructoză este aproximativ egală. Galactoză dă numai 54% din culoarea glucozei. Reacția cu pentoze este mult mai puțin sensibilă și are maximum de absorbție la 600 m μ . Acizii nucleici nu reacționează decât foarte slab și numai la concentrații mari. Acidul ascorbic dă o culoare roșie, triptofanul se colorează în roșu-portocaliu, iar acidul glutamic și gelatina dau o culoare albastră. Acidul levulinic, acetatul, metilglioaxalul și polialcoolii nu interferă reacția. Prezența clorurii de sodiu dă extincții mai mari.

Reacția cu antronă este pozitivă, fără hidroliză prealabilă cu polizaharidele compuse din hexoze ca: glicogenul, celuloza, dextrine, dextranul, polizaharidele plantelor, polizaharidele pneumococului tip II și III etc.

Interpretări

Valori crescute se întîlnesc în infecții, intoxicații cu oxid de carbon, cafeină, în tumori și accidente cerebrovasculare și în special în diabet.

Tot o creștere se întîlnește și în tumorile glandelor suprarenale.

Valori scăzute se întîlnesc după administrare de doze prea mari de insulină, sau în carcinomul insulelor Langerhans.

Proba hiperglicemiei provocate

Se face în cazurile suspecte de diabet, cu glucoza în serul sanguin de 1,20—1,30 g%₀₀.

Se recoltează sînge „a jeun” proba I, după care i se dă bolnavului să bea 100 g glucoză dizolvată într-un pahar cu apă.

Următoarele probe II, III, IV sînt recoltate la intervale de 30 minute (foarte exact).

Se dozează glucoza în toate probele. În mod normal proba II va avea valoarea cea mai mare, urmînd ca la probele III și IV valoarea să descrească, proba IV fiind aproximativ egală cu proba I.

În caz de diabet probele III și IV rămîn crescute (în platou) ca și proba II.

DOZAREA BILIRUBINEI

În ser există bilirubină insolubilă legată de proteine și bilirubină conjugată (glicuronat) solubilă. Prima poartă numele de bilirubină *indirectă*, cea de a doua—bilirubină *directă*.

Bilirubina conjugată formează cu acidul sulfanilic diazotat în mediu neutru, un compus colorat.

Bilirubina legată de proteine ca să formeze cu acidul sulfanilic diazotat același compus colorat trebuie ca în prealabil să fie tratată cu cofeină-benzoat.

Compusul colorat (azopigmentul) are o culoare roșie în mediul acid sau roșu și albastră în mediu alcalin.

Intensitatea complexului colorat este direct proporțională cu cantitatea de bilirubină. În primul caz se determină cantitatea de bilirubină directă; iar în cel de al doilea, cantitatea de bilirubină totală (bilirubină directă + bilirubină indirectă).

1. Metoda Feendrassik

Reactivi: — Soluția cafeină-benzoat

cafeină	20 g
benzoat de sodiu	30 g
acetat de sodiu	50 g
apă distilată	400 ml

— Soluția NaCl 9g‰

— Reactiv diazo

Soluția A — acid sulfanilic	2,5 g
— acid clorhidric concentrat.....	15 ml
apă distilată	1 000 ml
Soluția B — azotit de sodiu	0,5 g
apă distilată	100 ml

În momentul întrebuirii se amestecă:

10 ml sol. A + 0,25 ml sol. B.

Modul de lucru: în 3 eprubete se pipetează:

	bilirubină totală	bilirubină directă	martor
cafeină	1,75 ml	—	1,75 ml
reactiv Diazo	0,25 ml	0,25 ml	—
soluție NaCl	—	1,75 ml	0,25 ml

Se agită, se lasă 5 minute la întuneric. Citirea la $\lambda = 530 \text{ m}\mu$, față de martor, cuvă de 1 cm.

Calcul: mg bilirubină % ml ser = $E \times 6,34$

mg bilirubină indirectă % = bilirubină totală — bilirubină directă.

În caz că nu există bilirubină directă, bilirubina reprezintă bilirubină indirectă.

Observații: pentru eliminarea produșilor secundari care interferază la dozarea bilirubinei metoda a fost modificată: se adaugă soluție Fehling II atât în probă cât și la martor. Se formează o bilirubină azoică albastră a cărei extincție se măsoară la $\lambda = 578 \text{ m}\mu$.

Modul de lucru: în două eprubete se pipetează:

	Bilirubină totală	Martor
acid sulfanilic	0,2 ml	0,2 ml
azotit de sodiu	0,1 ml	—
cafeină	1 ml	1 ml
ser	0,2 ml	0,2 ml

Se agită și se lasă 10 minute la temperatura camerei

soluție Fehling II	1 ml	1 ml
--------------------	------	------

Se agită și se lasă 5 minute în repaus. Citirea extincțiilor se face la $\lambda = 578 \text{ m}\mu$, cuvă de 1 cm.

Calcul: mg bilirubină totală % ml ser = $E \times 105$.

2. Metoda Schellong

Principiu: același ca la metoda anterioară

Reactivi:

1. Acid sulfanilic:

acid sulfanilic	1,25 g
acid clorhidric	3,5 ml
(d = 1,19)	

Se completează cu apă distilată pînă la 250 ml.

2. Azotit de sodiu:

azotit de sodiu	175 mg
apă distilată	100 ml

3. Soluție cofeină:

cofeină	13,75 g
benzoat de sodiu	18,75 g
apă distilată	200 ml

Încălzit pînă la fierbere. După răcire se adaugă apă pînă la 250 ml.

4. Tartrat alcalin:

tartrat dublu de sodiu și potasiu	65
hidroxid de sodiu	19
apă distilată	250 ml

5. Clorură de sodiu 0,9%.

Modul de lucru pentru dozarea bilirubinei totale

	Probă	Martor
Acid sulfanilic	0,25 ml	0,25 ml
Clorură de sodiu 0,9%	—	0,05 ml
Nitrit de sodiu	0,05 ml	—
Accelerator (cofeină)	1 ml	1 ml
Se amestecă și se lasă 10—30' la temperatura camerei		
tartrat alcalin	1 ml	1 ml

Se amestecă. După 5—30' se măsoară E probei față de Blanc la $\lambda = 600 \text{ m}\mu$.

Calcul: mg bilirubină totală/100 ml ser = $E_p \times 8$

Modul de lucru pentru dozarea bilirubinei directe: în eprubeta se pipetează

	Probă	Martor
acid sulfanilic	0,25 ml	0,25 ml
nitrit de sodiu	0,05 ml	—
clorură de sodiu 9%	2 ml	2,05 ml
ser	0,5 ml	0,5 ml

Se amestecă după 5' se citește extincția probei față de Blanc la $\lambda = 530 \text{ m}\mu$, cură de 1 cm.

Calcul: mg bilirubină directă/100 ml ser = $E_p \times 5,9$

3. Metoda Jonvengeaux Revol

Reactivi:

— Diazo A:

acid sulfanilic	1 g
apă distilată	500 ml
acid clorhidric concentrat	15 ml
apă distilată pînă la	1 000 ml

— Diazo B:

NaNO_2	1 g
apă distilată	100 ml

În momentul întrebuintării se diluează 1/2.

Diazo amestec: 0,06 ml Diazo B 0,5% + 2 ml Diazo A.

— benzoat de sodiu (BSU):

benzoat de sodiu	25 g
apă distilată	60 ml
uree	15 g
apă distilată pînă la	100 ml

Reactivul se filtrează.

Modul de lucru: în 4 eprubete se pipetează:

	Martor	Bilirubina directă	Bilirubina totală	Martor
ser	0,1 ml	0,1 ml	0,1 ml	0,1 ml
Diazo A	0,2 ml	—	—	0,2 ml
Diazo reactiv	—	0,2 ml	0,2 ml	—
apă	1,7 ml	1,7 ml	0,7 ml	0,7 ml
BSU	—	—	1 ml	1 ml

Citirea se face la $\lambda = 540 \text{ m}\mu$, cuva de 1 cm.

Calcul: $\text{mg bilirubină \% ml} = E \times F$

E = extincția

F = factorul. Pentru calcularea factorului este necesară curba etalon. Această curbă se construiește cu ajutorul a trei diluții obținute din soluția stock de bilirubină (2 mg%).

Deoarece realizarea unui standard de bilirubină este foarte anevoioasă, se lucrează cu factorul calculat pe baza coeficientului de extincție a azopigmentului la lungimi de undă bine definite. În lipsa unui spectrofotometru se poate lucra și cu un fotometru cu filtre (tip Pulfrich). În acest caz:

— pentru bilirubină directă se folosește filtrul S. 53 și se calculează folosind factorul 7,1;

— pentru bilirubina totală se folosește filtrul S.61 și se calculează folosind factorul 10,9.

Valori normale % ml ser

bilirubină totală	0,4—1 mg
„ directă	0 — 0,2 mg
„ indirectă	0,2—1 mg

Bilirubina indirectă este crescută în icterul hemolitic, boala Biermer, boala Gilbert, icterul fiziologic la nou-născuți și în unele cazuri de ciroză.

Bilirubina directă este crescută în icterul prin obstrucție, icterul provocat de hepatita virală și în unele cazuri de ciroză.

Din punct de vedere al activității transaminazei în ciroze se pot sistematiza următoarele aspecte:

1. Ciroză neevolutivă și compensată, cu teste hepatice anormale și TGO în limitele valorilor normale.

2. Ciroză neevolutivă, dar decompensată, cu manifestări clinice (icter), teste hepatice modificate față de normal și TGO în limite normale.

3. Ciroză evolutivă, dar compensată, cu alterarea celulară, fără decompensare, teste hepatice modificate față de normal și TGO crescută.

4. Ciroză evolutivă și decompensată, cu retenție de lichid, hiperbilirubinemie, teste hepatice profund alterate și TGO mult crescută.

Diagnosticul diferențial dintre viroza biliară primară și secundară, pe baza activității TGO, este ne semnificativă.

DETERMINAREA ACTIVITĂȚII FOSFATAZELOR

Fosfatazele sînt enzime care catalizează hidroliza unor esteri organici ai acidului fosforic. În laboratorul clinic se determină fosfataza alcalină care prezintă activitate maximă la $\text{pH} = 8,5-10$ și fosfataza acidă prezintă activitate maximă la $\text{pH} 4,5-5$.

DOZAREA ACTIVITĂȚII FOSFATAZEI ALCALE

1. Metoda Bodansky

Principiu: se dozează fosforul anorganic eliberat de enzimă din β -glicerofosfat de sodiu, la $\text{pH} 8,6$.

Reactivi:

- 1) Soluția stoc β -glicerofosfat
- | | |
|------------------------------------|--------|
| — glicerofosfat de sodiu | 1 g |
| — dietil-barbiturat de sodiu | 0,85 g |
| — apă | 100 ml |

Se agită, se încălzește pînă la dizolvare, se răcește.

- 2) Soluție substrat tampon $\text{pH} = 8,6$:
- | | |
|-------------------------------------------|--------|
| soluție stoc β -glicerofosfat | 50 ml |
| NaOH N/10 | 100 ml |

3) Soluție acid tricloracetic 10%

- 4) Soluție acid molidic
- | | |
|-----------------------------------|--------|
| a) molibdat de amoniu | 25 g |
| apă | 300 ml |
| b) acid sulfuric concentrat | 75 ml |
| apă | 125 ml |

Se amestecă soluția a și b și se completează la 500 ml cu apă distilată.

5) Soluția acid ascorbic 1% în HCl 0,1 N

- 6) Soluția stoc fosfat acid de potasiu
- | | |
|--------------------------------|----------|
| KH_2PO_4 | 0,43949 |
| apă | 1 000 ml |

Din soluția stoc se iau 25 ml și se completează la 200 ml apă distilată. 2 ml din această soluție corespund la 0,025 mg fosfor.

Modul de lucru: in 3 eprubete se pipetează:

	Probă	Martor	Etalon
ser	0,5 ml	0,5 ml	
substrat	5 ml	5 ml	
acid tricloracetic	—	4,5 ml	
Incubarea	1 oră la 37°C		
acid tricloracetic	4,5 ml	—	
Se agită și se filtrează:			
filtrat	5 ml	5 ml	—
etalon	—	—	2 ml
acid mellebdenic	2 ml	2 ml	2 ml
acid ascorbic	2 ml	2 ml	2 ml
apă distilată	1 ml	1 ml	4 ml

Se agită și se lasă 30 minute la întuneric. Se citește extincția probei, a martorului și a etalonului la $\lambda = 630 \text{ m}\mu$, cuva 1 cm.

Calcul:

$$\text{Fosfor mg\%} = \frac{E_p - E_M}{E_{\text{etalon}}} \times 0,025 \times 400 = \frac{E_p - E_M}{E_{\text{etalon}}} \times 10$$

Valori normale:

Unități Bodansky: 1 mg P/oră /100 ml

Adulți: 2—4 unități Bodansky

Copii: 5—15 unități Bodansky

Transformarea unităților Bodansky în mU/ml se face înmulțind cu factorul 5,4.

2) Metoda cu p-nitrofenol

Principiu: fosfataza alcalină catalizează hidroliza p-nitrofenil fosfatului (compus incolor) în fosfat și p-nitrofenolul.

Cantitatea de p-nitrofenol (compus colorat în mediu alcalin) este proporțională cu activitatea enzimatică.

Reactivi:

- tampon glicocol pH = 10,5
- glicocol 0,75 g
- SO₄Mg·7H₂O 60 mg
- NaOH (4% = N) 8,5 ml
- apă distilată pînă la 100 ml
- p-nitrofenil fosfat disodic 0,4 g
- apă distilată 100 ml
- substrat
- 1 volum p-nitrofenilen fosfat disodic
- 3 volume tampon glicocol pH = 10,5
- NaOH 0,1 N

Modul de lucru: se pipetează în două eprubete:

	Probă	Marlor
soluție substrat	2,5 ml	2,5 ml
ser uman	0,1 ml	—
30 minute la 37°C		
NaOH 0,1 N	10 ml	10 ml
ser uman	—	0,1 ml

Se citește extincția probelor (EP) și a blancurilor respective (EB) față de apă la 450 m μ în cuvă de 1 cm.

Calcul

$$(EP - EB) \times 227 = \text{U.I. activitate fosfatazică alcalină}$$

Valori normale la adult = 20—48 mU/ml

Valori normale la copii = 28—138 mU/ml

Interpretări:

Valori crescute ale fosfatazei alcaline se întâlnesc în rahitism, boala Paget, hiperparatiroidism și în general în afecțiunile osoase însoțite de o reacție osteoblastică. De asemenea creșteri ale fosfatazei alcaline de origine hepatobiliară se întâlnesc în caz de colestază și o creștere de 20—40 ori față de normal în carcinomul de prostată cu metastaze osoase. În rahitism creșterea activității fosfatazei alcaline este considerată a fi cel mai sensibil și sigur test. Cu 30—40 zile înainte ca boala să se manifeste clinic se poate pune în evidență o creștere a fosfatazei alcaline în ser. După tratamentul cu vitamina D, scăderea activității enzimei în ser indică începerea procesului de vindecare. În boala Paget creșterea activității fosfatazei alcaline este în general semn caracteristic. În diferite stadii ale bolii Paget s-au găsit valori de 140—1400 mU/ml. Creșterea persistentă a activității fosfatazei alcaline este de asemenea observată în bolile cu metastaze în ficat.

DOZAREA ACTIVITĂȚII FOSFATAZELORE ACIDE

Fosfatazele cu activitate optimă în mediul acid (pH = 4,9) sînt de diverse proveniențe. Interes clinic prezintă fosfataza prostatică, care fiind inhibată selectiv de tartratul de sodiu forma L poate să fie diferențiată de fosfatazele neprostatice.

Metoda Bodansky

Principiu: este același ca la dozarea activității fosfatazei alcaline, substratul are pH = 4,5—4,9.

Reactivi:

1. — acid acetic N
2. — soluție de β -glicerofosfat de sodiu (identice ca în cazul fosfatazei alcaline)
3. — substrat pH = 4,5—4,9
 - soluție glicerofosfat (2) 50 ml
 - acid acetic N 5 ml
 - apă distilată pînă la 100 ml
4. — reactivi folosiți la dozarea fosforului (vezi fosfataza alcalină).

Tranșceni uafe

PENTRU URINĂ:

- 1) — detectarea acetonei: pulbere reactivă ce conține nitroprusiat de sodiu și săruri alcalinizante ce se colorează în violet în prezența acetonei și rămâne necolorată la urinile normale. Diferitele intensități de culoare ce corespund la concentrații variate de acetonă în urină se compară cu o scală colorată a concentrațiilor de acetonă.
- 2) — detectarea glucozei: benzi impregnate cu o soluție ce conține sulfat de cupru și săruri alcalinizante. Colorația galben-brun ce apare în cazurile în care glucoza e prezentă se compară cu o scală colorată a concentrațiilor de glucoză furnizind aprecieri cantitative orientative.
- 3) — detectarea bilirubinei: benzi impregnate cu clorură de bariu și azotat de sodiu însoțite de o soluție revelatoare. Intensitatea culorii verzi ce apare în caz de prezență a bilirubinei e proporțională cu concentrația bilirubinei urinare și se compară cu o scală de culori.
- 4) — pentru decelarea proteinelor: benzi pentru orientări cantitative ce se compară cu o scală de culori.

PENTRU DECELAREA PIGMENTILOR SANGUINI:

Testul se poate aplica la orice produs biologic (fecale, vărsături, LCR, revărsări pleurale sau ascită) pregătit ca pentru decelarea hemoragiilor oculte. Pulberea reactivă se colorează albastru de diferite intensități în funcție de cantitatea de pigment sanguin prezent care se compară cu o scală de culori.

EXAMENUL MICROSCOPIC AL URINII

Examenul microscopic se face pe sedimentul urinei proaspete, la cel mult 6 ore de la emisie. Dacă sedimentul este bogat va lăsa urina în repaus într-un tub conic și se va lua cu o pipetă Pasteur sediment din fundul tubului. Dacă urina este săracă în sediment, este necesară o centrifugare de 3—6 minute, la 1500—2500 t/minut. Se elimină supernatantul și se lucrează pe sediment. Centrifugările la turații mari sînt evitate, distrugînd elementele figurate.

Sedimentul se picură cu o pipetă Pasteur pe o lamă curată, iar lama se acoperă apoi cu o lamelă, evitîndu-se formarea de bule de aer.

Preparatul se examinează la microscop, cu obiectivul mic pentru a stabili prezența elementelor celulare și a cristalelor, urmînd apoi studiul microscopic cu obiectivul mare.

ELEMENTE FIGURATE

În urinile normale se întîlnesc celule epiteliale plate care sînt foarte mari, poliedrice, mai rar rotunde cu nucleu mic și protoplasmă de culoare deschisă, fin granulat.

La femei ele sînt prezente în număr mai mare decît la bărbați și provin din vagin. Dacă sînt foarte numeroase, ele provin din vezică și indică inflamația căilor urinare inferioare. Dacă sînt puțin numeroase și însoțite de filamente uretrale, ele provin din uretră.

Pentru a evita prezența în sediment a elementelor secreției vaginale care conține pe lângă epitelii poligonale leucocite, hematii, coci etc., se recomandă ca recoltarea urinei să se facă după o prealabilă toaletă vulvară cu apă și săpun, iar în cazul unei leucoree sau secreții vaginale abundente, cu un mic tampon de vată intravaginal.

Celulele rotunde, zise renale, sînt ovale sau poligonale mici, însă ceva mai mari decît leucocitele și au un nucleu caracteristic mare, rotund, veziculos, protoplasma granulară, adesea colorată în brun, care conține picături de grăsimi. Diferențierea lor față de leucocite este uneori dificilă din cauză că leucocitele în urările alcaline pot căpăta forma celulelor renale. Celulele renale izolate nu se pot deosebi morfologic de alte celule epiteliale. Uneori apar în grămezi în formă de moruță. Ele pun în evidență o inflamație cronică bazinetală.

Celulele cilindrice sînt mai mici decît celulele epiteliale și au formă caracteristică.

Levurile sînt rotunde sau ovale, de mărimi inegale, desgrupate, cîte două sau mai multe, nu au dublu contur și au o refringență caracteristică.

Celulele tumorale. Prezența unui neoplasm poate fi suspectată, dacă urina conține sînge și mici aglomerări de celule mononucleare. Pot fi decelate uneori și fragmente de țesut tumoral prin colorarea sedimentului urinar cu albastru de metilen.

Leucocitele au aspectul unor globule sferice granulate de mărimi diferite. Un număr mic de leucocite este prezent în urina normală. Provin din căile urinare și rinichi. Cînd numărul lor este foarte mult crescute formează puroiul și indică o inflamație a căilor urinare sau o infecție a căilor urinare. Leucocitele au unul sau mai mulți nuclei și pot fi izolate, în grămezi sau înglobate în cilindri. Ele sînt intacte în urina acidă și deformată în urina alcalină. Nucleii sînt de obicei distincți sau acoperiți de granulații. Adăugarea de 1—2 picături de acid acetic 10% aduce o clarificare. Adăugarea se va face cu atenție, căci acidul acetic lizează eritrocitele.

Eritrocitele sînt rotunde, perfect conturate și se găsesc în număr foarte redus în urina normală; ele pot fi diferențiate de levuri, care sînt adesea sferice, prin faptul că, mișcînd viza micrometrică, hematiile apar cu contur dublu și sînt de culoare gălbuie, iar adăugarea de cîteva picături de acid acetic 10% le lizează imediat. Cercetarea lor trebuie efectuată pe urini proaspete. În urările concentrate acide, ele se pot deforma devenind crenelate, iar în urările alcaline se imbibă, devenind rotunde.

Prezența lor în cantitate mare în urină poate da o colorație roșiatică. Testul pentru hemoragii oculte poate fi negativ, cînd sînt puține hematii în urină, cam 10—15 pe cîmpul microscopic. Se va vedea dacă sîngele nu provine din căile genitale prin traumatism sau prin sondaj. Eritrocitele izolate se întîlnesc des după menstruație și mai rar înainte acesteia.

Cilindrii urinari. Sînt formațiuni proteice, rotunde, alungite sau cilindrice. Proveniența lor se explică astfel: alterarea peretelui tubilor urinari lasă să se acumuleze în lumenul lor exsudate proteice care se coagulează sub influența pH-ului acid al urinei. Forma pe care o capătă este a tubului unde a luat naștere și apar în urină sub forma unor mase cilindrice alungite. Au dimensiuni variabile, dar mari în raport cu celelalte elemente ale urinei. Cilindrii apar în aceleași condiții ca și proteinuria. Nu există nici un raport direct

Între proteinurie și numărul cilindrilor. Există proteinurii intense fără cilindurie concomitentă. Cilindrii sînt de două feluri: adevărați și pseudocilindri. Cilindrii adevărați sînt: cilindrii hialini, granuloși, hematici, leucocitari și epiteliali. Prezența cilindrilor hematici în sediment este de mare importanță pentru diagnostic, deoarece pune în evidență un proces patologic în rinichi. Cînd urina stă în repans mai mult timp se poate produce o dizolvare a cilindrilor, mai ales în urările alcaline. O centrifugare prea puternică produce de asemenea o distrugere a cilindrilor. Cilindroiții, cilindrii de urați, acid uric, bacterieni și hemoglobinici sînt pseudocilindri.

CILINDRII ADEVĂRAȚI

Cilindrii granuloși reprezintă de obicei o lezare gravă a celulelor renale, iar cilindrii epiteliali pot indica eliminarea celulelor renale. De aceea cînd găsim celule renale în urină se caută cu atenție și asemenea cilindri.

Cilindrii hialini sînt incolori și omogeni, adesea fiind necesară colorarea cu albastru de metilen 1%. Uneori, pe suprafața lor se pot depune săruri simulînd cilindrii granuloși. Cilindrii hialini apar în proteinurie, indicînd totodată existența unui proces patologic. Se întîlnesc în diferite tipuri de nefrite.

Cilindrii granuloși sînt scurți, friabili, formați din granulații fine. Sînt cei mai importanți, apar în procese patologice renale grave, prezența lor indicînd o nefrită.

Cilindrii fibroși prezintă aspect de reticuli speciali de fibrină de colorație gălbuie, de origine sangvină, ei indicînd existența unei congestii renale.

Cilindrii grăsoși conțin picături de grăsime, se colorează în roșu puternic cu Sudan III. Sînt insolubili în acid acetic. Sursa picăturilor de grăsime este de obicei degenerescența grasă a celulelor epiteliale.

Cilindrii epiteliali. Existența lor este foarte rară. Ei conțin celule epiteliale din tubii renali. Adăugarea de acid acetic diluat 10% produce o clarificare a nucleilor.

Cilindrii hematici sînt formați din globule roșii cu elemente bine conservate sau uneori degenerate. Prezența lor dovedește că sîngele provine chiar din rinichi. Se întîlnesc în nefrita hemoragică acută, ei indicînd o glomerulonefrită.

Cilindrii leucocitari sînt formați din celule rotunde, mici și granuloase. Cilindrii leucocitari puri se găsesc mai rar și prezența lor denotă o pînefrită sau o pielonefrită. Mai des, leucocitele se depun pe cilindrii de mucus, hialini sau alții.

Cilindrii comatoși sînt formați din granule mici refringente, cu porțiuni hialine. Apar în coma diabetică sau înainte ei.

Cilindrii ceroși sînt un semn al unei leziuni grave a parenchimului renal mai frecvent în procesele cronice decît în cele acute. Sînt formațiuni omogene cu un luciu mat care îi deosebește de cilindrii hialini, sînt refringenți cu marginile nete cu incizuri.

Cilindrii adevărați sau pseudocilindrii pot fi confundați cu fire de ață, fire de lînă sau peri. Imaginea lor este redată în fig. 28.

Firele de in și cînepă sînt mult mai grosolane decît cilindrii adevărați. Ele prezintă îngroșări și noduri, iar lumenul lor este îngust și uneori dispăre cu

DUMITRU BUIUC MARIAN NEGUȚ

TRATAT
DE
MICROBIOLOGIE
CLINICĂ

EDIȚIA A III-A



EDITURA MEDICALĂ

(9) Spală lama 5-10 sec.

(10) Îmersază lama la intervale de 5 sec. în băi succesive de alcool 85°, 95° și alcool absolut.

(11) Îmersează lama 2-3 sec. în baie de xilol.

(12) Montează în balsam de Canada sub lamelă. Examinează.

Citire-interpretare: Fungii (filamentoși, levuri, chizi de *Pneumocystis*) apar colorați roșu magenta în contrast cu fondul verde al frotiului. Ocazional bacterii și polimorfoculare rețin în oarecare grad fucsina bazică, dar diferența față de elementele fungice este evidentă.

Controlul de calitate: Colorează un frotiu martor omitând etapa tratării cu periodat. Pe preparatul martor nu trebuie să apară structuri colorate în roșu.

42.9. GRAM, COLORAȚIA

Principiu: După tratarea bacteriilor cu un colorant bazic violet din seria para-rozanilinei (e.g., violet de metil, cristal violet) și cu iod ele se comportă diferit sub acțiunea unui agent decolorant (e.g., alcool, acetonă):

- La unele iodul mordansează („fixează”) colorantul în structurile protoplastului și împiedică decolorarea încât bacteriile rămân colorate în violet. Aceste bacterii au fost numite *gram-pozitive*.

- Alte bacterii se decolorează și pentru a putea fi observate trebuie recolorate cu un colorant diferit, uzual roșu (e.g., fucsina bazică, safranină, roșu neutru). Ele au fost numite *gram-negative*.

Comportarea diferită a bacteriilor în colorația Gram ține de diferențe în structura peretelui celular: rețeaua de peptidoglican tridimensională cu ochiuri strânse, micșorate și mai mult sub acțiunea deshidratantă a agentului de diferențiere, poate explica reținerea complexului colorant violet-iod de către bacteriile gram-pozitive; rețeaua de peptidoglican bidimensională cu ochiuri laxe și dizolvarea unor lipide asociate peretelui sub acțiunea agentului de diferențiere, pot explica decolorarea bacteriilor gram-negative.

Cu termenul de *gram-variabil* sunt desemnate bacteriile care pierd caracterul gram-positiv într-o serie de circumstanțe insuficient definite (e.g., condiții de cultivare, de fixare și colorare a frotiului). Știm astăzi, cel puțin pentru bacteriile anaerobe, că leziuni ale peretelui bacterian apărute în prezența oxigenului sunt cauză a comportamentului variabil al organismelor cu perete de tip gram-positiv. Așa se explică de ce metoda originală de colorație imaginată de Christian Gram în 1884 – colorare cu violet de gențiană*, mordansare cu soluție iodo-iodurată, decolorare cu alcool absolut și recolorare cu brun Bismark – a suferit numeroase modificări care au ameliorat-o și adaptat-o la anumite indicații.

42.9.1. Metoda Gram modificată de Jensen

Indicații: Varianta simplă, de uz curent, a colorației Gram pentru identificarea preliminară a bacteriilor: bune rezultate la depistarea gonococilor și meningococilor în prelevate patologice, mai ales când sunt în număr redus.

* Violetul de gențiană este un amestec, în proporții dificil de controlat în cursul sintezei, de cristal violet și violet de metil.

Reactivi:

(A) Soluția colorantă cu violet de metil

Violet de metil 6B 5 g

(sau cristal violet 85-95% colorant)

Apă distilată 1000 mL

Agită pentru solvire și filtrează prin hârtie, soluția, deși stabilă, este bine a mai fi filtrată, printr-o mică pâlnie, direct la turnarea colorantului pe lamă.

(B) Soluția iodo-iodurată (Lugol)

Iod cristale 10 g

Iodură de potasiu 20 g

Apă distilată 1000 mL

Dizolvă iodura de potasiu în circa 50 mL apă, adaugă iodul și agită până la dizolvarea totală. Completează la 1000 mL cu apă distilată. Păstrează în flacon brun.

(C) Decolorantul: alcool etilic absolut (precauții)

Alcoolul etilic decolorează lent. Există și decoloranți cu acțiune mai rapidă (vezi mai jos varianta Hucker a colorației Gram), dar autorul a precizat decolorantul care oferă cea mai bună diferențiere.

(D) Soluția recolorantă de uz curent^a

Fucsina bazică, soluție alcoolică saturată^b 10 mL

Apă distilată 100 mL

Soluția recolorantă pentru urmărirea gonococilor și meningococilor

Verde malachit 0,05 g

Pironină 0,15 g

Apă distilată 100,0 mL

Agită pentru dizolvare și filtrează prin hârtie. În flacon brun soluția poate fi conservată până la o lună.

Procedura:

(1) Colorează frotiul 30 sec. cu soluția de violet de metil sau cristal violet.

(2) Varsă colorantul, ține lama înclinată și picură soluție Lugol, din partea superioară a lamei peste frotiu pentru spălarea colorantului și a depozitelor cristaline ale complexului colorant-iod.

(3) Acoperă lama cu soluție Lugol proaspătă și menține 30 sec.

(4) Scurge soluția Lugol și spală frotiul cu alcool absolut. Acoperă frotiul cu alcool absolut proaspăt și dă lamei mișcări alternative de înclinare până când preparatul nu mai eliberează colorant (urmărește aceasta pe fond alb)

Spală cu apă.

(5) Recolorează respectând următoarele intervale:

• Pentru soluția de fucsina bazică 0,1%: 30 sec., prelungit până la 1-2 minute la urmărirea hemofililor.

• Pentru soluția verde malachit-pironină: 2 minute.

(6) Spală cu apă, usucă, examinează.

^a Alternativ pot fi folosite pentru recolorare soluțiile: 0,1% roșu neutru sau 0,5% safranină. Personal obținem rezultate mai bune cu soluția 0,1% de fucsina bazică.

^b Evită recolorarea cu fucsina Ziehl diluată 1:10 pentru că tinde să coloreze atât de intens bacteriile gram-negative încât poate crea confuzii prin diferențierea difiică de cele gram-pozitive.

Notă: La recolorarea cu soluție verde, purtați o mănușă în spăla în curent de apă, și mundați bucată lama cu apă, scurgeți și uscați.

Citire-interpretare: Bacteriile gram-pozitive și fibrile apar violete, cele gram-negativ e roșu intens, iar nucleii și citoplasma celulelor inflamatorii, a celulelor de descuamare sau usulare în mănăie de roșu. Celulele inflamatorii cu detalii structurale insuficient diferențiate pot fi înregistrate ca „celule rotunde”.

La recolorarea cu verde malachit-gramonim, gonococii sau meningococii apar roșii, bacteriile gram-pozitive purtătoare de fibrile sau a fibrilei vor apărea în așchiuri în așchiuri de albastru verzui.

Controlul de calitate:

Maror pozitiv: *Bacillus megatherium* sau *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Maror negativ: *Escherichia coli* ATCC 25922

Efectuează un frotiu din amestecul în părți egale a suspensiilor cu densitate corespunzătoare etalonului 5 Mc far'aud din cultură peste noapte pe agar nutritiv de *E. coli* și *B. megatherium* sau *S. aureus*. Aceste suspensii autoclavate la 121°C timp de 20 minute pot fi utilizate îndelung. Verifică fiecare lot nou de reactivi cu un frotiu maror: diferențierea între bacteriile gram-pozitive și cele gram-negativ trebuie să fie netă.

Evaluarea frotiurilor din prelevate patologice nu poate fi înțotdeauna uniformă. În consecință pe asemenea frotiu câmpuri bine diferențiate pot alterna cu câmpuri sub- sau supradecolorate. Selectează pentru examinare numai câmpurile cu leucocite roșii:

Tablul 42-1

„Capcanele” clasice ale colorației Gram

(adaptat după Beronius, 1968)

Specia	Monografia caracteristicii	Variante morfologice	Comentarii
<i>Staphylococcus pneumoniae</i>	Coci gram-pozitivi, în lanțuri de 2, 3, 4 sau mai mulți, diplocochi	Coci albi și asemănători cu bacilii fluorescenți	Etichetat drept bacil gram-pozitiv, enterococ
<i>Staphylococcus</i> spp	Coci gram-pozitivi, așezati predominant în grămezi	Așezati rar în câte doi	Pe un frotiu din exsudat uretral supradecolorat comunicat <i>Neisseria gonorrhoeae</i> .
<i>Escherichia paratyphicus</i>	Bacil gram-pozitiv, mare, drept, capete păzante	Forme variabile gram-negativ	Considerat bacil gram-negativ
<i>Enterobacter aerogenes</i>	Coci gram-negativi	Coci gram-negativi	Are tendința de a reține violetul de metil. Interpretat drept coc gram-pozitiv, coc gram-negativ.
<i>Corynebacterium jeikeium</i>	Coci gram-pozitivi, rotunzi, în lanțuri lungi	Celule gram-afabile	Considerate artefacte.
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Coci gram-pozitivi, în lanțuri lungi	Așchiuri de lanțuri	Pe un frotiu de spută confundate cu coci gram-pozitivi

3. STERILIZAREA, DEZINFECȚIA ȘI SPĂLAREA ÎN CIRCUITUL MATERIALELOR DIN LABORATORUL DE MICROBIOLOGIE (DUMITRU BUIUC)

- 3.1. STERILIZAREA
 - 3.1.1. Sterilizări prin căldură uscată
 - Încălzirea la roșu
 - Flambarea
 - Încinerarea
 - Sterilizarea prin aer cald
 - 3.1.2. Sterilizări prin căldură umedă
 - 3.1.2.1. Sterilizări la peste 100°C
 - Autoclavul cu perete simplu
 - Autoclavul vertical cu manta de abur
 - Autoclavul orizontal cu evacuare gravitațională a aerului
 - 3.1.2.2. Tindalizarea sau sterilizarea fracționată
 - 3.1.3. Filtrarea
 - 3.1.4. Radiațiile ultraviolete
 - 3.1.5. Controlul eficienței sterilizării
 - 3.1.6. Prezervarea sterilității materialelor
- 3.2. DEZINFECȚIA
 - 3.2.1. Precauții privind siguranța dezinfecției chimice
 - Necesitatea diferențierii dintre "curat" și "murdar"
 - Necesitatea penetrării agentului dezinfectant

- Necesitatea testelor de eficiență
 - Coeficientul fenolic
 - Testul de capacitate în utilizare Kelsey Sykes
 - Testarea dezinfectantelor în condiții utilizare
- 3.2.2. Dezinfectantele uzuale în laborator de microbiologie
 - Hipocloriții
 - Formaldehida
 - Glutaraldehida
 - Detergenții cationici
 - Alcoolii
 - Iodoforii
- 3.3. DECONTAMINAREA ȘI CIRCUITUL MATERIALELOR ÎN LABORATORUL DE MICROBIOLOGIE
 - 3.3.1. Colectarea materialelor contaminate
 - 3.3.2. Tratarea materialelor contaminate sau dezafectare
 - 3.4. ASEPSIA ÎN MICROBIOLOGIE

Sterilizarea este distrugerea sau îndepărtarea tuturor microorganismelor, inclusiv a sporilor.

Dezinfecția este distrugerea formelor vegetative ale microorganismelor, dar nu mod necesar și a sporilor.

3.1. STERILIZAREA

În laboratoarele de microbiologie obținem sterilizarea prin tehnici bazate pe următorii agenți:

- a) Căldură uscată:
 - încălzirea la roșu;
 - flambarea;
 - încinerarea;
 - aer cald.
- b) Căldură umedă:
 - peste 100°C (autoclavare);
 - la sau sub 100°C (tindalizare).

c) Filtrare.

d) Radiații ultraviolete.

Sterilizarea chimică prin oxid de etilen, utilă pentru chirurgie și stomatologie, este justificată în microbiologie.

3.1.1. Sterilizări prin căldură uscată

Încălzirea la roșu este *indicată* pentru firul drept, ansa și spatula de însămânțare. **Flambarea**, adică înfierbântarea obiectului de sterilizat prin trecerea repetată în flacără timp de câteva secunde, este *indicată* pentru gura eprubetelor și flacoanelor. Tehnica este contraindicată pentru sterilizarea obiectelor voluminoase care se încălzesc și se răcesc prea încet pentru a fi utilizate imediat (pipete gradate etc.) sau pe care căldura flăcării le degradează (obiecte din material plastic, oțel etc.).

Incinerarea presupune arderea cu reducere la cenușă. În laboratoarele de microbiologie este *indicată* pentru materialele dispozabile din plastic, reziduuri organice solide, gunoii, cadavrele și carcasele animalelor de experiență. Metoda pune probleme de control al poluării mediului și siguranței microbiologice. Cei interesați pot găsi amănunte privind exigențele de construcție, de funcționare și controlul de eficiență a incineratoarelor din spitale (la care apelează uzual laboratoarele de microbiologie clinică) detaliate manuale de specialitate.

Sterilizarea prin aer cald. *Indicații:* obiecte de laborator din sticlă (eprubete, flacoane, pipete) sau porțelan (mojare, pistile), seringi Luer din sticlă, instrumentar chirurgical, substanțe grase, pulberi termostabile. *Contraindicații:* soluții apoase, obiecte din cauciuc sau cu garnituri din cauciuc, seringi din sticlă cu metal, țesături și vată din bumbac sau fibră sintetică, materiale contaminate din laborator.

Sterilizarea prin aer cald se realizează în etuvă la 160–180°C timp de o oră. Timpul de sterilizare crește peste o oră în cazul ambalajelor voluminoase sau obiectelor și substanțelor care se încălzesc greu (tabelul 3-1).

Tabelul 3-1

Parametrii sterilizării prin aer cald și prin vapori de apă sub presiune

Materialul și volumul în care este supus sterilizării	Timpul ¹ de egalizare a temperaturii	Timpul ¹ de omorâre a microbilor	Timpul ¹ total al operației ²
Sterilizarea în etuvă la 160–180°C Sticlărie, instrumentar metalic în ambalaje cu volum redus	35	25	60
Idem în ambalaje voluminoase; pulberi în cutii Petri în strat mai subțire de 0,5 cm și nu mai mult de 10 g per cutie.	95–125	25	120–150
Ulei (maximum 85% din volumul recipientului)			
• în fiole până la 20 ml	25	25	50
• în flacoane de 100 ml	45	25	70
• în flacoane de 300 ml	50	25	75
Autoclavare la 121°C Soluții apoase (maximum 75–80% din volumul recipientului)			
• vol. de 10 mL în eprubete	0	18	18
• vol. de 500 mL	2–7	18	20–25
• vol. de 1000 mL	7–12	18	25–30
• vol. de 2000 mL	17–27	18	35–45

¹ Timpul măsurat în minute.

² Măsurat din momentul în care temperatura din încălta de sterilizare a atins valoarea selectată.

NOTĂ: Este contraindicat a steriliza concomitent volume mari cu volume mici pentru că, la aceeași durată de expunere, volumele mici se supraîncălzesc, iar cele mari pot rămâne nesterilizate.

Etuva este o incintă cilindrică sau paralelipipedică cu pereți dubli, din tablă, termoizolanți. Rezistențe electrice și un termostat permit menținerea constantă a temperaturii selectate, uniformizată în incinta de sterilizare printr-un sistem de ventilație. Obiectele de sterilizat se așează în etuvă pe rafturi din sită metalică.

Procedura:

1) Așează obiectele pregătite pentru sterilizare (vezi mai jos) pe rafturi, fără a umple incinta la refuz și respectând mici spații între ambalaje pentru circulația nestânjenită a aerului cald.

2) Închide ușa aparatului, deschide orificiile de ventilație și conectează aparatul la rețeaua electrică. Etuvele mari au ventilator cu palete, care pornește o dată cu rezistențele electrice.

3) Marchează timpul de sterilizare (conform tabelului 3-1) din momentul în care termometrul indică 160-180°C.

4) Scoate obiectele sterilizate numai după răcirea aparatului.

Există etuve automate cu afișarea continuă a parametrilor sterilizării.

3.1.2. Sterilizări prin căldură umedă

3.1.2.1. **Sterilizări la peste 100°C.** Utilizăm autoclave în care vaporii de apă saturați realizează 115°C la 0,5 atmosfere, 121°C la o atmosferă și 134°C la 2 atmosfere. Prezența aerului compromite sterilizarea: vaporii de apă, mai ușori, încălzesc partea superioară a incintei, iar aerul, mai greu, rămâne în partea inferioară cu temperaturi insuficiente pentru sterilizare. Parametrii sterilizării la autoclav sunt prezentați în tabelul 3-1.

Autoclavul este un cazan cu pereți rezistenți în care, după închiderea etanșă cu un capac masiv, presat cu buloane sau cu un sistem cabestan, vaporii de apă se comprimă la presiunea necesară sterilizării.

A) **Autoclavele cu perete simplu** pot fi verticale sau orizontale. Sunt cele mai indicate pentru sterilizarea soluțiilor și materialului contaminat din laborator. Aici se mai sterilizează sticlăria pentru culturi de celule și aparatele de filtrare.

La acest tip de autoclave vaporii provin din apă aflată în cazanul de presiune și pătrund în camera de sterilizare de jos în sus prin suportul de tablă perforată pe care se așează obiectele de sterilizat. Un manometru controlează presiunea din interiorul cazanului. Un robinet de vaporii, aflat în partea superioară a autoclavului, pune în legătură cazanul cu exteriorul. Un al doilea robinet, aflat la partea inferioară, permite evacuarea apei din cazan. O supapă de siguranță evacuează vaporii când presiunea lor depășește limita de securitate. Cazanul este cuprins într-un manșon de tablă groasă, care la partea inferioară formează un locaș pentru adaptarea sursei de căldură (fig. 3-1).

Procedura:

1) Toarnă apă distilată în cazan, prin incinta de sterilizare, până la 2-3 cm sub nivelul suportului.

2) Așează pe suport obiectele de sterilizat în ambalajul lor. Ambalajele sunt: flacoane, eprubete, coșuri pentru eprubete și flacoane mici, cutii, casolete, hârtie pentru împachetarea unor obiecte, găleți sau saci din plastic termorezistent pentru materialul de

laborator contaminat. Introdu flacoanele cu capacul semiînșurubat, cazoletele cu orificiile deschise, gălețile fără capac.

3) Închide etanș capacul strângând buloanele diametral opus, întâi cu mâna, apoi complet cu o pârghie.

4) Conectează sursa de căldură.

5) Deschide robinetul pentru evacuarea aerului. Odată cu vaporii de apă, prin robinetul deschis, se evacuează și aerul din incinta de sterilizare, asigurând astfel o convecție puternică: vaporii în contact cu obiectele reci le cedează căldura și se condensează, presiunea lor tinde să scadă și atrage altă cantitate de vaporii care transportă și cedează căldură ș. a. m. d. Aprecierea corectă a evacuării aerului se face cufundând într-un vas cu apă rece un tub de cauciuc adaptat la robinetul de vaporii. Aerul este complet evacuat din incinta de sterilizare când încetează a mai barbota prin apă.

6) Închide robinetul de evacuare a aerului.

7) Când presiunea ajunge la valoarea aleasă, reglează sursa de căldură pentru a menține această presiune pe toată durata timpului de sterilizare (tabelul 3-1).

8) Întrerupe sursa de căldură și lasă aparatul să se răcească până când manometrul indică 0 (presiune atmosferică). Numai în acest moment deschide lent robinetul de vaporii, apoi cazanul. Nu deschide autoclavul cât timp presiunea este peste cea atmosferică, pentru că lichidele fierbinți vor fierbe exploziv și se pot sparge flacoanele.

9) Lasă materialele, pentru uscare, în autoclavul deschis. Când materialele ajung la cca 80°C pot fi scoase. Aceasta durează, funcție de volumul ambalajelor și vâscozitatea soluțiilor. Flacoanele mari cu mediu de cultură agarizat pot necesita și câteva ore.

Dezavantaje: • În ambalaje pot persista pungi cu aer. • Cantitatea mare de condens în cursul sterilizării. • Uscarea dificilă după sterilizare, care impune o serie de precauții (e. g., evitarea contactului obiectelor ambalate în hârtie cu suprafețe nesterile până la perfectă uscare a ambalajului).

B) Autoclavele cu manta de abur sunt concepute pentru sterilizarea materialelor chirurgicale din bumbac, obiecte și instrumente din cauciuc, instrumentar metalic, etc., pentru că asigură uscarea rapidă și perfectă a materialelor sterilizate. Pot fi verticale sau orizontale.

În lipsa unui autoclav cu perete simplu, pot fi utilizate și pentru sterilizarea soluțiilor sau altor materiale din laborator.

• *Autoclavul vertical cu manta de abur.* Vaporii de apă provin din rezervorul de apă plasat în partea inferioară a cazanului de presiune și pătrund în incinta de

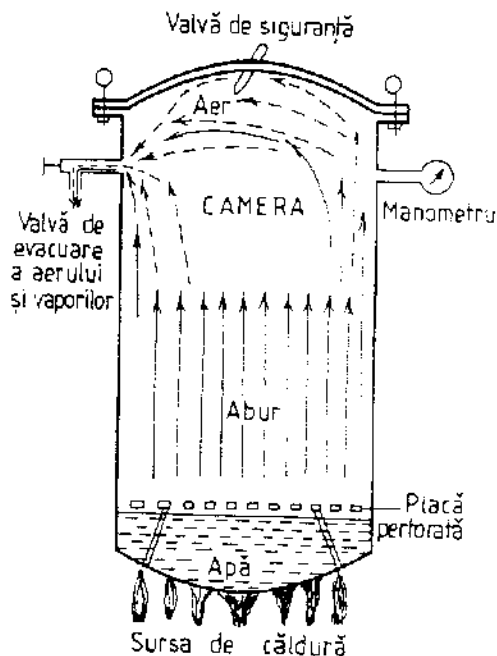


Fig. 3-1. Autoclavul vertical cu perete simplu.

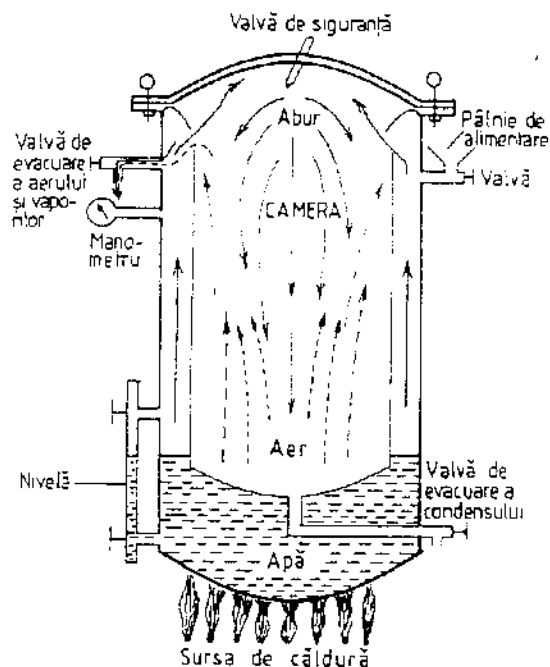


Fig. 3-2. Autoclav vertical cu manta de abur.

sterilizare, de sus în jos, după ce au trecut prin mantaua de abur și au încălzit-o (fig. 3-2). În acest autoclav găsim următoarele accesorii în plus față de autoclavul cu perete simplu: o pâlnie de alimentare și o nivelă pentru controlul apei din sursa de vaporii, robinete care pun în comunicare sursa de vaporii cu aceste piese, un robinet de evacuare a aburului și un robinet prin care se elimină apa de condens acumulată în partea declivă a incintei de sterilizare.

Procedura:

- 1) Deschide robinetele pâlniei de alimentare cu apă și ale nivelei.
- 2) Toarnă apă distilată în rezervor până la marca indicată pe nivelă.
- 3) Așează în incinta de sterilizare materialele în ambalajele lor.

- 4) Închide etanș capacul cazanului.
- 5) Conectează sursa la căldură.
- 6) Deschide robinetul pentru evacuarea aerului și închide toate celelalte robinete ale aparatului.

Pentru sterilizarea soluțiilor procedează în continuare ca la autoclavul cu perete simplu, etapele 5-9. În acest caz nu operezi deloc nici cu robinetul de evacuare a aburului, nici cu cel de evacuare a condensului (rămân închise).

Pentru sterilizarea materialelor chirurgicale, seringilor, sticlăriei cu destinație specială, după epuizarea timpului de sterilizare:

- întrerupe sursa de căldură,
- deschide robinetul de evacuare a aburului și, când presiunea a coborât la 0,5 atmosfere,
- deschide robinetul pentru evacuarea condensului, iar când presiunea a coborât la zero,
- deschide capacul autoclavului,
- scoate cașoletele și închide orificiile numai după ce s-au răcit în autoclav. În caz contrar, prin răcire în exterior, până la o treime din volumul lor va absorbi aer atmosferic contaminat.

• *Autoclavul orizontal cu evacuare gravitațională a aerului* poate fi cilindric sau rectangular. Ușa se închide cu sistem cabestan (fig. 3-3).

Vaporii proveniți din sursă exterioară cu mare presiune trec spre manta și incinta de sterilizare printr-un regulator de presiune.

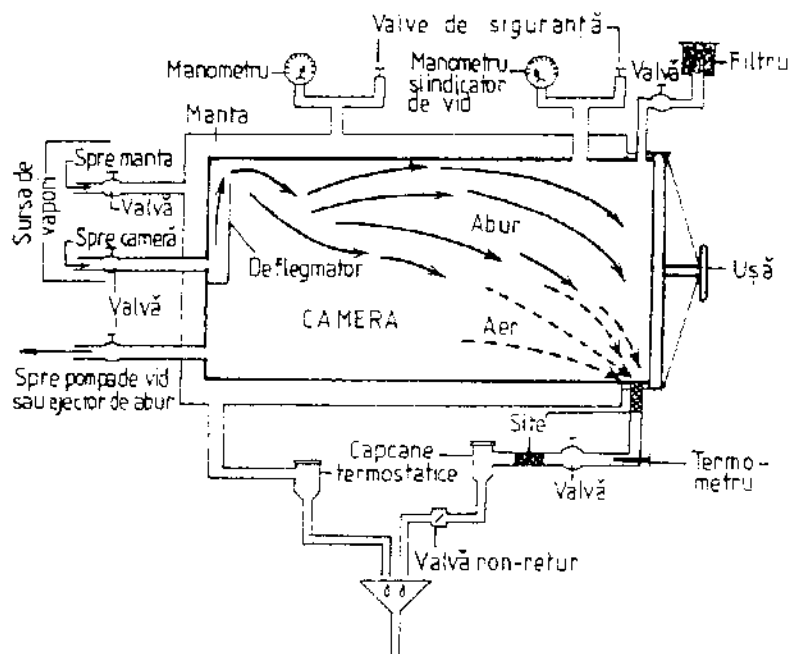


Fig. 3-3. Autoclavul orizontal cu evacuare gravitațională a aburului.

Aburul este obligat să pătrundă prin partea superioară a incintei de sterilizare, forțând astfel aerul și condensul să se scurgă gravitațional prin conducta de la partea inferioară a incintei, care este prevăzută cu site pentru reținerea impurităților.

Valve termostactice (capcane pentru abur pur) asigură reținerea în incinta de sterilizare și manta numai a aburului pur. Ele se deschid când temperatura scade cu mai mult de 2°C sub cea a aburului pur și evacuează automat aerul și condensul. Se reînchid când temperatura revine la o diferență mai mică decât 2°C față de cea a aburului pur.

Un termometru indică temperatura aburului din canalul de scurgere deasupra capcanei de abur, cât mai aproape de partea inferioară a incintei de sterilizare.

Un sistem de vacuum favorizează uscarea finală a materialelor sterilizate, iar un sistem de răcire previne fierbera violentă a lichidelor și grăbește scăderea presiunii la sfârșitul sterilizării.

Procedura:

- 1) Prin admisie de abur, încălzește mantaua până la temperatura de sterilizare. Reduci astfel formarea condensului în incinta de sterilizare și grăbești uscarea finală.
- 2) Plasează în incinta autoclavului materialele de sterilizat și închide ușa etanș.
- 3) Deschide accesul vaporilor de apă în incinta de sterilizare cu valva canalului de evacuare a aerului și condensului deschisă.
- 4) Urmărește termometrul canalului de evacuare a incintei de sterilizare. Când atinge temperatura selectată pentru sterilizare (uzual 5-10 minute) marchează timpul de sterilizare conform indicațiilor din tabelul 3-1. Indicațiile manometrului sunt mai puțin fidele pentru că nu atestă prezența aburului pur în incintă.

NOTĂ. Curăță zilnic sitele canalului de evacuare pentru a-i asigura permeabilitatea perfectă.

5) La epuizarea timpului de sterilizare: oprește accesul vaporilor în incinta de sterilizare, dar continuă circulația lor prin manta.

La sterilizarea soluțiilor: lasă presiunea să scadă până la zero în incinta de sterilizare. Pierderea de căldură prin ușa fără manta a autoclavului realizează scăderea presiunii în 10-30 minute, în raport cu volumele de lichid sterilizate. La volume mari de medii agazate scăderea presiunii poate dura mai mult de o oră, ceea ce poate degrada mediile termosensibile. Autoclavele moderne sunt prevăzute cu sisteme de răcire a flacoanelor fără fierbere explozivă. În lipsa acestora, la sfârșitul operațiunii răcirea poate fi grăbită prin deschiderea foarte lentă a valvei de evacuare a incintei.

La sterilizarea materialelor chirurgicale și seringilor:

– Scăderea presiunii în incinta de sterilizare este provocată prin deschiderea imediată a valvei de evacuare. Uscarea poate fi grăbită prin acționarea sistemului de vacuum.

– Deschiderea autoclavului se face numai după ruperea vidului din incinta de sterilizare prin deschiderea valvei de acces a aerului filtrat. Casoletele trebuie să se răcească în autoclav aproape de temperatura camerei.

Protecția operatorului.

1) Nu deschide capacul autoclavului înainte de coborârea presiunii la zero și deschiderea lentă a robinetului de evacuare a incintei. Volumele mari de soluții pot avea încă peste 100°C și la contactul cu aerul la presiunea atmosferică pot exploda.

2) Pentru deschiderea capacului, echipează-te cu mănuși protectoare termoizolante și protejează fața cu un vizor care acoperă de asemenea pielea gâtului și pieptul.

Autoclavele moderne, încălzite prin rezistențe electrice, sunt programate semiautomat sau automat. Pot fi prevăzute cu sondă termoelectrică și sistem de înregistrare continuă a parametrilor sterilizării.

3.1.2.2. Tindalizarea sau sterilizarea fracționată evită încălzirea la temperaturi peste 100°C.

Principiu: În medii care permit germinarea sporilor, încălziri repetate omoară atât formele vegetative existente iniția, cât și pe cele germinate din spori în intervalele dintre încălziri.

Indicații: Sterilizarea unor medii de cultură, alimente.

Necesar. Autoclav: pentru tindalizare la 100°C, în vapori fluenți (autoclavare cu robinetul pentru vapori deschis); baia de apă sau de nisip: pentru tindalizări sub 100°C.

Procedura: Substanțele de sterilizat, în volume mai mici de 1 litru, se mențin 30-60 minute, 3-8 zile consecutiv, la temperatura impusă de compoziția lor. În intervalele dintre încălziri recipientele cu substanțele supuse sterilizării se mențin la temperatura camerei pentru germinarea sporilor.

3.1.3. Filtrarea

Filtrarea este trecerea unui fluid printr-un corp poros, filtru. Filtrele cu porozități convenabile pot debarasa de microorganisme fluidul filtrat, acestea fiind reținute mecanic și electrostatic în porii filtrului. Metoda este indicată pentru decontaminarea bacteriană

5.1 IZOLAREA BACTERIILOR

5.1.1. Alegerea mediilor de cultură pentru izolare

Medii de cultură comercializate există cu sutele. La acestea se adaugă variate medii manufacturate în multe laboratoare. Dar pentru fiecare categorie de prelevate patologice se utilizează uzual un mediu sau un set de medii care permit izolarea bacteriilor cel mai frecvent implicate în infecțiile zonei respective a organismului. Acest set de medii uzuale poate fi suplimentat cu alte medii în raport cu datele clinico-epidemiologice, morfopatologice sau cu cele cito-bacterioscopice. Microbiologul trebuie să fie foarte bine familiarizat cu aspectul culturilor bacteriene pe un anumit mediu. De aceea este mai indicat să lucreze cu un set restrâns de medii, care satisfac o gamă cât mai largă din exigențele izolării bacteriilor în cultură (exigențe nutritive, evitarea antagonismului prin contaminanții probei etc.), decât să recurgă la noi medii, cu care este mai puțin familiarizat, fără o bună justificare.

Mediile de cultură lichide, bulioanele, au utilizarea restrânsă la izolarea din prelevate necontaminate (e.g., sânge, exsudate din seroase, aspirate din colecții purulente profunde, biopsii tisulare prin ac). Izolarea prin însămânțarea în medii lichide are câteva avantaje:

- este cea mai sensibilă metodă de izolare *in vitro*: cultura poate fi inițiată de un număr redus de bacterii, volumul prelevatului însămânțat poate fi crescut;
- neutralizează prin diluție factori antimicrobieni din prelevatul examinat.

Mediile solide pot fi neselective, diferențiale și selective.

1) **Agarul îmbogățit cu 5% sânge de berbec** este mediul neselectiv cel mai folosit pentru însămânțarea prelevatelor necontaminate și a unora din cele contaminate (e.g. exsudate din căile respiratorii și din cavitățile lor conecte, exsudat conjunctival, puroi etc.). Preparat cu sânge de cal favorizează izolarea *Haemophilus influenzae*, iar cu sânge de om evidențiază capacitatea hemolitică a coloniilor de *Gardnerella vaginalis*, specie nehemolitică pe agar cu sânge de la alte specii animale.

2) **Mediile diferențiale** conțin substratul pentru o anumită enzimă sau citotoxină bacteriană și un indicator care atestă atacarea acestui substrat. Astfel agarul-sânge diferențiază bacteriile hemolitice de cele nehemolitice, mediile lactozate, cu variații indicatori de pH, diferențiază enterobacteriaceele care fermentează lactoza (lactozopozitive) de cele care nu o fermentează (lactozo-negative) ș.a.m.d. În acest mod sunt favorizate izolarea și identificarea preliminară în primocultură a unor bacterii din prelevate contaminate.

3) **Mediile selective** conțin substanțe care inhibă dezvoltarea bacteriilor de contaminare a prelevatelor. Există o diversitate de medii selective în raport cu diversitatea patogenilor anume urmăriți.

Pentru izolarea enterobacteriaceelor din prelevate contaminate există medii cu trei niveluri de selectivitate:

- **Slab selective** (e.g., mediul Mac Conkey – agenți inhibitori săruri biliare și cristal violet; mediul EMB – agenți inhibitori eozina Y și albastru de metilen), care inhibă bacteriile gram-pozitive.

- *Moderat selective* (e. g., mediul *Salmonella-Shigella* – agenți inhibitori săruri biliare și verde briliant), care inhibă, pe lângă bacteriile gram-pozitive, și o parte din bacilii gram-negativi comensali.

- *Înalt selective* (e. g., mediul Wilson-Blair – agent inhibitor verde briliant), care inhibă o gamă mai largă de bacterii pentru a facilita izolarea salmonelelor.

Agarul-sânge poate fi făcut selectiv pentru izolarea unor patogeni pretențioși nutritivi prin adaos de antibiotice: colimicina și acidul nalidixic inhibă dezvoltarea bacteriilor gram-negative și favorizează izolarea celor gram-pozitive; bacitracina inhibă dezvoltarea bacteriilor gram-pozitive și favorizează izolarea hemofililor, kanamicina și vancomicina favorizează izolarea bacililor gram-negativi anaerobi ș. a. m. d.

Mediile de îmbogățire sunt medii lichide care, prin anumite substanțe inhibitoare, prelungesc faza de lag a bacteriilor de contaminare, fără a întârziă însă intrarea anumitor patogeni în faza exponențială. Astfel preincubarea fecalelor 18 ore la 37°C în bulion cu selenit de sodiu ș.a., înainte de epuizarea pe un mediu selectiv adecvat, favorizează izolarea salmonelelor.

Utilizarea mediilor diferențiale și selective nu trebuie urmărită cu orice preț, ci numai în măsura în care aduce avantaje reale, fără a încălca inutil costul analizei. Exemple:

- Includerea unui mediu diferențial lactozat în bateria de medii pentru izolarea patogenilor din spută nu o vedem indispensabilă pentru că: a) nu aduce nici un avantaj nutritiv suplimentar comparativ cu agarul-sânge; b) nu caracterizează nici un factor de patogenitate; c) semnificația clinică a izolatelor condiționat patogene este stabilită pe criterii cantitative, raportul cu celulele inflamatorii ș.a., între care capacitatea de fermentare a lactozei nu își află locul; antibiograma izolatului cu semnificație clinică se impune și se poate face înaintea identificării.

- Izolarea salmonelelor în bacteriologia clinică nu justifică utilizarea mediilor înalt selective. Microbiologul bine familiarizat cu aspectul culturii enteropatogenilor pe un singur mediu cu selectivitate mijlocie izolează bacilul tifoid cu același randament ca și restul salmonelelor sau bacililor dizenterici fără a mai trebui să apeleze și la mediul înalt selectiv Wilson Blair.

Tulpini ale unui patogen pot să nu cultive pe mediul selectiv ales. De aceea sensibilitatea izolării unor patogeni crește dacă mediul selectiv este dublat și de un mediu neselectiv: tulpini de bacili dizenterici care nu cultivă pe medii cu selectivitate mijlocie, dar pot fi izolate pe mediul cu selectivitate joasă (e. g., mediul Mac Conkey ș. a.) sau diferențial lactozat (e. g., agar cu albastru de bromtimol lactoză etc.); tulpini de bacil difteric care sunt inhibitate pe mediile cu telurit, dar pot fi izolate pe agar-sânge etc.

Suspiciunea prezenței în prelevat a bacteriilor cu perete defectiv (e. g., infecții persistente la pacienți sub terapie cu antibiotice β -lactamice conform antibiogramei) obligă la însămânțarea și într-un mediu protector hipertonic cu zaharoză.

100,

5.1.2. Prelucrarea prelevatelor patologice și tehnici de însămânțare pentru izolarea și identificarea bacteriilor

Însămânțarea prelevatelor patologice, în funcție de natura lor, o facem direct sau după o prealabilă prelucrare: concentrare, decontaminare, omogenizare, inactivarea unor substanțe antimicrobiene.

Prelevatele omogene, fluide (sânge, exsudate seroase prelevate pe anticoagulant, puroi) sau emulsionabile (fecale), le putem însămânța direct.

Concentrăm prin centrifugare probele fluide sau omogenizate (spută).

Decontaminarea prin spălare în soluție salină izotonă este utilă pentru sputa mucopurulentă, pentru porțiunile muco-sanguinolente din scaun. Tratarea cu hidroxid de sodiu decontaminează probele pentru izolarea micobacteriilor; concomitent fluidifică și omogenizează sputa.

Omogenizarea sputei pentru izolarea bacteriilor neacido-rezistente o facem cu N-acetil-cisteină, iar a țesuturilor prin mojarare în tub Griffith.

Toate aceste prelucrări ale probelor prealabile însămânțării vor fi reluate cu amănunte tehnice în capitolele speciale.

1) *Epuizarea inoculului cu ansa pe plăci cu mediu agarizat și obținerea culturilor pure necesare identificării.*

Inițial evaporăm condensul de pe suprafața mediului prin menținerea plăcilor cca 30 minute la 37°C cu capacul întredeschis: „uscarea plăcilor“.

Pe plăcile cu medii agarizate neselective, uzuală este izolarea prin epuizare semicantitativă a inoculului în 4 cadrane conform schemei din figura 5-1, cu arderea ansei când schimbăm direcția striurilor de epuizare. Metoda permite aproximarea relativă a creșterii cum este precizat în tabelul 5-1.

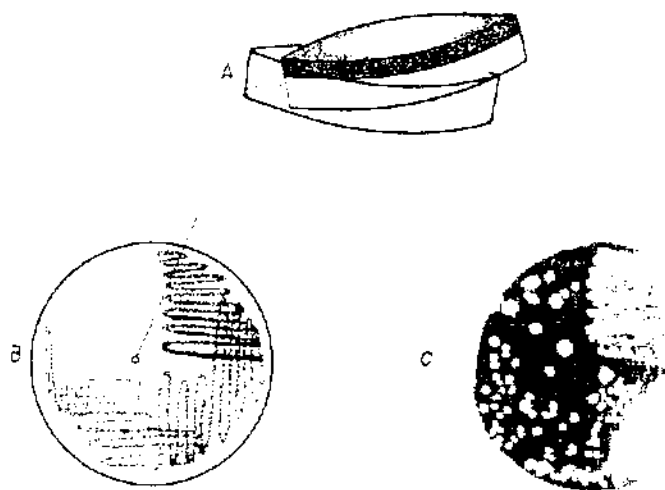


Fig. 5-1. Epuizarea inoculului cu ansa în patru cadrane pe placă cu mediu agarizat permite aprecieri semnificative ale izolatelor din primoculturi.

Scorul de creștere	Numărul coloniilor pe striurile de însămânțare din cadranele		
	1	2	3
1 + (puține)	< 10	-	-
2 + (numeroase)	> 10	< 5	-
3 + (numeroase)	> 10	> 5	< 5
4 + (foarte numeroase)	> 10	> 5	> 5

Pentru izolări pe medii selectiv, cantitatea de inoculum trebuie să fie mai mare iar epuizarea mai puțin drastică. Inițial, conform schemei din figura 5-2, etalăm în aria una sau mai multe anse cu inocul ori inocul prelevat pe tampon. Epuizăm apoi inoculu fără sterilizări intermediare ale ansei, prin 3 serii de striuri: B, C și D (fig. 5-2). Cantitate de fluid prelevată în ansă diferă cu poziția de scufundare și retragere a ansei: cantitate minimă și constantă la scufundarea și retragerea verticală, cantitate maximă la scufundare cât mai oblică și retragerea ansei prin „smulgere” din fluid.

Pură poate fi considerată acea cultură formată din descendenții unei singure colonii rezultate după o epuizare a materialului microbial, care duce la creșterea sub formă de colonii bine izolate pe un mediu de cultură neselectiv. Ideal ar fi ca asemenea creștere să pornească de la indivizi izolați. Practic ea pornește de la unități formatoare de colonii (poate indivizi, poate o mică grupare de organisme asemănătoare).

În microbiologia clinică, o singură epuizare optimă pe un mediu neselectiv poate fi suficientă, dar o reepuizare este de dorit. Când cultura primară rezultă după epuizare pe un mediu selectiv, reepuizarea pe un mediu diferențial este obligatorie. Coloniile microorganismului urmărit pe mediul selectiv pot conține un număr de contaminanți inhibați, care la repicarea directă în mediul de identificare își reiau activitatea. Bacteriile inhibate rămân în profunzimea coloniilor, în apropierea suprafeței însămânțate. De aceea, la purificarea izolatelor de pe medii selective, pentru repicarea prin reepuizarea acestor colonii prelevăm inoculul numai prin atingerea suprafeței coloniei; nicideată nu trebuie să secționăm colonia cu ansa.

Izolarea bacteriilor din prelevate contaminate cu *Proteus* este posibilă pe medii care inhibă caracterul invaziv al acestor specii: agar cu săruri biliare, agar cu eritrocite de cal și cărbune activ (sângele integral reduce capacitatea adsorbivă a cărbunelui), agar-sânge cu alcool feniletlic, un agar deficient în electroliți.

În prezența clostridiilor invazive, izolarea bacteriilor anaerobe în cultură pură este mai dificilă și poate impune repicări multiple.

Șansa de a repica o mutantă în cursul purificării unei culturi pe medii nutritive uzuale este de una la câteva

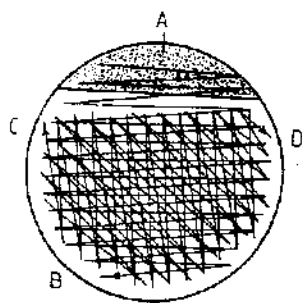


Fig. 5-2. Epuizarea cu ansa a unui prelevat patologic pe placa cu mediu selectiv (sugestia).

milioane. Pentru a o minimiza, odată convingși de puritatea culturii, nu mai repicăm colonii individuale, ci un inocul prelevat din mai multe colonii.

2) *Însămânțarea în medii lichide* o facem direct cu seringă de prelevare (hemoculturi), cu pipeta (sedimentul lichidului cefalo-rahidian), cu ansa încărcată cu prelevat patologic monomicrobian ori cultură pură (fig. 5-3).

(A) Înclină tubul și descarcă ansa pe peretele tubului așa cum indică figura. (B) Când readuci tubul la verticală, inoculul ajunge submers și difuzează în mediu.

3) *Izolarea bacteriilor sporulate de cele nesporulate pe baza termorezistenței sporilor.* Menține în baia de apă la 80°C, timp de 10 minute, produsul microbial suspensionat în soluție salină izotonă, apoi epuizează suspensia pe o placă cu mediu agarizat.

4) *Însămânțarea cu ansa a mediilor solidificate în pantă* este indicată pentru:

- Menținerea pe durată limitată, de la câteva zile până la 1-2 săptămâni, a culturilor pure (e. g., tulpini de identificat, tulpini de referință). Prelevă cu ansa inocul din mai multe colonii ale culturii purificate pe placă cu mediu agarizat. Depune inoculul în partea inferioară a pantei, imediat deasupra apei de condens, și retrage ansa spre partea superioară a pantei descriind mișcări în S pe suprafața mediului.
- Izolarea în cultură pură a tulpinilor de *Proteus* din prelevate contaminate. Descarcă o ansă din prelevatul patologic strict în apa de condens a tubului. Incubează tubul în poziție verticală. Singură cultura de *Proteus* va invada, prin „cătărare”, suprafața pantei de mediu.

5) *Însămânțarea cu firul drept a coloanei de agar nutritiv moale* este indicată pentru testarea mobilității bacteriilor sau pentru conservarea pe durate mai lungi, de una până la 6 luni, a tulpinilor bacteriene. Încarcă firul cu inocul din cultura pură și înțeapă central coloana de agar nutritiv până aproape de fundul tubului. La testarea mobilității, retrage acul cât mai exact pe același traiect pentru a evita dilacerări suplimentare ale mediului în care creșterea poate da impresia falsă de mobilitate a bacteriei.

6) *Însămânțarea cu firul drept a mediilor solidificate în coloană și pantă* este indicată pentru testarea unor activități biochimice. Încarcă firul cu inocul din cultura pură și procedează mai întâi la însămânțarea prin înțeapare a coloanei, apoi retrage acul însămânțând panta prin mișcări în „S” până în partea sa superioară (fig. 5-4).

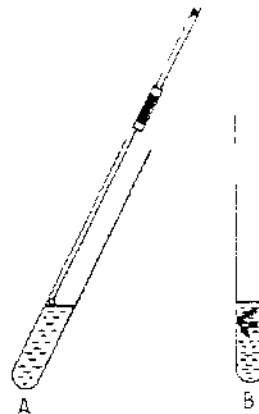


Fig. 5-3. Însămânțarea cu ansa a unui tub cu bulion nutritiv.

(A) Înclină tubul și descarcă ansa pe peretele tubului așa cum indică figura. (B) Când readuci tubul la verticală, inoculul ajunge submers și difuzează în mediu.

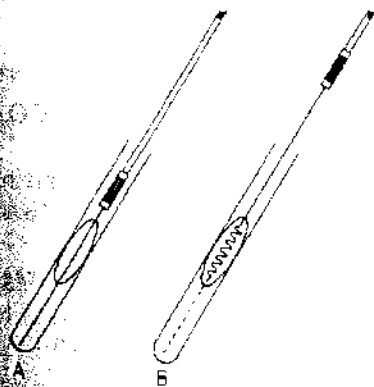


Fig. 5-4. Însămânțarea cu firul drept a mediului solidificat în coloană și pantă.

(A) Însămânțarea coloanei prin înțeapare. (B) Însămânțarea pantei prin striuri în „S”.

Ministerul Sănătății - MS - Ordin nr. 1101/2016 din 30 septembrie 2016

Ordinul nr. 1101/2016 privind aprobarea Normelor de supraveghere, prevenire și limitare a infecțiilor asociate asistenței medicale în unitățile sanitare

În vigoare de la 07 octombrie 2016

Publicat în Monitorul Oficial, Partea I nr. 791 din 07 octombrie 2016. Nu există modificări până la 11 octombrie 2016.

Văzând Referatul de aprobare nr. V.V.V. 4.289 din 30 septembrie 2016, întocmit de Direcția generală de asistență medicală și sănătate publică din cadrul Ministerului Sănătății,

având în vedere prevederile art. 8 alin. (1) lit. a) și art. 166 din Legea nr. 95/2006 privind reforma în domeniul sănătății, republicată, cu modificările și completările ulterioare,

în temeiul prevederilor art. 7 alin. (4) din Hotărârea Guvernului nr. 144/2010 privind organizarea și funcționarea Ministerului Sănătății, cu modificările și completările ulterioare,

ministrul sănătății emite următorul ordin:

Art. 1. - (1) Se aprobă Normele de supraveghere, prevenire și limitare a infecțiilor asociate asistenței medicale în unitățile sanitare, prevăzute în anexele nr. 1-4, care fac parte integrantă din prezentul ordin.

(2) Normele prevăzute la alin. (1) cuprind:

a) Organizarea activităților de supraveghere, prevenire și limitare a infecțiilor asociate asistenței medicale în unitățile sanitare publice și private cu paturi - anexa nr. 1;

b) Supravegherea și raportarea infecțiilor asociate asistenței medicale - anexa nr. 2;

c) Metodologia de supraveghere a expunerii accidentale a personalului care lucrează în domeniul sanitar la produse biologice - anexa nr. 3;

d) Precauțiunile standard - măsuri minime obligatorii pentru prevenirea și limitarea infecțiilor asociate asistenței medicale - anexa nr. 4.

Art. 2. - Definiții de caz utilizate pentru supravegherea infecțiilor asociate asistenței medicale sunt cele prevăzute în Decizia 2012/506/UE.

Art. 3. - Depistarea/identificarea, înregistrarea și declararea/raportarea infecțiilor asociate asistenței medicale de către orice unitate sanitară sunt obligatorii.

Art. 4. - Fiecare unitate sanitară elaborează anual un program propriu de supraveghere, prevenire și limitare a infecțiilor asociate asistenței medicale.

Art. 5. - Fondurile necesare îndeplinirii activităților din programul prevăzut la art. 4 vor fi asigurate din bugetul de venituri și cheltuieli al unității și vor fi afișate pe

METODOLOGIA

de supraveghere a expunerii accidentale a personalului care lucrează în sistemul sanitar la produse biologice

Scop: reducerea riscului de infecție postexpunere la sânge și la alte produse biologice la personalul care lucrează în sistemul sanitar

Obiective:

- a) estimarea incidenței expunerii accidentale la produse biologice a personalului care lucrează în sistemul sanitar;
- b) ierarhizarea factorilor de risc (proceduri, dispozitive, timpul de lucru etc.);
- c) evaluarea respectării precauțiilor standard;
- d) sensibilizarea personalului medical în sensul cunoașterii riscului expunerii la sânge și la alte produse biologice și a aplicării măsurilor de prevenire a acestor expuneri accidentale și a consecințelor acestora;
- e) aplicarea corectă a măsurilor profilactice primare și secundare.

Tip de supraveghere: pasivă - colectarea datelor privind expunerea la produse biologice a personalului medico-sanitar, de îngrijire și auxiliar.

Datele privind raportarea expunerii accidentale la produse biologice sunt colectate pe baza:

- fișei de raportare a expunerii accidentale a personalului medico-sanitar, de îngrijire și auxiliar la produse biologice (figura 1);
- tabelului privind evidența vaccinărilor personalului medico-sanitar cu expunere accidentală la produse biologice (figura 2);
- fișei unității sanitare privind situația vaccinării antihepatită B a personalului medico-sanitar, de îngrijire și auxiliar (figura 3).

Definiții:

- a) persoana care lucrează în sistemul sanitar - orice persoană (angajat, student, voluntar) ale cărei activități implică contactul cu pacienți, sânge sau alte produse biologice provenite de la pacient, în cabinete, secții, compartimente sau laboratoare;
- b) expunere cu risc de infecție HIV, VHB, VHC, care necesită profilaxie postexpunere profesională (PPEP) - accidentarea transcutană (de exemplu: înțepătura cu ac sau tăietura cu un obiect tăios), contactul mucoaselor sau al pielii care prezintă leziuni ce îi afectează integritatea (de exemplu: expunerea pe o piele cu excoriații, tăieturi, delabrări, flictene, eczeme sau alte afecțiuni dermatologice) sau contactul cutanat pe o piele intactă, dar cu o durată prelungită (de exemplu: câteva minute și chiar mai mult) sau implicarea unei suprafețe întinse de contact cu sânge, țesuturi sau alte produse biologice contaminate vizibil cu sânge;
- c) produse biologice - 1. spermă, secreții vaginale; 2. fluide (lichid cefalorahidian, sinovial, pleural, peritoneal, pericardic, amniotic); 3. concentrate de HIV (în laboratoare). În absența sângelui vizibil în salivă, lacrimi, sudoare, urină, fecale, lapte aceste produse biologice nu sunt considerate cu risc de infecție HIV și nu impun măsuri de profilaxie antiretrovirală și de supraveghere medicală PPEP;

lege [5]

d) caz de expunere profesională - orice persoană care lucrează în sistemul sanitar și care a suferit o expunere accidentală cu risc de infecție HIV, VHB, VHC prin contact cu sânge sau alte produse biologice considerate cu risc de infecție.

Populația-țintă: persoanele care lucrează în sistemul sanitar, respectiv: personalul medico-sanitar și de îngrijire/auxiliar/tehnic, persoane aflate într-o formă de învățământ, voluntari.

Unitățile-țintă: unitățile sanitare publice, indiferent de subordonare și private

Atribuții în unitățile sanitare cu paturi

I. Compartimentul/Secția în care a avut loc expunerea accidentală

a) Persoana expusă accidental aplică imediat protocolul de management al expunerii accidentale la produse biologice, respectiv:

1. Îngrijire de urgență:

- expunere cutanată: spălare cu apă și săpun 5 minute;
- expunere percutană: spălare cu apă și săpun, urmată de aplicarea unui antiseptic cu timp de contact conform recomandărilor producătorului;
- expunere mucoasă: spălare cu ser fiziologic sau cu apă 5 minute.

2. chimioprofilaxie, pentru infecția HIV, administrată în funcție de tipul expunerii, starea pacientului-sursă

3. vaccinare postexpunere:

- în prima oră de la accident se prezintă la medicul șef de secție/compartiment sau la medicul șef de gardă;

- în termen de 24 de ore se prezintă la responsabilul serviciului/compartimentului de prevenire a infecțiilor asociate asistenței medicale pentru consultanță în vederea evaluării riscului;

- în termen de maximum 48 de ore anunță medicul de medicina muncii pentru luarea în evidență;

b) Medicul șef de secție/compartiment sau medicul șef de gardă:

- completează și transmite către serviciul/compartimentul de prevenire a infecțiilor asociate asistenței medicale, în maximum 24 de ore de la producerea expunerii accidentale, fișa de raportare a expunerii accidentale a personalului medico-sanitar, de îngrijire și auxiliar la produse biologice (figura 1);

- înregistrează expunerea accidentală în registrul de evidență a expunerilor accidentale la produse biologice al secției;

- asigură recoltarea eșantioanelor de sânge de la pacientul-sursă în maximum 2 ore de la producerea expunerii accidentale, respectând legislația privind testarea voluntară cu consiliere;

- asigură recoltarea eșantioanelor de sânge de la personalul expus accidental în maximum 2 ore de la momentul expunerii, respectând legislația privind testarea voluntară cu consiliere;

- asigură transportul eșantioanelor de sânge provenite de la pacientul-sursă la laboratorul unității cu paturi în care a avut loc expunerea.

II. Unitatea sanitară în care s-a produs expunerea accidentală

asigură prelevarea și testarea eșantioanelor de sânge provenite de la pacientul-sursă și persoana expusă accidental la produse biologice, în funcție de antecedentele cunoscute ale fiecăruia. Testele efectuate sunt: AgHBs, antiHBs, antiHBc, antiVHC, test HIV;

lege [5]

asigură evaluarea persoanei expuse accidental de către medicul infecționist din spital sau trimiterea persoanei expuse către secția/spitalul de boli infecțioase/consult interdisciplinar;

- asigură vaccinarea antihepatită B, în cazul în care persoana expusă nu are marker care să indice faptul că a fost vaccinată sau a trecut prin boală;

- pentru cazurile în care chimioprofilaxia pentru infecția HIV este necesară, aceasta este asigurată de secția/spitalul de boli infecțioase.

III. Laboratorul spitalului în care a avut loc expunerea accidentală

- efectuează testele solicitate atât pentru persoana expusă, cât și pentru pacientul-sursă;

- comunică rezultatele testărilor serviciului/compartimentului de prevenire a infecțiilor asociate asistenței medicale în termen de 24 de ore.

IV. Serviciul/Compartimentul sau medicul responsabil pentru prevenirea infecțiilor asociate asistenței medicale din spitalul în care a avut loc expunerea accidentală la produse biologice

- răspunde de informarea personalului cu privire la obligativitatea raportării expunerii accidentale și metodele de prevenire;

- participă împreună cu medicul infecționist la evaluarea riscului de infecție și consilierea cu privire la HIV, VHC, VHB;

- înregistrează vaccinarea antihepatită B a persoanei expuse, în registrul de evidență a expunerii accidentale la produse biologice al secției;

- urmărește vaccinarea persoanei expuse și finalizarea schemei de vaccinare;

- transmite situația vaccinărilor persoanelor expuse accidental la produse biologice medicului de medicina muncii;

- colectează și trimite fișele de raportare a expunerii accidentale a personalului medico-sanitar, de îngrijire și auxiliar la produse biologice, completate, lunar, până în data de 5 a lunii pentru luna anterioară, direcției de sănătate publică județene și a municipiului București;

- transmite anual către direcția de sănătate publică județeană și a municipiului București situația vaccinărilor antihepatitice B efectuate postexpunere accidentală, situație completată conform machetei prezentate în figura 2 de către medicul de medicina muncii;

- întocmește și transmite anual către direcția de sănătate publică județeană și a municipiului București fișa unității sanitare privind situația vaccinării antihepatită B a personalului medico-sanitar, de îngrijire și auxiliar, conform machetei prezentate în figura 3.

V. Medicul de medicina muncii care deservește unitatea sanitară

- înregistrează evenimentul în registrul propriu al expunerilor accidentale la produse biologice;

- urmărește apariția semnelor evocatorii de infecție HIV/VHB/VHC;

- urmărește seroconversia pentru HIV și/sau VHB și/sau VHC la persoana expusă, pe baza testelor efectuate imediat după expunere și la 6 luni de la data expunerii sau, în cazul în care este posibil, prin determinarea viremiei HIV/VHC la 1 lună, cu respectarea confidențialității, conform legislației în vigoare;

- anual completează evidența vaccinărilor personalului medico-sanitar expus la produse biologice (figura 2) și o trimite la serviciul/compartimentul sau medicul responsabil pentru prevenirea infecțiilor asociate asistenței medicale;

lege [5]

raportează expunerile accidentale la produse biologice a personalului din sistemul sanitar către inspectoratul teritorial de muncă, în conformitate cu Legea securității și sănătății în muncă nr. 319/2006, cu modificările ulterioare, și cu Hotărârea Guvernului nr. 243/2013 privind cerințele minime de securitate și sănătate în muncă pentru prevenirea rănilor provocate de obiecte ascuțite în activitățile din sectorul spitalicesc și cel al asistenței medicale;

- face analiza semestrială a cazurilor de expunere accidentală profesională și de seroconversie înregistrate în unitate.

VI. Atribuțiile direcțiilor de sănătate publică județene și a municipiului București

- centralizează trimestrial fișa de raportare a expunerii accidentale a personalului medico-sanitar, de îngrijire și auxiliar la produse biologice din toate unitățile sanitare,

- analizează datele în conformitate cu metodologia transmisă de Institutul Național de Sănătate Publică - Centrul Regional de Sănătate Publică București;

- transmit trimestrial fișele de raportare a expunerii accidentale la produse biologice și rezultatele analizei către Institutul Național de Sănătate Publică - centrul regional de sănătate publică la care sunt arondate;

colectează și centralizează datele din fișa unității sanitare privind vaccinarea antihepatită B a personalului medico-sanitar, de îngrijire și auxiliar (figura 3) și transmit anual, până la data de 1 martie pentru anul precedent, datele centralizate la Institutul Național de Sănătate Publică - Centrul Regional de Sănătate Publică București.

VII. Atribuțiile Institutului Național de Sănătate Publică

primește prin centrele sale regionale, de la direcțiile de sănătate publică județene, fișele de raportare a expunerii accidentale a personalului medico-sanitar, de îngrijire și auxiliar la produse biologice și efectuează analiza datelor la nivel regional și național;

transmite Ministerului Sănătății raportul de analiză anual și propuneri de intervenții pentru limitarea expunerii;

- elaborează ghiduri de proceduri în vederea limitării expunerii accidentale la produse biologice a personalului medico-sanitar, de îngrijire și auxiliar din unitățile sanitare.

Figura 2
Tabel privind situația vaccinărilor personalului medico-sanitar în urma expunerii accidentale la produse biologice

Anul raportării Unitatea sanitară
Județul

Nr. de expuneri accidentale la produse biologice înregistrate	Persoane vaccinate postexpunere accidentală la produse biologice	Persoane testate imediat după expunere	Persoane testate la 6 luni de la expunerea accidentală la produse biologice	Persoane cu seroconversie			
				HIV	VHB		VHC
					AgHBs pozitiv	Ac antiHBs pozitiv	
total	total	total	total	total			
medici	medici	medici	medici	medici			
asistente	asistente	asistente	asistente	asistente			
personal de îngrijire	personal de îngrijire	personal de îngrijire	personal de îngrijire	personal de îngrijire			
personal auxiliar	personal auxiliar	personal auxiliar	personal auxiliar	personal auxiliar			

Manager, Medic medicina muncii,
.....

Figura 3
Fișa unității sanitare privind vaccinarea antihepatită B a personalului medico-sanitar, de îngrijire și auxiliar

Anul raportării Unitatea sanitară
Județul

Personal angajat	Personal vaccinat HB înainte de anul raportării	Personal vaccinat HB în anul raportării	Nr. personal cu Ac antiHBs prezenți (vaccinare incertă/ineefectuată)	Nr. personal vaccinat în anul raportării
total	total	total		
medici	medici	medici		
asistente	asistente	asistente		
personal de îngrijire	personal de îngrijire	personal de îngrijire		
personal auxiliar	personal auxiliar	personal auxiliar		

Manager,
.....

Șeful serviciului/compartimentului de prevenire
a infecțiilor asociate asistenței medicale,
.....

ANEXA Nr. 4

PRECAUȚIUNILE STANDARD

Măsuri minime obligatorii pentru prevenirea și limitarea infecțiilor asociate asistenței medicale

Măsurile standard reprezintă măsurile minime de prevenire a infecției care se aplică tuturor pacienților îngrijiți, indiferent de statutul de infecțiozitate suspectat sau confirmat al pacientului, în orice cadru unde este asigurată asistență medicală.

Aceste proceduri sunt concepute atât pentru a proteja personalul sanitar, cât și pentru a preveni răspândirea infecțiilor în rândul pacienților.

Măsurile standard includ:

1. igiena mâinilor, care este esențială pentru a reduce riscul de răspândire a infecțiilor. Utilizarea antisepticelor alcoolice este metoda preferată în toate situațiile clinice, cu excepția cazurilor când mâinile sunt vizibil murdare (de exemplu, sânge, alte fluide biologice) sau după examinarea pacienților cu infecție cu Clostridium difficile sau norovirus, situații în care trebuie utilizate apa și săpunul;

lege [5]

2. utilizarea echipamentului individual de protecție (de exemplu: mănuși, halate, protectoare faciale), în funcție de expunerea anticipată. Igiena mâinilor este întotdeauna etapa finală după îndepărtarea și aruncarea echipamentului;

3. practici sigure de injectare, proceduri specifice pentru a preveni transmiterea bolilor infecțioase de la un pacient la altul sau între un pacient și personalul medical în timpul preparării și administrării medicamentelor de uz parenteral;

4. manipularea în condiții de siguranță a echipamentelor medicale sau contactul cu suprafețele potențial contaminate din imediata apropiere a pacientului, proceduri specifice pentru prevenirea transmiterii bolilor infecțioase de la un pacient la altul sau între un pacient și personalul medical în timpul manipulării echipamentelor medicale și contactul cu obiectele sau suprafețele din mediu;

5. igiena respiratorie și eticheta de tuse (tehnica de tuse și strănut cu utilizarea de batiste de nas de unică folosință cu poziționarea la minimum 1 metru față de celelalte persoane, urmată de igiena mâinilor), ca element al precauțiilor standard care se adresează în primul rând pacienților și însoțitorilor acestora cu simptomatologie de posibilă infecție respiratorie care se aplică oricărei persoane cu asemenea manifestări când intră în unitatea sanitară. Acest element al precauțiilor standard este aplicat pentru prevenirea promptă a infecțiilor respiratorii și trebuie aplicată la intrarea în unitatea sanitară (zonele de recepție și de triaj ale pacienților).

Precauțiile adresate căii de transmitere

Măsuri de precauție care se adresează căii de transmitere a agentului patogen sunt destinate să completeze precauțiile standard la pacienții cu colonizări sau infecții, probabile sau cunoscute, cu agenți patogeni transmisibili sau cu patogeni importanți din punct de vedere epidemiologic. Aceste măsuri de precauție suplimentare sunt utilizate pentru situațiile în care calea de transmitere nu este complet întreruptă prin utilizarea precauțiilor standard.

Cele trei categorii de măsuri adresate căilor de transmitere includ:

- Căile de transmitere pentru care pot fi necesare măsuri suplimentare de precauție sunt:

1. Transmiterea prin contact:

1.1. direct, când microorganismul se poate transmite de la o persoană la alta (contactul cu produse biologice): în timpul asistenței medicale și îngrijirii bolnavului de către cadrele medicale sau în contact cu membrii familiei sau cu alți pacienți;

1.2. indirect, prin intermediul suprafețelor/obiectelor contaminate care implică transferul unui microorganism printr-o contaminare intermediară (de exemplu, contaminarea obiectelor, echipamentului, mâncării), când:

1.2.1. igiena mâinii personalului ce asigură actul medical/îngrijire este inadecvată;

1.2.2. echipamentul nu este curățat, dezinfectat sau sterilizat corespunzător între pacienți;

1.2.3. patogenii sunt transferați prin instrumentar.

2. Transmiterea prin picături:

2.1. picăturile infecțioase expulzate, atunci când se strănută sau se tușește, sunt prea grele pentru a pluti în aer și se transferă la mai puțin de 2 m de la sursă;

2.2. răspândirea picăturilor poate fi:

lege [5]

2.2.1. directă - se realizează când acestea ajung la nivelul mucoaselor sau sunt inhalate;

2.2.2. indirectă - se realizează când acestea cad pe suprafețe sau mâini și sunt transmise pe mucoase sau alimente. Acest mod de transmitere este mai frecvent și este descris în infecțiile respiratorii comune, gripă, infecții cu virus sincițial.

3. Transmiterea aeriană - transmitere care se realizează prin intermediul particulelor mici ($\leq 5\mu\text{m}$ în mărime) care transportă microbi și pot fi transferați prin intermediul curenților de aer pe o distanță mai mare de 2 m de la sursă. Aceste particule sunt inhalate (de exemplu, în cazul varicelei zoster, rujeolei și tuberculozei pulmonare).

Măsurile suplimentare de precauție care vizează calea de transmitere includ:

1. pentru transmiterea prin contact:

1.1. utilizarea echipamentului de protecție când este posibil contactul cu un mediu contaminat cu microbi rezistenți la antibiotice (de exemplu, enterococi rezistenți la vancomicină (VRE), *Staphylococcus aureus* rezistent la meticilină MRSA) sau *Clostridium difficile*;

1.2. pacientul se poate amplasa într-o rezervă singur sau într-un salon cu un alt pacient infectat cu același patogen;

1.3. la intrarea în salon trebuie purtate mănuși curate și echipament de protecție curat;

2. pentru transmiterea prin picături pacientul se amplasează într-o rezervă singur sau se cohortează într-un salon cu alți pacienți infectați cu același agent patogen.

Este necesară purtarea de protectoare faciale când se lucrează la 1-2 metri de pacient. În situația în care este necesar transportul pacientului, acestuia i se aplică o mască.

3. pentru transmiterea aeriană - plasarea pacientului într-o cameră de izolare cu presiune negativă a aerului în raport cu coridoarele, aerul fiind evacuat direct spre exterior sau recirculat prin filtre HEPA de înaltă eficiență cu 6-12 schimburi de aer pe oră.

În rezervele cu antecameră (sasuri), riscul de circulație al aerului între cameră și coridor este redus la minimum. Acest sistem este mai ușor de susținut, dar dificil de amenajat din punct de vedere arhitectonic.

În situația în care nu există astfel de facilități simpla plasare a pacientului singur într-o rezervă care să aibă grup sanitar și duș reduce riscul de transmitere.

Pentru bolile care au mai multe căi de transmitere se poate utiliza o combinație de măsuri de precauție. Fie că aceste măsuri sunt utilizate singular sau în combinație, acestea trebuie utilizate întotdeauna în plus față de precauțiile standard.

Este important de reținut:

Microorganismele care cauzează infecții asociate asistenței medicale pot să fie transmise de la pacienți infectați sau colonizate la alți pacienți și la personalului medical, de îngrijire sau auxiliar. Măsurile adecvate și aplicate în mod corespunzător pot reduce transmiterea acestora.

Măsurile se aplică în conformitate cu semnele și simptomele pacientului și în general nu se așteaptă rezultatele de laborator.

38. DIAGNOSTICUL DE LABORATOR AL INFECȚIILOR PRODUSE DE FUNGI

(MIHAI MAREȘ, OLIMPIA BAZGAN)

- | | |
|-----------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------|
| 38.1. DEFINIREA ȘI CLASIFICAREA FUNGILOR | 38.6. DIAGNOSTICUL INFECȚIILOR PRODUSE DE DERMATOFIȚI |
| 38.2. RECOLTAREA ȘI PROCESAREA PROBELOR | 38.7. DIAGNOSTICUL INFECȚIILOR PRODUSE DE FUNGI FILAMENTOSI SEPTAȚI HIALINI |
| 38.3. DIAGNOSTICUL INFECȚIILOR PRODUSE DE FUNGI NECULTIVABILI | 38.8. DIAGNOSTICUL INFECȚIILOR PRODUSE DE FUNGI FILAMENTOSI SEPTAȚI DEMATIACEI |
| 38.4. DIAGNOSTICUL INFECȚIILOR PRODUSE DE LEVURI | 38.9. DIAGNOSTICUL INFECȚIILOR PRODUSE DE FUNGI DIMORFICI |
| 38.5. DIAGNOSTICUL INFECȚIILOR PRODUSE DE FUNGI FILAMENTOSI NESEPTAȚI | |

38.1 DEFINIREA ȘI CLASIFICAREA FUNGILOR (M. MAREȘ)

Fungii sau micromiceții sunt bioentități microscopice, eucariote, uni-sau pluricelulare, heterotrofe, care conțin chitină în peretele celular. Cu siguranță, această definiție este incompletă și rămâne perfectibilă, deoarece particularitățile morfo-structurale, eco-fiziologice și de înmulțire, etalate de cele cca. 150 000 specii de fungi, fac imposibilă enunțarea unei caracterizări unitare și general valabile a acestor organisme.

Din multitudinea criteriilor de clasificare a fungilor, criteriul morfologic este cel mai cunoscut și agreat în micologia medicală. El se bazează pe aspectul și structura părții asimilatoare a fungului – talul, și permite descrierea a trei tipuri principale de micromiceți:

- Filamentoși: microorganisme pluricelulare, cu talul alcătuit din filamente tubulare, septate sau nu, denumite hife (fig. 38-1); hifele sunt de obicei ramificate și aglomerate formând miceliul;

- Levuriformi: microorganisme unicelulare, de formă rotundă sau alungită, ce se multiplică în principal prin burjeonare; burjeonul – denumit blastospor sau blastocoidie.

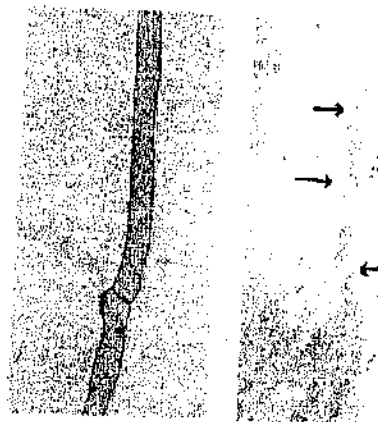


Fig. 38-1. Aspectul microscopic al hifelor nesepțate (stânga) și septate (dreapta).

fie se poate desprinde de celula-mamă printr-un proces de fisiune, fie rămâne atașat la aceasta și generează succesiv noi indivizi, sub forma unor agregate liniare cunoscute în limbajul de specialitate ca pseudohife;

• Dimorfici: o categorie aparte de microorganisme, care apar sub formă de levuri în țesuturile organismelor parazitare sau la 37°C *in vitro* și sub formă filamentoasă când sunt cultivate la temperatura camerei sau la 30°C, pe medii uzuale.

Din punct de vedere al aspectelor morfologice sesizabile prin microscopie, hifele prezintă particularități în cazul fiecărei categorii de fungi filamentoși:

- Hife nepigmentate (hialine), neseptate, cu diametru neregulat la zygomycete
- Hife septate, hialine, care dau naștere unor organe de fructificare (corpi fructificanți) uneori pigmentate *in vitro*, niciodată *in vivo*.
- Hife septate, pigmentate în brun, de regulă atât *in vivo* cât și *in vitro* (fungi dematiacei).

Un alt criteriu de clasificare a fungilor este prezența sau absența stadiului sexuat în ontogenia lor. Acest criteriu este puțin important pentru micologia clinică, dar capătă o valoare deosebită pentru micologia taxonomică. Sistematica micromiceliilor recunoaște o denumire de specie pentru forma asexuată (anamorfă) a unui fung și altă denumire de specie pentru forma sexuată (teleomorfă) a aceluiași fung.

Pe baza acestui criteriu s-a edificat taxonomia fungilor în ultimii 40-50 ani. În prezent însă, el tinde să piardă din actualitate, odată cu apariția noilor tendințe de clasificare pe baza secvențializării ADN-ului ribozomal al formelor anamorfice.

Spre deosebire de înmulțirea sexuată care se întâlnește doar la anumiți fungi (fungii perfecți), înmulțirea asexuată este comună tuturor fungilor și se face prin intermediul sporilor interni (endospori) la zygomycete și a sporilor externi (conidii) la celelalte clase. În cazul levurilor, sporii poartă denumirea de blastospori sau blastoconidii, datorită capacității lor de burjeonare.

Cu câteva decenii în urmă, vechea sistematică ce stabilea într-o manieră cvasisimplistă apartenența lumii vii la doar două regnuri (vegetal, respectiv animal) a fost abandonată. În locul acesteia, s-a impus o nouă clasificare, cu cinci regnuri, mai obiectivă și mai realistă, însă permanent perfectibilă în structura ei. Astfel, cele peste 1.400.000 de specii cunoscute au fost încadrate în regnurile: *Monera*, *Protista*, *Fungi*, *Plantae* și *Animalia*.

Fungilor li s-a atribuit un regn aparte, a cărui structură a fost obiectul a numeroase modificări și adăugiri. Acestea s-au datorat în principal faptului că organismele considerate ca aparținând în mod obișnuit fungilor sunt deosebit de complexe și diverse. Regnul *Fungi* este alcătuit din unități taxonomice majore denumite phylum-uri și diviziuni subsecvente ale acestora – clasele și ordinele.

În prezent, cele patru phylum-uri acceptate în regnul *Fungi* sunt *Chytridiomycota*, *Zygomycota*, *Ascomycota* și *Basidiomycota*.

Phylum *Chytridiomycota* cuprinde microorganisme cu tal unicelular sau micelian, al căror perete celular conține chitină. Aceste două caractere au stat la baza includerii chytridiomicetelor în regnul *Fungi*. Însă prezența gameților sau a meiosporilor flagelați, deci mobili, produși în zoosporange, a determinat controverse vii între taxonomiști, determinând includerea acestor microorganisme în regnul *Protoctista*. Investigații recente,

P. DĂNCESCU

LABORATORUL CLINIC

PARAZITOLOGIE

EDITURA MEDICALĂ

3. — Metode de determinare a încărcării parazitare

Încărcarea parazitată sau numărul de helminți găzduți de o persoană, interesează numai cazuistic laboratorul clinic. În schimb, pentru epidemiologie, încărcarea parazitată medie a unei populații, coroborată cu cifra incidenței, arată volumul de infestare a unei ipopulații. De aceea determinarea încărcării parazitare are aplicare practică numai în laboratorul de epidemiologie.

Încărcarea parazitată se poate determina, fie recuperând helminții de la cadavru, deschizând tubul digestiv (determinarea *încărcării parazitare absolute*), fie recuperând helminții eliminați după tratament (determinarea *încărcării parazitare relative*) deoarece este posibil ca nu toate exemplarele de helminți să fi fost eliminate după tratament.

II. EXAMINAREA PROBEI DE MATERII FECALE

Schema de examinare. Pentru fiecare probă de materii se vor efectua următoarele tehnici de examinare, necesare pentru a obține un rezultat multumitor:

- examen macroscopic;
- examen microscopic:
 - preparat direct în ser fiziologic;
 - preparat direct în soluție Lugol;
 - preparat de concentrare în strat gros Kato și Miura.

De caz la caz, în funcție de datele clinice și de parazitoza suspectată, se vor efectua tehnici suplimentare:

- în suspiciunea sau în controlul după tratament al himenolepidozei sau anchilostomiazii:
 - preparat Willis-Hung;
- în suspiciunea unor helmintiaze mai rare (fascioloza) sau mai greu de pus în evidență (teniozele) etc:
 - preparat Baillenger;
- în suspiciunea strongiloidozei, anchilostomiazii:
 - preparate larvoscopice;
- în suspiciunea amibiazei și a altor protozooze:
 - preparate pentru protozoare (colorații, culturi);
- în prezența ouălor de *Trichuris trichiura* sau *Ankylostoma duodenale*:
 - determinarea intensității parazitare.

De asemenea de la caz la caz se vor efectua preparate paracoprologice:

- în suspiciunea oxiuozei sau a teniozei de carne de vită;
- amprenta anală.

Material necesar. Pe lângă materialul obișnuit de laborator, se vor utiliza:

- baghete diferite (material plastic, lemn, trestie, sticlă, ansă metalică)
- un pahar conic cu amestec oxidant pentru pipete;
- cristalizor cu amestec oxidant pentru lame;
- xilol și alcool în sticle cu dop rodat picător;
- tavă metalică cu dimensiuni 15/25 cm cu margini ridicate drepte înalte de 0,5—1 cm pentru transportul preparatelor la microscop.

EXAMENUL MACROSCOPIC

Examenul macroscopic nu trebuie neglijat niciodată. Examinarea se face direct în recipientul în care s-a prelevat proba, cu ochiul liber, sau cu lupa de mână, ajutându-ne cu o baghetă de sticlă sau cu o ansă. Se notează:

- cantitatea scaunului;
- culoare, miros, aspecte de amănunt ca prezența de elemente deosebite sau suspecte de a fi parazitare, prezența de elemente patologice ca mucus, puroi, sînge etc.
- consistența*:
 - F = scaun format (păstrează forma intestinului)
 - SF = scaun semiformat (se turtește în vas)
 - M = scaun moale (curge în vas)
 - D = diareic (apos).

Notarea consistenței este necesară pentru corectarea datelor obținute prin examenul preparatului Stoll.

EXAMENUL MICROSCOPIC

Examenul microscopic reprezintă partea principală a examenului coproparazitologic, deoarece permite decelarea elementelor parazitare specifice. Cînd aceste elemente sînt foarte puțin frecvente, cum este cazul adeseori, este necesară utilizarea metodelor de concentrare.

Dintre numeroasele tehnici directe și de concentrare care ne stau la dispoziție, trebuie să alegem pe acelea adecvate scopului.

A. METODE DIRECTE DE EXAMINARE

Se examinează între lamă și lamelă o cantitate mică de materii fecale, prelevată din diferite părți ale scaunului, amestecată într-un lichid. Cantitatea de materie cuprinsă într-un preparat direct este aproximativ 1,5—2 mg. Această cantitate se apreciază după concentrația suspensiei obținute, care trebuie să fie suficientă pentru a da aspect tulbure și culoare brună deschis preparatului, dar în același timp să fie suficient de mică pentru a da preparatului transparență, astfel încît, dacă așezăm preparatul peste un ziar, să se vadă prin transparență literele tipărite.

1. — Preparat direct în ser fiziologic

Principiu: suspensia de materie se face în ser fiziologic, care păstrează viabilitatea trofozoitilor de protozoare sau a larvelor de helminți, precum și culoarea naturală a elementelor parazitare.

Tehnica de lucru: pe o lamă se pune o picătură de ser fiziologic. Cu ajutorul unei anse metalice sau a unei baghete se prelevă o mică cantitate din proba de examinat și se amestecă pe lamă cu picătura de ser fiziologic. Se acoperă cu o lamelă.

Preparatul trebuie examinat cît mai repede deoarece odată uscat, devine imposibil de citit.

Trebuie să se utilizeze lamele de 20/20 mm dimensiuni, astfel încît marginile lor să fie cuprinse înăuntrul marginilor lamei.

* După documentele OMS privind metodologia investigării anchilostomiazii.

Suspensia trebuie să fie uniformă iar lamela așezată orizontal, nu inclinat.

Tehnica de examinare: preparatul se examinează în întregime, deplasând lama în fișii orizontale cu ajutorul cursorilor platinei.

Examinarea se face cu obiectiv 10 X iar identificarea fiecărui element parazitar decelat se face cu obiectivul 40 X. Utilizăm oculare 10 X.

Rezultate: în preparatul direct se poate decela și identifica orice element parazitar, cu condiția ca intensitatea parazitării a probei să fie suficientă. Metoda este astfel universală. Indicații speciale: decelarea trofozoitilor de protozoare vii, care au mișcări caracteristice (amibe, flagelate, ciliate).

Chiștii de protozoare apar foarte refringenti și de aceea se decelează cu ușurință, în schimb este dificil să ne pronunțăm asupra identității lor deoarece nu prezintă detalii de structură, așa cum prezintă în soluția Lugol.

Ouăle de helminți prezintă toate detaliile de structură și culoarea reală. În ouăle embrionate ca cele de tenie, himenolepis, oxiur cu larvă, se observă mișcările periodice ale larvei sau embrionului.

Larvele rabditoide de *S. stercoralis* prezintă mișcări vioaie și se deplasează repede sub lamelă. De aceea în suspensiunea strongiloidozei examinarea se face cu un ocular 10 X și un obiectiv cit mai mic, 6 X sau eventual 2,5 X, pentru a cuprinde cit mai mult în câmpul microscopic.

În fine, preparatul direct ne oferă posibilitatea să determinăm aproximativ, dar foarte comod, intensitatea parazitării, numărând sau apreciind numărul de ouă ale unei specii de helminț pe întreaga suprafață a lamelei, sau numărul de chiști de protozoare pe câmpul microscopic cu obiectivul 10 X.

2. — Preparat în soluția Lugol

Principiu: soluție Lugol colorează membrana chiștilor și detaliile de structură internă. Colorează de asemenea amidonul în diferite culori în funcție de stadiul de digestie.

Material necesar: soluție Lugol dublu:

- | | |
|---------------------|--------|
| — iod metaloid | 1 g |
| — iodură de potasiu | 2 g |
| — apă distilată ad | 100 ml |

Se dizolvă iodura de potasiu într-o cantitate mică de apă, se adaugă iodul, se dizolvă, se completează la 100 ml apă. În caz că iodul nu se dizolvă bine în soluția inițială foarte concentrată de iodură de potasiu, se adaugă o foarte mică cantitate de alcool.

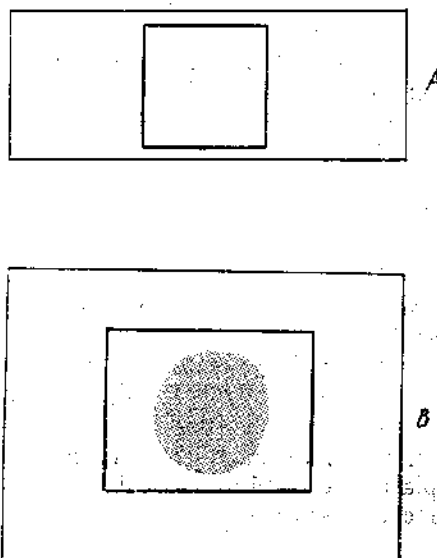


Fig. 7. — Preparat direct (A) și preparatul Kato-Miura (B).

Tehnica de lucru este identică cu a preparatului de mai sus, cu deosebirea că în loc de ser fiziologic se utilizează soluția Lugol.

Examinarea este asemănătoare, dar o parte din preparat se examinează integral cu obiectivul 40 X.

Rezultate: chiștii de protozoare se colorează în galben-brun și prezintă detalii de structură accentuate: membrana chistică, nucleii, cariozomi, vacuole iodofile, grup de flageli, corpusele parabazale. Trofozoizii de protozoare sînt omorîți și, în lipsa mișcărilor caracteristice, devin greu de identificat. Ouăle de helminți apar colorate în brun-roșcat intens, cu detalii de structură accentuate. Larvele de *Strongyloides stercoralis* sînt morte, drepte, cu detalii de structură foarte nete.

3. — Colorații vitale

Există un număr important de coloranți utilizați pentru colorații vitale ale elementelor parazitare: eozina, roșu neutru, albastru de tripan etc. Tehnica de preparare este ca pentru preparatul direct.

Colorația cu eozină 2% în ser fiziologic ne oferă date asupra viabilității paraziților. Amibe și chiștii vii nu se colorează.

Colorația cu roșu neutru 1/10 000 în ser fiziologic, pentru examinarea amibelor. Se examinează cu un obiectiv puternic. *E. histolytica* apare cu endoplasma colorată în roz, ectoplasma rămînînd necolorată. Amibe banale apar incolore sau cenușii.

4. — Frotiu colorat

Reprezintă o metodă secundară dar interesantă de examinare microscopică. Se efectuează un frotiu subțire pe o lamă, din glere mucoase, striuri, scaunul diareic, scaunul semiformat sau format, diluat în ser fiziologic.

Se colorează cu metoda panoptică cu colorații May-Grünwald-Giemsa (vezi examenul parazitologic al singelui), se examinează la microscop cu obiectiv 10 X, 40 X și imersie.

Se pot decela protozoare, trofozoizi sau chiști. În chiști se distinge nucleul sau nucleii în citoplasmă. Nucleul apare roșu, citoplasma violet-albastră.

B. METODE DE EXAMINARE ÎN STRAT GROS

Există mai multe metode de examinare a unui strat gros de materie clarificată, reprezentînd avantajul că ouăle de helminți apar mult mai numeroase. Dintre aceste metode, cea mai comodă și mai eficientă a fost descrisă de Kato și Miura.

1. — Preparatul Kato și Miura

Principiu: o cantitate de materie aproximativ cît un bob de grâu (aprox. 50 mg) clarificată cu un amestec de apă-glicerină, lasă să se vadă prin transparență ouăle de helminți.

Materiale necesare: soluția Kato — Miura:

— glicerină	50 ml
— apă distilată	50 ml
— verde malachit soluție apoasă 3%	0,5 ml.

Sînt necesare de asemenea dreptunghiuri de celofan tăiate cu dimensiunile $3/4$ cm și lame de sticlă mari de dimensiuni $5/10$ cm.

Tehnica de lucru: dreptunghiurile de celofan se cufundă și se mențin cel puțin 24 ore în soluția Kato înainte de utilizare și în continuare timp indefinit.

Se ia cu o baghetă o cantitate de materii cit un bob de grîu și se așază pe o lamă mare. Se ridică cu o pensă un dreptunghi de celofan din soluția Kato și se așază peste materii. Se presează celofanul cu un corp tare și plat (rondela unui dop de cauciuc, sau fundul unei cutiute de lamele) pînă cînd preparatul devine plat iar materiile de sub celofan se prezintă ca un disc cu dimensiuni de aproximativ 1,5—2,5 cm.

Se lasă preparatul 30 minute pe masă.

Se examinează la microscop cu obiectiv $10\times$ și $40\times$, ridicînd condensorul microscopului și utilizînd în special viza macrometrică a lunetei.

Rezultate: toate ouăle și embrioforii de helminți sînt decelabili prin metoda Kato. Ouăle sînt de 5—20 ori mai frecvente decît în preparatul direct. Pentru mai bune rezultate se pot examina 2—3 preparate Kato, din aceeași probă.

Pentru parazitozele autohtone, preparatul Kato ne oferă rezultate foarte bune în special pentru:

— depistarea frecvenței helmintiazelor în masă, în special a parazitului *T. trichiura*;

— depistarea în laboratorul clinic a purtătorilor de femele de *A. lumbricoides*, care depun ouă nefecundate, mai puțin numeroase;

— completarea metodologiei de investigare a focarului de *T. solium*;

— controlul după tratament în ascariază, trihuriază etc. cînd paraziții eventual rămași au ponta parțial inhibată.

În privința numărului de preparate care trebuie examinate din aceeași probă, în suspiciunea ascariazei, trihuriazei, fasciozei sau botriocefalozei, în general un singur preparat este suficient pentru a preciza diagnosticul. În schimb însă, în suspiciunea himenolepidozei, anchilostomiazei, și mai cu seamă a teniazei, tricostrongilozei ș.a. este indicat să se examineze 2—3 preparate Kato din aceeași probă.

În privința detaliilor de structură, unele ouă prezintă anumite particularități, pe care le prezentăm mai jos.

Ouăle de *T. trichiura* apar uneori decolorate iar altele, cînd sînt așezate perpendicular pe grosimea preparatului, se văd în secțiune, deci rotunde și foarte mici, de 25 μ diametru. În acest caz identificarea oului se obține mișcînd mult viza micrometrică, cînd se poate recunoaște cu ușurință forma ovală a oului precum și cele două formațiuni polare mai transparente.

Oul de *A. lumbricoides* apare uneori cu invelișul mamelonat estompat. În preparatele păstrate cîteva zile se observă primele faze de evoluție a ouălor fecundate.

Oul de *D. latum* și mai rar de *F. hepatica* prezintă uneori o turtire laterală ca o cută; forma oului și prezența operculului servesc la identificare.

EXAMENUL AMPRENTEI ANALE

Examenul amprentei anale ne oferă posibilitatea diagnosticului oxiruoziei și a teniazei de carne de vită, deocelnd ouăle de parazii. Există mai multe metode de recoltare a amprentei anale, cu celofan, cu pelicula de colodiu, cu celofan adeziv.

Tehnica Graham cu celofan adeziv

Principiu: examenul amprentei anale pune în evidență ouăle de oxiruizi (*Enterobius vermicularis*) depuse de parazit în pliturile anale și ouăle de *Taenia saginata* lăstate în urmă de proglotele izolate, care părăsesc activ, între scaune, tubul digestiv al omului.

Recoltarea: se face dimineața, înainte ca bolnavul să fi defecat sau să-și fi făcut toaleta perineală. Poziția bolnavului este în picioare, aplecat înainte, depărtându-și fesele cu minile.

Se derulează o bandă de celofan adeziv (scotch) de 10 cm lungime și se așază peste capătul unei baghete de sticlă rotunjită, cu partea lipicioasă în afară. Se aplică celofanul cu bagheta în jurul anusului și se introduce în anus 0,5 cm și, fără să se răsucescă bagheta, se apasă ușor în lături, deschizându-se astfel pliturile anale.

După recoltare, celofanul adeziv se lipește imediat pe o lamă pe care s-a scris numele bolnavului sau numărul de ordine.

Transportul la distanță se face în pachete în hirtie, fără alte măsuri speciale.

Examinarea se face la microscop cu obiectiv 10 X și 40 X și ocular 10 X. În amprenta anală se observă celule de descuamație a mucoasei, resturi de materii fecale și ouă de parazii. În cazul în care descuamațiile epiteliale sînt foarte bogate și împiedică examinarea, se desprinde banda de celofan adeziv pe trei sferturi de pe lamă și se pune dedesubt o picătură de xilol, iar apoi banda se așază la loc. Xilolul clarifică fondul preparatului, iar ouăle sînt mai evidente.

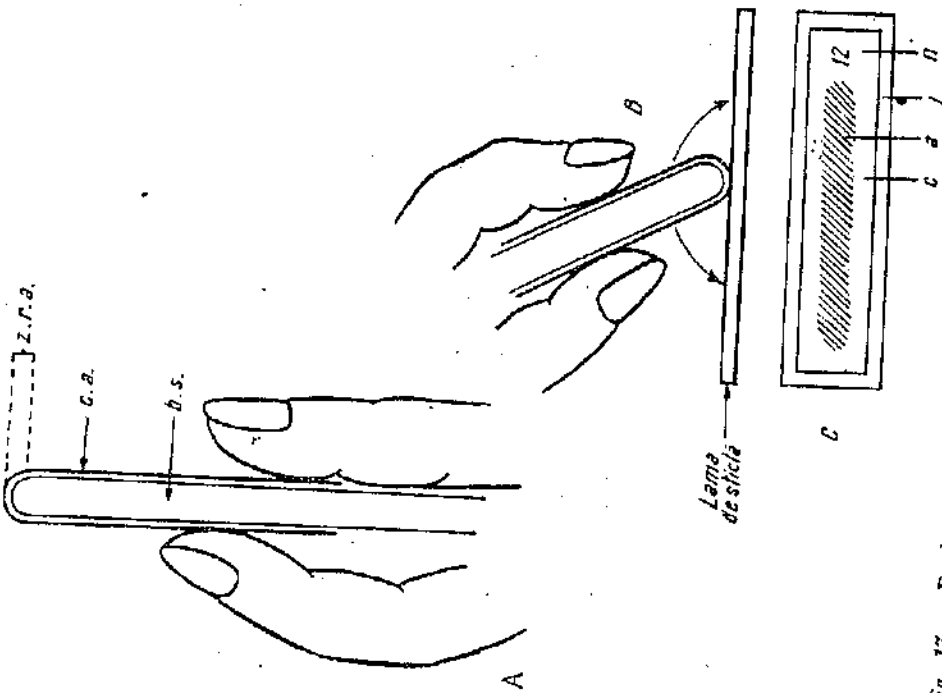


Fig. 17. — Bagheta Graham de recoltare a amprentei anale.
A = minuirea baghetei; z.a.a. = zona de recoltare a amprentei anale; c.a. = celofan adeziv; b.s. = bagheta de sticlă sau material plastic; B. = intrarea celofanului pe lamă; C = preparatul final pentru examinare; l = lama de sticlă; a = amprenta; n = număr de ordine.

EXAMENUL PARAZITOLIC AL SECREȚIEI VAGINALE ȘI URETRALE

Există un singur parazit care poate fi pus în evidență în secreția vaginală și uretrală: *Trichomonas vaginalis*.

Recoltarea produsului de examinat este diferită în funcție de sexul bolnavului, vîrstă, forma clinică.

Recoltarea la femeie se face pe masa ginecologică în cabinetul de ginecologie iar în laborator se face pe canapeaua de consultații. Condițiile unui examen corect al secreției vaginale sînt ca recoltarea să se facă:

- în primele zile postmenstruale;
- la 48 ore după ultima spălătură sau raport sexual;
- la 6—7 zile după tratament local.

Condițiile unei recoltări corecte din uretră, vezica urinară, glandele Skane și Bartolin sînt ca să se recolteze la 12 ore după ultima micțiune, indiferent de perioada ciclului menstrual.

Tehnica de recoltare la femeie. Din vagin prelevarea se face la nivele diferite, din fundul de sac lateral sau posterior și din glande sub control vizual cu speculul introdus fără lubrefiante. La femeile care suferă de o vaginită foarte accentuată, nu se utilizează speculul iar recoltarea se face orb.

Prelevarea se face cu o ansă bacteriologică sau cu o spatulă sterilă. Dacă leucoreea este foarte bogată se aspiră cu o pipetă sterilă, prevăzută cu o pară de cauciuc și rotunjită la capătul ascuțit.

Recoltarea la fete și virgine. Se prelevă exsudatul vaginal în perioada de exacerbare a manifestărilor clinice.

Recoltarea la bărbat se face dimineața, înainte de micțiune, prelevîndu-se exsudatul purulent matinal spontan. În absența acestui exsudat se prelevă cu ansa racîndu-se ușor mucoasa, sau secreția care apare după masaj prostatic la 48 ore de repaus sexual, sau lichidul spermatic.

Transportul: examenul se face imediat după recoltare. Dacă este nevoie de așteptat, se amestecă secreția recoltată cu 1—2 ml ser fiziologic într-un recipient steril de sticlă și se poate examina după 2—3 ore.

METODE DE EXAMINARE

1 — Preparat direct: pe o lamă, într-o picătură de ser fiziologic steril, se amestecă o picătură de secreție. Se acoperă cu lamela și se examinează la microscop cu obiectiv 10 X pentru decelarea paraziților și 40 X pentru identificare.

T. vaginalis se identifică cu ușurință după formă, dimensiuni și mișcările caracteristice.

2 — Frotiu colorat: pe o lamă degresată se întinde un frotiu cu ansă din secreția ca atare sau diluată în ser fiziologic în funcție de cantitatea și consistența secreției. Frotiul trebuie să fie subțire. Se colorează cu May-Grünwald—Giemsa. Se examinează cu obiectiv cu imersie.

Rezultate: citoplasma parazitului apare colorată în albastru-violet iar nucleul și flagelii în roșu-violet. Preparatul servește în același timp pentru examenul citologic vaginal.

3 — Culturi pe mediul Loeffler se utilizează numai când examenul direct sau frotiul colorat au fost negative, în cazuri în care avem suspiciunea tri-
chomoniazii.

Materiale necesare: tuburi cu mediul Loeffler

- amidon de orez
- penicilină și streptomycină
- acid clorhidric 10%.

Tehnica de lucru: în tuburile cu mediul Loeffler înclinat se adaugă ser fiziologic steril până la un nivel reprezentând 1/2 din înălțimea mediului solid. Se corectează la pH = 4—5 cu 1—2 picături acid clorhidric 10%. Se adaugă o ansă (un grăunte mic cit se poate lua cu o ansă metalică) de pulbere de streptomycină, o ansă de penicilină și o ansă de amidon de orez. Se încălzește tubul de termostat la 37°C.

Se însămânțează în tub o cantitate cit mai mare din secreția vaginală, se agită ușor și se pune tubul la termostat la 37°C.

Controlul culturilor se face la 24, 48 și la 72 ore, după care, dacă rezultatul este negativ, tuburile se aruncă. Pentru control se prelevează o picătură de lichid cu o pipetă Pasteur, după ce s-a agitat bine tubul. Se examinează între lamă și lamelă cu obiectiv 10 X și 40 X.

Rezultate: paraziții se multiplică și se recunosc cu ușurință după dimensiuni, forma corpului și mișcările caracteristice. Paraziții cei mai mobili se observă la 24 ore de la însămânțare.

N.B. Orice examen al secreției vaginale trebuie însoțit de un examen micologic pe mediul cu KOH, preparat colorat cu albastru de metilen și cu preparat colorat Gram.

EXAMENUL PARAZITOLIC AL SECREȚIEI VAGINALE ȘI URETRALE

Există un singur parazit care poate fi pus în evidență în secreția vaginală și uretrală: *Trichomonas vaginalis*.

Recoltarea produsului de examinat este diferită în funcție de sexul bolnavului, vîrstă, forma clinică.

Recoltarea la femeie se face pe masa ginecologică în cabinetul de ginecologie iar în laborator se face pe canapeaua de consultații. Condițiile unui examen corect al secreției vaginale sînt ca recoltarea să se facă:

- în primele zile postmenstruale;
- la 48 ore după ultima spălătură sau raport sexual;
- la 6—7 zile după tratament local.

Condițiile unei recoltări corecte din uretră, vezica urinară, glandele Skane și Bartolin sînt ca să se recolteze la 12 ore după ultima micțiune, indiferent de perioada ciclului menstrual.

Tehnica de recoltare la femeie. Din vagin prelevarea se face la nivele diferite, din fundul de sac lateral sau posterior și din glande sub control vizual cu speculul introdus fără lubrefiante. La femeile care suferă de o vaginită foarte accentuată, nu se utilizează speculul iar recoltarea se face orb.

Prelevarea se face cu o ansă bacteriologică sau cu o spatulă sterilă. Dacă leucoreea este foarte bogată se aspiră cu o pipetă sterilă, prevăzută cu o pară de cauciuc și rotunjită la capătul ascuțit.

Recoltarea la fetițe și virgine. Se prelevă exsudatul vaginal în perioada de exacerbare a manifestărilor clinice.

Recoltarea la bărbat se face dimineața, înainte de micțiune, prelevîndu-se exsudatul purulent matinal spontan. În absența acestui exsudat se prelevă cu ansa raelîndu-se ușor mucoasa, sau secreția care apare după masaj prostatic la 48 ore de repaus sexual, sau lichidul spermatic.

Transportul: examenul se face imediat după recoltare. Dacă este nevoie de așteptat, se amestecă secreția recoltată cu 1—2 ml ser fiziologic într-un recipient steril de sticlă și se poate examina după 2—3 ore.

METODE DE EXAMINARE

1 — Preparat direct: pe o lamă, într-o picătură de ser fiziologic steril, se amestecă o picătură de secreție. Se acoperă cu lamela și se examinează la microscop cu obiectiv 10 X pentru decelarea paraziților și 40 X pentru identificare.

T. vaginalis se identifică cu ușurință după formă, dimensiuni și mișcările caracteristice.

2 — Frotiu colorat: pe o lamă degresată se întinde un frotiu cu ansă din secreția ca atare sau diluată în ser fiziologic în funcție de cantitatea și consistența secreției. Frotiul trebuie să fie subțire. Se colorează cu May Grünwald — Giemsa. Se examinează cu obiectiv cu imersie.

Rezultate: citoplasma parazitului apare colorată în albastru-violet iar nucleul și flagelii în roșu-violet. Preparatul servește în același timp pentru examenul citologic vaginal.

3 — Culturi pe mediul Loeffler se utilizează numai când examenul direct sau frotiul colorat au fost negative, în cazuri în care avem suspiciunea trichomoniazii.

Materiale necesare: tuburi cu mediul Loeffler

- amidon de orez
- penicilină și streptomycină
- acid clorhidric 10%.

Tehnica de lucru: în tuburile cu mediul Loeffler înclinat se adaugă ser fiziologic steril până la un nivel reprezentând 1/2 din înălțimea mediului solid. Se corectează la pH = 4—5 cu 1—2 picături acid clorhidric 10%. Se adaugă o ansă (un grăunte mic cit se poate lua cu o ansă metalică) de pulbere de streptomycină, o ansă de penicilină și o ansă de amidon de orez. Se încălzește tubul de termostat la 37°C.

Se însămânțează în tub o cantitate cât mai mare din secreția vaginală, se agită ușor și se pune tubul la termostat la 37°C.

Controlul culturilor se face la 24, 48 și la 72 ore, după care, dacă rezultatul este negativ, tuburile se aruncă. Pentru control se prelevează o picătură de lichid cu o pipetă Pasteur, după ce s-a agitat bine tubul. Se examinează între lamă și lamelă cu obiectiv 10 X și 40 X.

Rezultate: paraziții se multiplică și se recunosc cu ușurință după dimensiuni, forma corpului și mișcările caracteristice. Paraziții cei mai mobili se observă la 24 ore de la însămânțare.

N.B. Orice examen al secreției vaginale trebuie însoțit de un examen micologic pe mediul cu KOH, preparat colorat cu albastru de metilen și cu preparat colorat Gram.

EXAMENUL AMPRENTEI ANALE

Examenul amprentei anale ne oferă posibilitatea diagnosticului oxiiurozei și a teniazei de carne de vită, decelând ouăle de paraziti. Există mai multe metode de recoltare a amprentei anale, cu celofan, cu pellicula de colodiu, cu celofan adeziv.

Tehnica Graham cu celofan adeziv

Principiu: examenul amprentei anale pune în evidență ouăle de oxiiuri (*Enterobius vermicularis*) depuse de parazit în pliurile anale și ouăle de *Taenia saginata* lăsate în urmă de proglotele izolate, care părăsesc activ, între scaune, tubul digestiv al omului.

Recoltarea: se face dimineața, înainte ca bolnavul să fi defecat sau să-și fi făcut toaleta perineală. Poziția bolnavului este în picioare, aplecat înainte, depărtându-și feșele cu mâinile.

Se derulează o bandă de celofan adeziv (scotch) de 10 cm lungime și se așază peste capătul unei baghete de sticlă rotunjită, cu partea lipicioasă în afară. Se aplică celofanul cu bagheta în jurul anusului și se introduce în anus 0,5 cm și, fără să se răsucescă bagheta, se apasă ușor în lături, deschi-zându-se astfel pliurile anale.

După recoltare, celofanul adeziv se lipește imediat pe o lamă pe care s-a scris numele bolnavului sau numărul de ordine.

Transportul la distanță se face în pachete în hirtie, fără alte măsuri speciale.

Examinarea se face la microscop cu obiectiv $10 \times$ și $40 \times$ și ocular $10 \times$. În amprenta anală se observă celule de descumăție a mucoasei, resturi de materii fecale și ouă de paraziti. În cazul în care descumățiile epiteliale sînt foarte bogate și împiedică examinarea, se desprinde banda de celofan adeziv pe trei sferturi de pe lamă și se pune deșesub o picătură de xilol, iar apoi banda se așază la loc. Xilolul clarifică fondul preparatului, iar ouăle sînt mai evidente.

de rezultat nega, cînd avem suspiciunea clinică a prezenței acestor paraziti, examenul se repetă de 3-4 ori la interval de 7-10 zile, respectînd așa-

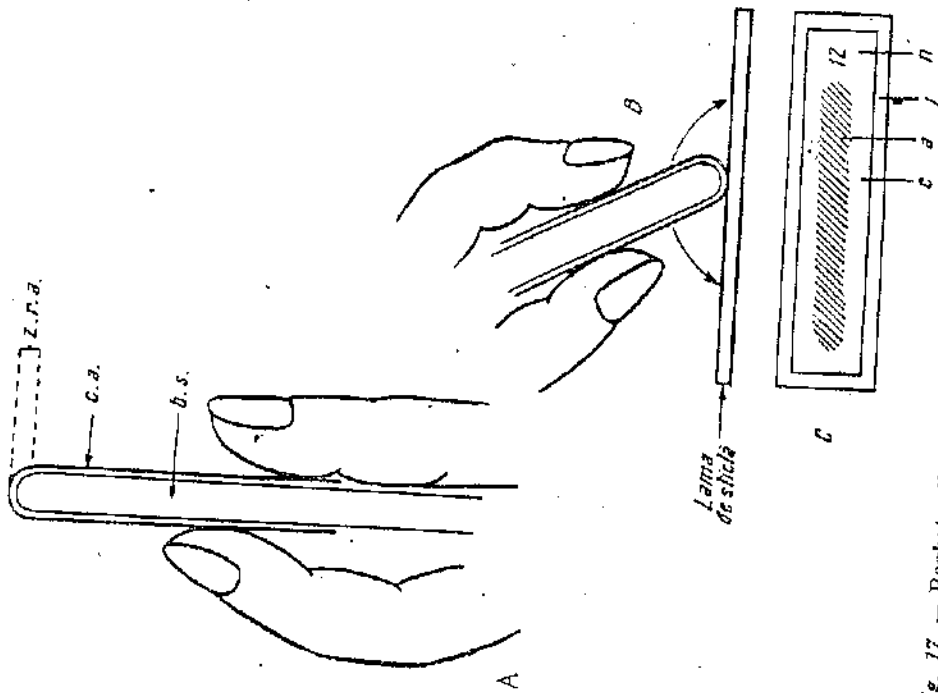




Fig. 17. — Bagheta Graham de recoltare a amprentei anale.
A = minuirea baghetei; z.r.g. = zona de recoltare a amprentei anale; c.e.a. = celofan adeziv; b.s. = bagheta de sticlă sau material plastic; e.o. = lamă de sticlă; c = celofan; a = amprenta; n = număr de ordine.

SPITALUL CLINIC JUDEȚEAN DE URGENȚĂ CLUJ   LABORATOR ANALIZE MEDICALE LABORATOR CENTRAL	Cod MRP-LAM	Ed. 04	Rev. 0
	MANUALUL DE RECOLTARE PROBE		
	Ex. necontrolat		
Pagina: 1 din 72			

MANUALUL DE RECOLTARE PROBE

Aprobat: Manager General

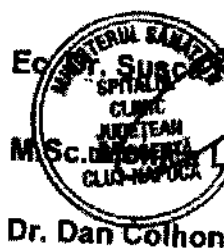
Verificat și avizat: Director Îngrijiri

Șef Laborator

Întocmit: RMC, Dr. Mariana Coca
 Dr. COCA MARIANA
 medic laborator clinic
 149204

As. șef Livia Weiss

Weiss



M.Sc. Lămița Costin

Dr. Dan Colhon



Dr. Marius Dan Colhon
 medic primar laborator
 024810

Precizări:

Acest document conține informații care sunt proprietatea Spitalului Clinic Județean de Urgență Cluj, Laborator Central

Se interzice multiplicarea, modificarea sau difuzarea procedurii fără acordul managementului laboratorului


Data intrării în vigoare: **15.05.2018**

SPITALUL CLINIC JUDEȚEAN DE URGENȚĂ CLUJ   LABORATOR ANALIZE MEDICALE LABORATOR CENTRAL	Cod MRP-LAM		Ed. 04	Rev. 0	
	MANUALUL DE RECOLTARE PROBE			Ex. necontrolat	
				Pagina: 2 din 72	



LISTĂ DIFUZARE /RETRAGERE

Nr. crt.	Editie/Revizie/ Exemplar		Destinatar	Confirmare primire		Confirmare retragere	
	Format Scris	Format Electronic		semnatura	data	semnatura	data
1	Ed.04 rev 0/ ex.0	Ed.04 rev 0/ ex.0	Manager Calitate lab.		15.05. 2018		
2.		Ed.04 rev 0/ ex.1	Șef Laborator		15.05. 2018		
3.		Ed.04 rev 0/ ex.2	Director Îngrijiri		15.05. 2018		
4.		Ed.04 rev 0/ ex. necontrolat	Secții clinice		15.05. 2018		

Autorul difuzării/retragerii: Dr. Mariana Coca, RMC
As.șefă Livia Weiss




Dr. COCA MARIANA
 Dr. COCA Laborator Clin.
 medic lab 449204
 449

Weiss

SPITALUL CLINIC JUDEȚEAN DE URGENȚĂ CLUJ   LABORATOR ANALIZE MEDICALE LABORATOR CENTRAL	Cod MRP-LAM		Ed. 04	Rev. 0	
	MANUALUL DE RECOLTARE PROBE			Ex. necontrolat	
					Pagina: 3 din 72



INDICATORUL REVIZIILOR

Ediția/Revizia	Conținutul modificării	Autorul redactării	Data
Ed.01 rev.0	Ediție inițială Conform SR EN ISO 15189:2007	RMC, Dr. Coca Mariana As.lic.Băra Rafila	01.06.2010
Ed.02 rev.0	Ediție nouă Conform SR EN ISO 15189:2007	Dr. Coca Mariana As.șefă Livia Weiss	08.02.2011
Ed.02 rev.01	Ediție revizuită Conform SR EN ISO 15189:2007	Dr. Coca Mariana As.șefă Livia Weiss	03.09.2012
Ed.02 rev.01	Ediție Conform SR EN ISO 15189:2013	Dr. Mariana Coca Dr. Anca Goina As.șefă Livia Weiss	05.01.2015
Ed.03 rev.0	Ediție nouă Conform SR EN ISO 15189:2013 (completări pag. 14-15, 20-21, 22-25, 27, 35-38, 49-53)	Dr. Mariana Coca Dr. Anca Goina As.șefă Livia Weiss	01.11.2016
Ed.03 rev.01	Ediție revizuită Conform SR EN ISO 15189:2013 Retras subcap.5.1.1 (solicitarea analizelor), cap.5.3., 5.4., 5.5	Dr. Mariana Coca Dr. Anca Goina As.șefă Livia Weiss	01.12.2016
Ed.03 rev.02	Ediție revizuită Conform SR EN ISO 15189:2013 Revizuire subcap.5.1.3 (Recoltarea sangelui pentru determinari serologice/plasmatice)	Dr. Mariana Coca As.șefă Livia Weiss	01.07.2017
Ed.04 rev.0	Ediție nouă Conform SR EN ISO 15189:2013 și CLSI-GP41	Dr. Mariana Coca Dr.Brudașcă Ioana As.șefă Livia Weiss	15.05.2018

SPITALUL CLINIC JUDEȚEAN DE URGENȚĂ CLUJ   LABORATOR ANALIZE MEDICALE LABORATOR CENTRAL	Cod MRP-LAM	Ed. 04	Rev. 0
	MANUALUL DE RECOLTARE PROBE		Ex. necontrolat
			Pagina: 4 din 72

CUPRINS

1. SCOP	5
2. DOMENIUL DE APLICARE	5
3. DOCUMENTE DE REFERINȚĂ	5
4. DEFINIȚII ȘI PRESCURTĂRI	5
5. DESCRIEREA ACTIVITĂȚII	6
Capitolul I - RECOLTARE PROBELOR BIOLOGICE- Considerații generale	7
1. Corespondența între proba biologică (produsul patologic), sistemul de recoltare și analizele solicitate	7
2. Procesul recoltării de probe biologice	11
Capitolul II - RECOLTAREA DE SÂNGE PRIN PUNCȚIE VENOASĂ	18
A. Etapele recoltării	18
B. Considerații speciale asupra modului de recoltare prin punctia venoasă	27
C. Variabilele preanalitice legate de modul de recoltare, prelucrare, stocare și transport al probelor	28
Capitolul III - ALTE TIPURI DE RECOLTĂRI	30
1. Recoltarea sângelui pentru determinarea gazelor sanguine (ASTRUP)	30
2. Recoltarea sângelui pentru hemocultură	31
3. Recoltarea urinei pentru determinări fizico-chimice, microscopice și bacteriologice	32
4. Recoltarea materialelor fecale pentru determinări fizico-chimice, parazitologice, bacteriologice	36
5. Recoltarea lichidului cefalorahidian	38
6. Recoltarea produselor patologice pentru examen bacteriologic	39
7. Recoltarea probelor pentru determinări imunologice	44
8. Recoltarea probelor pentru hormoni	52
Capitolul IV - CONSERVAREA ȘI STABILITATEA PROBELOR	52
1. Stabilitatea probelor până la prelucrare	52
2. Timp de păstrare probe post-examinare	56
Capitolul V - TRANSPORTUL PROBELOR	59
1. Generalități	59
2. Instrucțiuni de transport	61
6. RESPONSABILITATI	63
7. ANEXE	63
GHIDUL PACIENTULUI	64

SPITALUL CLINIC JUDEȚEAN DE URGENȚĂ CLUJ   LABORATOR ANALIZE MEDICALE LABORATOR CENTRAL	Cod MRP-LAM		Ed. 04	Rev. 0	
	MANUALUL DE RECOLTARE PROBE			Ex. necontrolat	
				Pagina: 5 din 72	

1. SCOP

Prezentul manual descrie modul în care se efectuează recoltarea, transportul și conservarea produselor biologice până în momentul procesării analitice, astfel încât să influențeze cât mai puțin rezultatul analizelor efectuate de **Laboratorul de Analize Medicale al SCJU Cluj**.

2. DOMENIUL DE APLICARE

Manualul se aplică de către:

- întreg personalul implicat în recoltarea și transportul probelor biologice primare din cadrul secțiilor clinice deservite de Laboratorului de Analize Medicale al SCJU în vederea respectării modului de prelevare a produselor biologice, în funcție de tipul investigației solicitate.
- personalul punctelor externe de recoltare și de către întregul personal al Laboratorului de Analize Medicale al SCJU în vederea asigurării de probe biologice corespunzătoare efectuării de analize.

3. REFERINȚE NORMATIVE

3.1 Manualul Calității – cod MC-LAM

3.2 SR EN ISO 15189:2013 "Laboratoare medicale. Cerințe pentru calitate și competență"

3.3 SR ISO 15190: 2005 "Laboratoare medicale. Cerințe pentru securitate"

3.4 SR EN ISO 9000:2006 "Sisteme de management al calității. Principii fundamentale și vocabular"

3.5. "Tratat de microbiologie clinică". D. Buiuc. M. Neguț. Editura Medicală București 1999

3.6. "Maximum permissible transport and storage times for analytes in blood (serum, plasma), urine and cerebrospinal fluid". DG Klinische Chemie Titeilungen 1995; 26: 207-224

3.7. "Reference Ranges for Adults and Children. Pre-Analytical Considerations", W.Heil/ V.Ehrhardt, 2008



3.8. Clinical and laboratory standards institute, "GP41 – Collection of diagnostic venous blood specimens", ediția a 7-a, aprilie 2017

4. TERMENI ȘI DEFINIȚII . PRESCURTĂRI

4.1 Definiții

Prelevare/recoltare - acțiune ce constă în luarea unei probe reprezentative de la un pacient în scopul stabilirii diverselor caracteristici definite.

Notă: În **Laboratorul de Analize Medicale- al SCJU** se execută analize medicale atât pe probe prelevate/recoltate de către personalul medical, cât și probe prelevate de pacient (de ex. probe de urină, probe coproparazitologice).

SPITALUL CLINIC JUDEȚEAN DE URGENȚĂ CLUJ   LABORATOR ANALIZE MEDICALE LABORATOR CENTRAL	Cod MRP-LAM		Ed. 04	Rev. 0
	MANUALUL DE RECOLTARE PROBE		Ex. necontrolat	
			Pagina: 6 din 72	

Puncție venoasă – abordarea unei vene în scop chirurgical, terapeutic sau pentru colectarea probelor de sânge.

4.2 Prescurtări:

MRP-LAM Manualul de recoltare probe
 LAM Laboratorul de analize medicale
 SCJUCJ Spitalul Clinic Județean de Urgență Cluj

5. DESCRIEREA ACTIVITĂȚII

Laboratorul a documentat și implementat instrucțiuni specifice pentru recoltarea și manipularea corectă a probelor primare care sunt puse la dispoziția personalului secțiilor clinice. Aceste instrucțiuni sunt incluse în prezentul **Manual privind recoltarea probelor, MRP-LAM**.

Manualul privind recoltarea probelor, MRP-LAM, este parte integrantă a sistemului de management al calității și este controlat așa cum prevede procedura generală de "Controlul documentelor" PG- 4.3.


Laboratorul se organizează la începerea programului în fiecare zi astfel încât să nu existe blocaje în activitatea de primire și de recepție a probelor primare.

- **Recoltarea și transportul probelor pacienților internați (internare de zi sau internare continuă) sunt activități care revin secțiilor spitalului, pentru care spitalul are proceduri specifice, conform adresei nr. 20020/ 27.09.2011. Transportul probelor este asigurat de persoane desemnate din cadrul secțiilor spitalului.**
- **Recoltarea probelor pentru pacienții neinternați proveniți din ambulatorul de specialitate, precum și a celor contra-cost se realizează în Punctele externe de recoltare al Laboratorului de Analize Medicale. Transportul lor este asigurat de persoane desemnate din cadrul Laboratorului de Analize Medicale.**

Analizele efectuate de Laboratorul de Analize Medicale sunt cuprinse în Nomenclatorul de analize al laboratorului.

Importanța analizelor de laborator:

- ❖ Completează simptomatologia bolilor cu elemente obiective;
- ❖ Infirmă sau confirmă diagnosticul clinic;
- ❖ Reflectă evoluția bolii și eficacitatea tratamentului;
- ❖ Semnalează apariția unor complicații;

SPITALUL CLINIC JUDEȚEAN DE URGENTĂ CLUJ   LABORATOR ANALIZE MEDICALE LABORATOR CENTRAL	Cod MRP-LAM		Ed. 04	Rev. 0	
	MANUALUL DE RECOLTARE PROBE			Ex. necontrolat	
					Pagina: 7 din 72

- ❖ Permite depistarea îmbolnăvirilor infecțioase ca și a persoanelor sănătoase purtătoare de germeni patogeni;
- ❖ Confirmă vindecarea.

Capitolul I. RECOLTAREA PROBELOR BIOLOGICE – CONSIDERAȚII GENERALE

1. Corespondența între proba biologică (produsul patologic), sistemul de recoltare și analizele solicitate



Analize medicale - descriere	Container (volum)	Anticoagulant/ aditivi	Proba biologică
Hemograma completă	dop violet (2 ml)	EDTA K ³	Sange
Frotiu sangvin	dop violet	EDTA K ³	Sange venos
Reticulocite	dop violet	EDTA K ³	Sange
VSH	dop negru	Citrat Na ³ 3,2 %	Sange
Hb glicata A1c	dop violet	EDTA K ³	Sange
Hemocultură	flacoane pentru hemocultură	-	Sânge
ASTRUP venos	Dop verde (2 ml)	Seringi heparinate	Sange venos
ASTRUP arterial	Dop verde (2 ml)	Seringi heparinate	Sange arterial
Fibrinogen	dop albastru	Citrat Na ³ 3,2 %	Plasma
Timp de protrombina Quick	dop albastru	Citrat Na ³ 3,2 %	Plasma
APTT	dop albastru	Citrat Na ³ 3,2 %	Plasma
Acid uric seric	dop rosu sau galben	tub cu activator de coagulare, cu sau fără gel separator	Ser
Amilaza serică	dop rosu sau galben	tub cu activator de coagulare, cu sau fără gel separator	Ser
Bilirubina totală	dop rosu sau galben	tub cu activator de coagulare, cu sau fără gel separator	Ser
Bilirubina directă	dop rosu sau galben	tub cu activator de coagulare, cu sau fără gel separator	Ser
Calciu seric Ca	dop rosu sau galben	tub cu activator de coagulare, cu sau fără gel separator	Ser
Calciu ionic Ca	dop rosu sau galben	tub cu activator de coagulare, cu sau fără gel separator	Ser
Clor seric Cl	dop rosu sau galben	tub cu activator de coagulare, cu sau fără gel separator	Ser
Colesterol seric total	dop rosu sau galben	tub cu activator de coagulare, cu sau fără gel separator	Ser

Acest document conține informații care sunt proprietatea Spitalului Clinic Județean de Urgență Cluj, Laborator Central.
Se interzice multiplicarea, modificarea sau difuzarea procedurii fără acordul managementului laboratorului.

Întocmit: Dr. Mariana Coca; As. sefă Livia Weiss

SPITALUL CLINIC JUDEȚEAN DE URGENȚĂ CLUJ   LABORATOR ANALIZE MEDICALE LABORATOR CENTRAL	Cod MRP-LAM		Ed. 04	Rev. 0
	MANUALUL DE RECOLTARE PROBE		Ex. necontrolat	
			Pagina: 8 din 72	



Creatinină serică	dop rosu sau galben	tub cu activator de coagulare, cu sau fără gel separator	Ser
CPK-creatinfosfokinaza	dop rosu sau galben	tub cu activator de coagulare, cu sau fără gel separator	Ser
Electroforeza proteinelor serice	dop rosu sau galben	tub cu activator de coagulare, cu sau fără gel separator	Ser
Feritina	dop rosu sau galben	tub cu activator de coagulare, cu sau fără gel separator	Ser
Fosfataza alcalină	dop rosu sau galben	tub cu activator de coagulare, cu sau fără gel separator	Ser
Fosfor seric P (Fosfat)	dop rosu sau galben	tub cu activator de coagulare, cu sau fără gel separator	Ser
GGT- gamaglutamiltransferaza	dop rosu sau galben	tub cu activator de coagulare, cu sau fără gel separator	Ser
Glucosa serică	dop rosu sau galben	tub cu activator de coagulare, cu sau fără gel separator	Ser
GOT/ASAT/AST	dop rosu sau galben	tub cu activator de coagulare, cu sau fără gel separator	Ser
GPT/ALAT/ALT	dop rosu sau galben	tub cu activator de coagulare, cu sau fără gel separator	Ser
HDL Colesterol	dop rosu sau galben	tub cu activator de coagulare, cu sau fără gel separator	Ser
LDH-lactatdehidrogenaza	dop rosu sau galben	tub cu activator de coagulare, cu sau fără gel separator	Ser
LDL Colesterol	dop rosu sau galben	tub cu activator de coagulare, cu sau fără gel separator	Ser
Magneziu seric Mg	dop rosu sau galben	tub cu activator de coagulare, cu sau fără gel separator	Ser
Potasiu seric K	dop rosu sau galben	tub cu activator de coagulare, cu sau fără gel separator	Ser
Proteine totale serice	dop rosu sau galben	tub cu activator de coagulare, cu sau fără gel separator	Ser
Sideremie	dop rosu sau galben	tub cu activator de coagulare, cu sau fără gel separator	Ser
Sodiu seric Na	dop rosu sau galben	tub cu activator de coagulare, cu sau fără gel separator	Ser
Transferina	dop rosu sau galben	tub cu activator de coagulare, cu sau fără gel separator	Ser
Trigliceride	dop rosu sau galben	tub cu activator de coagulare, cu sau fără gel separator	Ser
Uree serică	dop rosu sau galben	tub cu activator de coagulare, cu sau fără gel separator	Ser
Acid folic	dop rosu sau galben	tub cu activator de coagulare, cu sau fără gel separator	Ser
ASLO	dop rosu sau galben	tub cu activator de coagulare, cu sau fără gel separator	Ser
Complement C3	dop rosu sau galben	tub cu activator de coagulare, cu sau fără gel separator	Ser
Complement C4	dop rosu sau galben	tub cu activator de coagulare, cu sau fără gel separator	Ser
Factor reumatoid –FR	dop rosu sau galben	tub cu activator de coagulare, cu sau fără gel separator	Ser

SPITALUL CLINIC JUDEȚEAN DE URGENTĂ CLUJ   LABORATOR ANALIZE MEDICALE LABORATOR CENTRAL	Cod MRP-LAM		Ed. 04	Rev. 0	
	MANUALUL DE RECOLTARE PROBE			Ex. necontrolat	
					Pagina: 9 din 72

IgM	dop rosu sau galben	tub cu activator de coagulare, cu sau fără gel separator	Ser
IgA	dop rosu sau galben	tub cu activator de coagulare, cu sau fără gel separator	Ser
IgG	dop rosu sau galben	tub cu activator de coagulare, cu sau fără gel separator	Ser
IgE	dop rosu sau galben	tub cu activator de coagulare, cu sau fără gel separator	Ser
Proteina C reactivă PCR	dop rosu sau galben	tub cu activator de coagulare, cu sau fără gel separator	Ser
Vitamina B12	dop rosu sau galben	tub cu activator de coagulare, cu sau fără gel separator	Ser
AFP alfafetoproteina:	dop rosu sau galben	tub cu activator de coagulare, cu sau fără gel separator	Ser
Ag HBs	dop rosu sau galben	tub cu activator de coagulare, cu sau fără gel separator	Ser
Anti HBs	dop rosu sau galben	tub cu activator de coagulare, cu sau fără gel separator	Ser
Anti HCV	dop rosu sau galben	tub cu activator de coagulare, cu sau fără gel separator	Ser
CA 125	dop rosu sau galben	tub cu activator de coagulare, cu sau fără gel separator	Ser
CA 19-9	dop rosu sau galben	tub cu activator de coagulare, cu sau fără gel separator	Ser
CEA ag. carcinoembrionar	dop rosu sau galben	tub cu activator de coagulare, cu sau fără gel separator	Ser
Anti HIV1+2	dop rosu sau galben	tub cu activator de coagulare, cu sau fără gel separator	Ser
17-alfa-hidroxiprogesteron	dop rosu sau galben	tub cu activator de coagulare, cu sau fără gel separator	Ser
ACTH	dop rosu sau galben	tub cu activator de coagulare, cu sau fără gel separator	Ser
Anticorpi anti-tiroidieni TPO	dop rosu sau galben	tub cu activator de coagulare, cu sau fără gel separator	Ser
Cortizol	dop rosu sau galben	tub cu activator de coagulare, cu sau fără gel separator	Ser
Estradiol	dop rosu sau galben	tub cu activator de coagulare, cu sau fără gel separator	Ser
FSH-hormon de stimulare foliculară	dop rosu sau galben	tub cu activator de coagulare, cu sau fără gel separator	Ser
FT4-tiroxina liberă	dop rosu sau galben	tub cu activator de coagulare, cu sau fără gel separator	Ser
hGH-hormon de creștere uman	dop rosu sau galben	tub cu activator de coagulare, cu sau fără gel separator	Ser
LH-hormon luteinizant	dop rosu sau galben	tub cu activator de coagulare, cu sau fără gel separator	Ser
Prolactina	dop rosu sau galben	tub cu activator de coagulare, cu sau fără gel separator	Ser
Progesteron	dop rosu sau galben	tub cu activator de coagulare, cu sau fără gel separator	Ser
PTH-parathormon	dop rosu sau galben	tub cu activator de coagulare, cu sau fără gel separator	Ser



Acest document conține informații care sunt proprietatea Spitalului Clinic Județean de Urgență Cluj, Laborator Central. Se interzice multiplicarea, modificarea sau difuzarea procedurii fără acordul managementului laboratorului.

Întocmit: Dr. Mariana Coca: As. sefă Livia Weiss

SPITALUL CLINIC JUDEȚEAN DE URGENȚĂ CLUJ   LABORATOR ANALIZE MEDICALE LABORATOR CENTRAL	Cod MRP-LAM	Ed. 04	Rev. 0
	MANUALUL DE RECOLTARE PROBE	Ex. necontrolat	
		Pagina: 10 din 72	

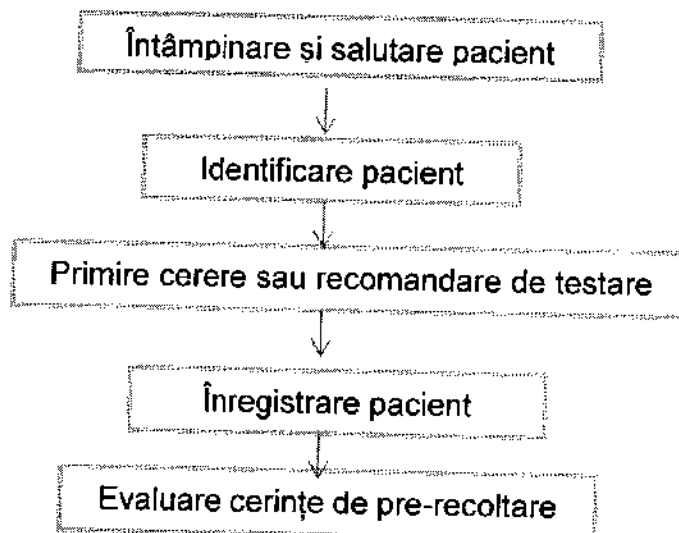
Testosteron liber	dop rosu sau galben	tub cu activator de coagulare, cu sau fără gel separator	Ser
TSH-hormon de stimulare tiroidiană	dop rosu sau galben	tub cu activator de coagulare, cu sau fără gel separator	Ser
Anticorpi Borrelia b.IgG	dop rosu sau galben	tub cu activator de coagulare, cu sau fără gel separator	Ser
Anticorpi Borrelia b.IgM	dop rosu sau galben	tub cu activator de coagulare, cu sau fără gel separator	Ser
AntiToxoplasma IgG	dop rosu sau galben	tub cu activator de coagulare, cu sau fără gel separator	Ser
AntiToxoplasma IgM	dop rosu sau galben	tub cu activator de coagulare, cu sau fără gel separator	Ser
AntiRubeola IgG	dop rosu sau galben	tub cu activator de coagulare, cu sau fără gel separator	Ser
AntiRubeola IgM	dop rosu sau galben	tub cu activator de coagulare, cu sau fără gel separator	Ser
RPR (VDRL) syphilis	dop rosu sau galben	tub cu activator de coagulare, cu sau fără gel separator	Ser
TPHA-syphilis	dop rosu sau galben	tub cu activator de coagulare, cu sau fără gel separator	Ser
Acid uric urinar	recoltor urina	-	Urina
Calciu urinar Ca	recoltor urina	-	Urina
Creatinină urinară	recoltor urina	-	Urina
Glucoza urinară	recoltor urina	-	Urina
Examen de urină	recoltor urina	-	Urina
Fosfor urinar P	recoltor urina	-	Urina
Magneziu urinar Mg	recoltor urina	-	Urina
Microalbuminuria	recoltor urina	-	Urină
Proteinurie	recoltor urina	-	Urina
Sodiu urinar Na	recoltor urina	-	Urina
Potasiu urinar K	recoltor urina	-	Urina
Uree urinară	recoltor urina	-	Urina
Urocultura	recipient steril pentru urina	-	Urina
Coprocultura	Coprorecoltor	Mediul de transport Cary Blair	Materii fecale
Examen coproparazitologic	Coprorecoltor	-	Materii fecale
Reactie Gregersen (depistare hemoragii oculte)	Coprorecoltor	-	Materii fecale
Ag. Helicobacter pylori-calitativ	Coprorecoltor	-	Materii fecale
Culturi secreție faringiană	Tampon steril	-	Secretie faringiana

Acest document conține informații care sunt proprietatea Spitalului Clinic Județean de Urgență Cluj, Laborator Central. Se interzice multiplicarea, modificarea sau difuzarea procedurii fără acordul managementului laboratorului.



SPITALUL CLINIC JUDEȚEAN DE URGENȚĂ CLUJ   LABORATOR ANALIZE MEDICALE LABORATOR CENTRAL	Cod MRP-LAM	Ed. 04	Rev. 0
	MANUALUL DE RECOLTARE PROBE	Ex. necontrolat	
		Pagina: 11 din 72	

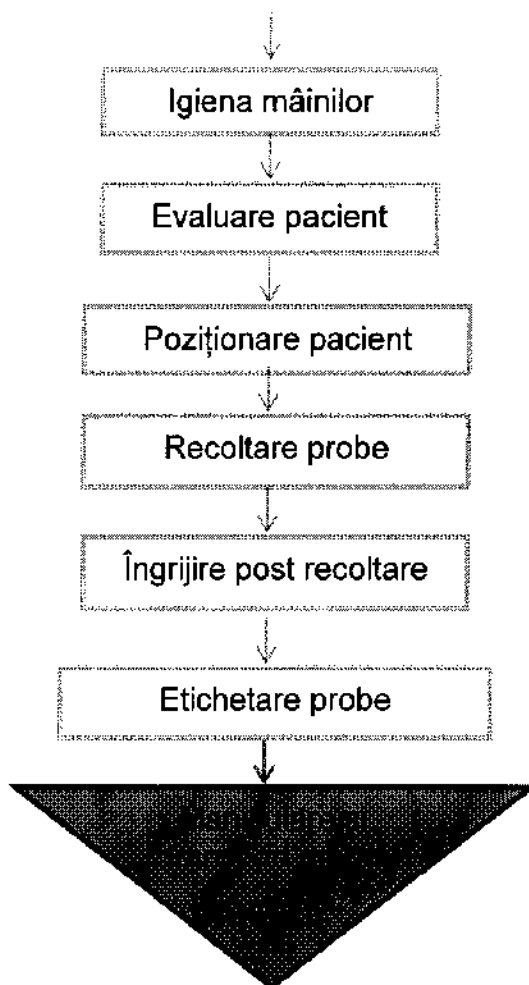
Culturi secreție nazală	tampon steril	-	Secreție nazala
Culturi secreție otică	tampon steril	-	Secreție otica
Culturi secreție genitală	tampon steril	-	Secreție genitala
Examen citologic vaginal	tampon steril	-	Secretii vaginale
Culturi secreție uretrală	tampon steril	-	Secreție uretrala
Examen micologic –cultură	tampon steril	-	Secretii patologice
Examen micologic direct KOH	între două lame de sticlă	-	Scuame piele
Examen micologic –cultură	între două lame de sticlă	-	Scuame, fire par, unghii
Numărătoare leucocite Examinări biochimice Examen bacteriologic	4-5 ml	Tub fără aditivi sau acceleratori de cheag sau Recoltor steril cu capac	LCR
Numărătoare leucocite Examinări biochimice Examen bacteriologic	4-5 ml	Tub fără aditivi sau acceleratori de cheag sau Recoltor steril cu capac	Lichide puncție

2. Procesul recoltării de probe biologice



Acest document conține informații care sunt proprietatea Spitalului Clinic Județean de Urgență Cluj, Laborator Central. Se interzice multiplicarea, modificarea sau difuzarea procedurii fără acordul managementului laboratorului.

SPITALUL CLINIC JUDEȚEAN DE URGENȚĂ CLUJ   LABORATOR ANALIZE MEDICALE LABORATOR CENTRAL	Cod MRP-LAM	Ed. 04	Rev. 0
	MANUALUL DE RECOLTARE PROBE		
	Ex. necontrolat		
Pagina: 12 din 72			





a) Întâmpinarea și salutarea pacientului:

Asistentul trebuie să evalueze locul de spitalizare pentru a evalua condițiile și detaliile astfel încât să poată îndeplini procedura, incluzând dar nefiind limitat la:

- Avertizări, atenționări sau brățări ce semnalează pacienți ce au nevoie de precauții speciale
- Prezența unei brățări de identificare a pacientului
- Existența, localizarea și condiția recipientelor rigide pentru înțepătoare
- Obstacole ce limitează accesul la pacient
- Prezența produselor de igienă a mâinilor
- Condiții care împiedică poziționarea corectă pacientului și a membrelor
- Condiții ce presupun ajutorul altui cadru medical (ex: oprirea administrării intravenoase de fluide)
- Prezența unui dispozitiv de acces vascular

Asistentul trebuie să semnaleze și să corecteze orice obstacol ce poate interfera cu procesul de recoltare.

SPITALUL CLINIC JUDEȚEAN DE URGENȚĂ CLUJ   LABORATOR ANALIZE MEDICALE LABORATOR CENTRAL	Cod MRP-LAM	Ed. 04	Rev. 0
	MANUALUL DE RECOLTARE PROBE	Ex. necontrolat	
		Pagina: 13 din 72	

Asistentul își prezintă identitatea și declară scopul acțiunii lui. Pacienții ce dorm trebuie treziți înainte de recoltare. Asistentul trebuie să arate empatie și respect în abordarea pacientului.

Tabelul următor evidențiază tipurile de abordări ce trebuie folosite în funcție de situație:

Pacienți spitalizați	Ciocăniți la ușă înainte de a intra în salon sau anunțați intrarea.
Pacienți în ambulatoriu	Apelați pacientul din sala de așteptare. Conduceți pacientul la locul de recoltare și asigurați-vă că pacientul se așază în siguranță.

b) Identificarea pacientului:

Identificarea pacientului este crucială. Asistentul trebuie să se asigure că probele de sânge sunt recoltate de la persona indicată în cererea de testare și pe etichetele ce însoțesc cererea. **Toți pacienții spitalizați trebuie să aibă brățări de identificare.** Excepțiile trebuie declarate de către regulamentul instituției (ex: pacienții pe termen lung sau cei din secțiile de psihiatrie). Dacă sunt identificate discrepanțe probele nu trebuie recoltate până când toate neconcordanțele sunt rezolvate. Asistentul trebuie să raporteze toate discrepanțele, oricât de mici ar fi, către responsabilul de pacient în funcție de reglementările instituției.



Trebuie să aibă o atenție sporită în situațiile de mare risc atât la pacienții spitalizați cât și la pacienții din ambulatoriu. Exemple de situații cu nivel de risc înalt:

- Frați sau gemeni
- Nou-născuți
- Nume comune (ex. Popescu, Ionescu)
- Persoane ce seamănă sau nume ce sună asemănător (ex. Gabriela Vasiloaiei sau Gabriel Avasiloaiei)
- Saloane cu mulți pacienți

Când mai multe cadre medicale sunt implicate în același proces (ex: un cadru medical preia pacientul din sala de așteptare, iar puncția este efectuată de alt cadru medical), reverificarea identității pacientului se face în punctul de schimb.

În solicitarea de informații de la un pacient cadrul medical trebuie să folosească întrebări deschise la care nu se poate răspunde cu un simplu da sau nu.

Cadru medical nu trebuie să arate pacientului cererea de testare în timpul procesului de identificare pentru ca acesta să confirme datele. Pentru pacienții conștienți ce nu pot vorbi asistentul trebuie să ia în considerare folosirea formularelor de identificare pe care pacientul trebuie să le completeze prin scriere, testare sau alte formate text.

SPITALUL CLINIC JUDEȚEAN DE URGENȚĂ CLUJ   LABORATOR ANALIZE MEDICALE LABORATOR CENTRAL	Cod MRP-LAM	Ed. 04	Rev. 0
	MANUALUL DE RECOLTARE PROBE	Ex. necontrolat	
		Pagina: 14 din 72	

1. Pacienții cu brățări de identificare (spitalizați):

- Cereți pacienților să-și declare numele și prenumele, astfel încât cadrul medical să-l înțeleagă (pe litere dacă e nevoie);
- Solicitați data nașterii;
- Confirmați informațiile primite verbal cu cele înscrise pe brățara ce trebuie să fie atașată de pacient;

Informațiile confirmate de pe brățara de identificare (incluzând numele complet și codul pacientului) trebuie să se potrivească cu informațiile de pe cererea de testare și/sau de pe etichete probelor. Cadrul medical nu trebuie să se bazeze pe informațiile de pe pat, pe brățări ce nu sunt fixate pe brațul pacientului, pe înregistrări ce stau pe pat sau pe mesele, comodele sau echipamentele de lângă paturi.

2. Pacienții fără brățări de identificare (nospitalizați – proveniți din ambulator, serviciul interclinic, puncte externe de recoltare)



Pentru pacienții din ambulatoriu, serviciul interclinic sau cei care se prezintă la punctele de recoltare unde brățările de identificare nu sunt aplicate pacienților, conform regulamentului instituției trebuie făcuți următorii pași:

- Cereți pacienților să-și declare numele și prenumele astfel încât cadrul medical să-l înțeleagă (pe litere dacă e nevoie);
- Solicitați data nașterii;
- Solicitați pacientului să prezinte un act de identitate (preferabil cu poză) ce atestă datele de identificare cerute de instituție. Dacă pacientul nu deține o dovadă a identității, cadrul medical trebuie să urmeze politica instituției, solicitând informații cadrului medical responsabil de pacient sau unui membru al familiei și trebuie să raporteze verificatorul sau pașii alternativi urmați în procesul de identificare;
- Informațiile primite de la pacient (incluzând numele complet și codul pacientului) trebuie să se potrivească cu informațiile de pe cererea de testare și/sau de pe etichete probelor.

3. Procedura de alocare temporară a unui ID pentru pacienții în urgență neidentificați

Pacienților neidentificați aflați în urgență li se poate alocă un cod de identificare temporară până când identificarea se face corect. Pentru persoanele ce nu pot fi identificate imediat urmați pașii de mai jos:

- Alocați și înregistrați un cod numeric temporar atribuit pacientului conform regulamentului instituției;
- Asigurați-vă că numele sau codul temporar este fixat de brațul pacientului prin intermediul unei brățări de identificare sau al unui dispozitiv similar;
- Completați etichetele necesare fie manual sau electronic;
- Aplicați etichetele pe cererea de testare și pe probe imediat după recoltare;

SPITALUL CLINIC JUDEȚEAN DE URGENȚĂ CLUJ   LABORATOR ANALIZE MEDICALE LABORATOR CENTRAL	Cod MRP-LAM		Ed. 04	Rev. 0	
	MANUALUL DE RECOLTARE PROBE			Ex. necontrolat	
				Pagina: 15 din 72	

- Când identificarea este corectă și permanentă alocăți pacientului codul temporar pentru trasabilitatea rezultatelor.

c) Primire cerere sau recomandare de testare

- pacienții internați – recomandarea de testare se face în fiecare secție clinică de către medicul curant. Pentru urgențe probele trebuie recoltate imediat și trimise la laborator cât mai repede, separat de celelalte probe, pentru a fi cât mai repede identificate și date în lucru.

- pacienții ambulatori – pacienții se prezintă cu bilet de trimitere de la medicul specialist din ambulatorul integrat al spitalului aflat în contract cu CAS

- emitenții externi pot fi:

- cu plată – pacienții se pot prezenta cu bilet de trimitere sau la cerere (fără bilet). În ambele situații pacienții achită contravaloarea analizelor și li se eliberează chitanță.
- de la alte unități spitalicești – în laborator se primesc probele recoltate în alte unități spitalicești (cu care SCJU Cluj are încheiat contract), însoțite de bilet de trimitere în dublu exemplar.

d) Înregistrare pacient

Înregistrarea pacienților în sistemul informatic se face conform PO-01-LAM – „Procedura de primire/recepție probe și eliberare rezultate în Laboratorul de analize medicale”, cap.5.1 *Instrucțiuni specifice privind modul de solicitare a probelor biologice și produselor patologice.*

Pentru fiecare recoltare se efectuează O SINGURĂ CERERE DE ANALIZE în sistemul informatic. Dacă se dorește suplimentarea analizelor se urmează procedura PO-01-LAM, subcap.5.1.5 *Suplimentarea de analize.*

Înregistrarea se face astfel:



- pentru pacienții internați – cererile de analize se efectuează în sistemul informatic de către personalul desemnat din secțiile clinice.

- pentru pacienții ambulatori – cererile de analiză se efectuează în sistemul informatic de către personalul din ambulatorul integrat al spitalului și de către personalul de la punctele externe de recoltare ale Laboratorului de Analize Medicale.

- pentru emitenții externi:

- cu plată - cererile de analiză se efectuează în sistemul informatic de către personalul de la punctele externe de recoltare.
- de la alte unități spitalicești – cererile de analiză se efectuează în sistemul informatic de către personalul din punctele de recepție ale laboratorului.

Pe cererea de solicitare analize în sistemul informatic se va menționa ora corectă a recoltării.

SPITALUL CLINIC JUDEȚEAN DE URGENȚĂ CLUJ   LABORATOR ANALIZE MEDICALE LABORATOR CENTRAL	Cod MRP-LAM	Ed. 04	Rev. 0
	MANUALUL DE RECOLTARE PROBE	Ex. necontrolat	
		Pagina: 16 din 72	

Acolo unde este cazul, se vor specifica în cerere diagnosticele colaterale celor pentru care se află internat bolnavul, diagnostice care ar justifica modificarea unor analiți (de ex. leucemia etc.) și care ar scuti laboratorul de compararea cu arhiva de date, de comunicare și consultare cu secția clinică etc.

e) Evaluare cerințe pre-recoltare

Personalul de la punctele de recoltare verifică dacă sunt întrunite condițiile necesare conform indicațiilor de recoltare (de exemplu: dacă pacientul a adus probele recoltate acasă, dacă s-a alimentat, dacă și-a recoltat urina în mod corespunzător, dacă a respectat instrucțiunile pentru recoltarea de exsudat faringian, dacă urmează anumite tratamente medicamentoase etc).

f) Evaluarea pacientului

Asistentul medical va solicita informații asupra simptomelor, tratamente în curs și boli asociate (de ex. diabet, HTA, tulburari de coagulare, boli cardiace, epilepsie etc.).

g) Poziționarea pacientului

- Recoltarea se face la pat pentru pacienții internați sau în sălile de recoltare special amenajate pentru pacienții din ambulatorul integrat al spitalului.

Se recomandă recoltarea probelor în poziția șezândă în scaune speciale, dacă există astfel de scaune. Dacă recoltarea are loc în salon nu se recoltează în poziție șezândă pe marginea patului care nu are accesorii ce fac posibilă relaxarea brațului și accesorii de susținerea a pacientului ce împiedică căderea în caz de pierdere a cunoștinței.

- În punctele externe de recoltare pacientul este poziționat pe scaunele speciale de recoltare, în poziție șezândă; scaunele se pot rabata în cazurile speciale.

h) Igiena mâinilor



Personalul care efectuează recoltarea se spală pe mâini în vederea pregătirii pentru recoltarea probelor. Spălarea se face cu apă și săpun conform Ordinului nr. 1101/2016 privind aprobarea Normelor de supraveghere, prevenire și limitare a infecțiilor asociate asistenței medicale în unitățile sanitare - anexa 4 - *Precauțiunile standard*.

i) Recoltarea probelor biologice – generalități

Reguli de pre-recoltare:

Personalul medical anunță bolnavul despre:

- momentul și locul recoltării;
- dieta precedentă recoltării (dacă este cazul);
- toaleta premergătoare anumitor recoltări;
- tratamentul medicamentos care influențează rezultatul; există o serie de medicamente care pot modifica analizele medicale. De aceea, pacientul trebuie informat dacă este

SPITALUL CLINIC JUDEȚEAN DE URGENȚĂ CLUJ   LABORATOR ANALIZE MEDICALE LABORATOR CENTRAL	Cod MRP-LAM		Ed. 04	Rev. 0	
	MANUALUL DE RECOLTARE PROBE			Ex. necontrolat	
				Pagina: 17 din 72	

necesar să întrerupă medicația sau dacă trebuie doar să comunice personalului laboratorului ce fel de tratament urmează;

- existenței anumitor teste care se efectuează după administrarea unor substanțe sau medicamente cum ar fi: Testul de toleranță la glucoză (hiperglicemia provocată) care se face după administrarea de glucoză sau testele în dinamică (de stimulare sau inhibare) pentru diferiți hormoni.

Reguli generale de recoltare a probelor biologice:

- Recoltarea probelor biologice pentru pacienții internați se execută în secțiile clinice ale spitalului de către personalul desemnat, iar pentru pacienții neinternați se efectuează în punctele externe de recoltare ale Laboratorului de analize medicale și în ambulatorul integrat.
- Recoltarea probelor biologice se poate face sub forma unei probe unice (de exemplu, pentru determinarea glicemiei bazale) sau sub forma probelor multiple (de exemplu, testul de toleranță la glucoză).
- Personalul care recoltează, manevrează probele și produsele biologice trebuie să folosească echipament de protecție corespunzător (mănuși, halat) completat cu mască, ochelari de protecție în cazul în care produsul biologic s-ar putea disemina.
- Precauțiile standard ce trebuie urmate în cazul manipulării sângelui și a lichidelor biologice sunt fondate pe principiul conform căruia **tot sângele și toate lichidele biologice sunt potențial infectate**, deci se manevrează respectând regulile generale de prevenire a infecțiilor.
- Precauțiile universale constau, concret, în spălarea mâinilor, manipularea cu grijă a obiectelor tăioase sau înțepătoare și aruncarea acestora imediat după utilizare în recipiente special concepute pentru acest scop și în utilizarea echipamentului de protecție personală.
- **Atenție!** Să nu se contamineze cu proba biologică/produsul patologic exteriorul recipientelor sau buletinele de solicitare ce însoțesc probele/produsele.



j) Îngrijirea post-recoltare

Se referă în special la recoltarea prin puncție venoasă.

După oprirea sângerării, pacientului i se aplică la locul puncției un leucoplast steril.

În ambulator, asistentul se asigură că pacientul poate părăsi în siguranță cabinetul de recoltare.

Dacă pacientul este internat, se aranjează patul, se așează bolnavul în poziție comodă și se supraveghează.

SPITALUL CLINIC JUDEȚEAN DE URGENTĂ CLUJ   LABORATOR ANALIZE MEDICALE LABORATOR CENTRAL	Cod MRP-LAM	Ed. 04	Rev. 0
	MANUALUL DE RECOLTARE PROBE		
	Ex. necontrolat		
			Pagina: 18 din 72

k) Etichetarea probelor

Conform procedurilor laboratorului: PG-5.4 *Procese de pre-examinare* și PO-01-LAM - *Procedura de primire/recepție probe și eliberare rezultate în Laboratorul de analize medicale*, etichetarea probelor se efectuează în momentul recepției în laborator.

1. Probele se aduc în laborator inscripționate cu nume/prenume pacient și număr de cerere electronică (CA).
2. În punctele de recepție ale laboratorului de analize medicale, la momentul recepției fiecărei cereri din sistemul informatic **sunt generate automat etichetele cu cod de bare** care sunt apoi aplicate pe fiecare tub recoltat. Etichetele cu cod de bare sunt lipite de către personalul de la recepție pe fiecare recipient, corespunzător cererii de analize (CA). Personalul de la recepție verifică întotdeauna corespondența dintre cererea de analize, probele inscripționate și etichetele generate.
3. Mai multe specificații ale modului de etichetare găsiți în PO-01-LAM - *Procedura de primire/recepție probe și eliberare rezultate în Laboratorul de analize medicale*, la cap.5.4 *Manipularea probelor*.

Capitolul II. RECOLTAREA DE SÂNGE PRIN PUNCȚIE VENOASĂ



Recoltarea sângelui venos/capilar se efectuează dimineața – între orele 7,00 și 10,30, fără a consuma alimente, băuturi (ceai/cafea) sau alcool, fără să fumeze și înainte de administrarea medicației.

În funcție de tipul de analiză și de substanțele sau celulele sanguine care trebuie să fie cercetate, există mai multe moduri de recoltare a sângelui venos:

- Recoltare pentru teste biochimice/imunologice din ser sanguin;
- Recoltare pentru teste biochimice din plasmă sau din sânge integral;
- Recoltare pentru teste hematologice din sânge integral;
- Recoltare pentru teste de coagulare din plasmă;
- Recoltare pentru examene bacteriologice.

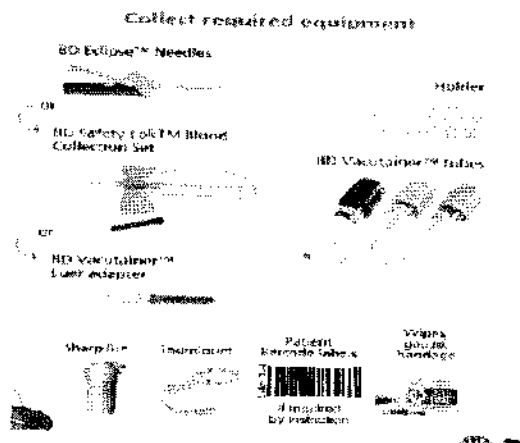
A. Etapele RECOLTĂRII

- 1 – Pregătiți consumabilele
- 2 – Alegeți locul puncției
- 3 – Alegeți vena
- 4 – Aplicați garoul
- 5 – Recomandați strângerea pumnului
- 6 – Selectați consumabilele potrivite
- 7 – Puneți-vă mănușile
- 8 – Dezinfecțați zona
- 9 – Efectuați puncția

SPITALUL CLINIC JUDEȚEAN DE URGENȚĂ CLUJ   LABORATOR ANALIZE MEDICALE LABORATOR CENTRAL	Cod MRP-LAM		Ed. 04	Rev. 0
	MANUALUL DE RECOLTARE PROBE			
	Ex. necontrolat			
				Pagina: 19 din 72

- 10 – Umpleți tuburile și omogenizați
- 11 – Înlăturați și aruncați acul
- 12 – Aplicați presiune pe locul puncției
- 13 – Îndepărtați materialele folosite ca deșeuri infecțioase sau înțepătoare-tăietoare
- 14 – Omogenizați probele recoltate
- 15 – Îngrijiți locul puncției
- 16 – Inscripționați probele
- 17 – Trimiteți probele către laborator
- 18 – Scoateți mănușile și vă spălați pe mâini

1 - Pregătiți consumabilele: mănuși, garou, tuburi, ac, holder, dezinfectant, tampon, leucoplast, container de înțepătoare, etichete



Recoltarea sângelui venos se face cu sistemul de vacuum, direct în vacutainer.



Este de preferat să se evite recoltarea în seringă pentru a transfera sângele, apoi, în vacutainer (coagularea începe imediat după scoaterea sângelui din vase). Dacă totuși, din diverse motive (recoltare anevoioasă, lipsa acelor de holder etc.) recoltarea se face cu seringă, atunci transferarea sângelui în tuburi prin înțeparea dopului să se facă lăsând vacuum-ul să aspire, fără a aplica presiune asupra pistonului seringii (se împiedică astfel hemoliza).



- 1 = parte filetată
- 2 = ac
- 3 = holder
- 4 = tub de recoltare

ac cu
protecție

fiuturaș

SPITALUL CLINIC JUDEȚEAN DE URGENȚĂ CLUJ   LABORATOR ANALIZE MEDICALE LABORATOR CENTRAL	Cod MRP-LAM	Ed. 04	Rev. 0
	MANUALUL DE RECOLTARE PROBE	Ex. necontrolat	
		Pagina: 20 din 72	

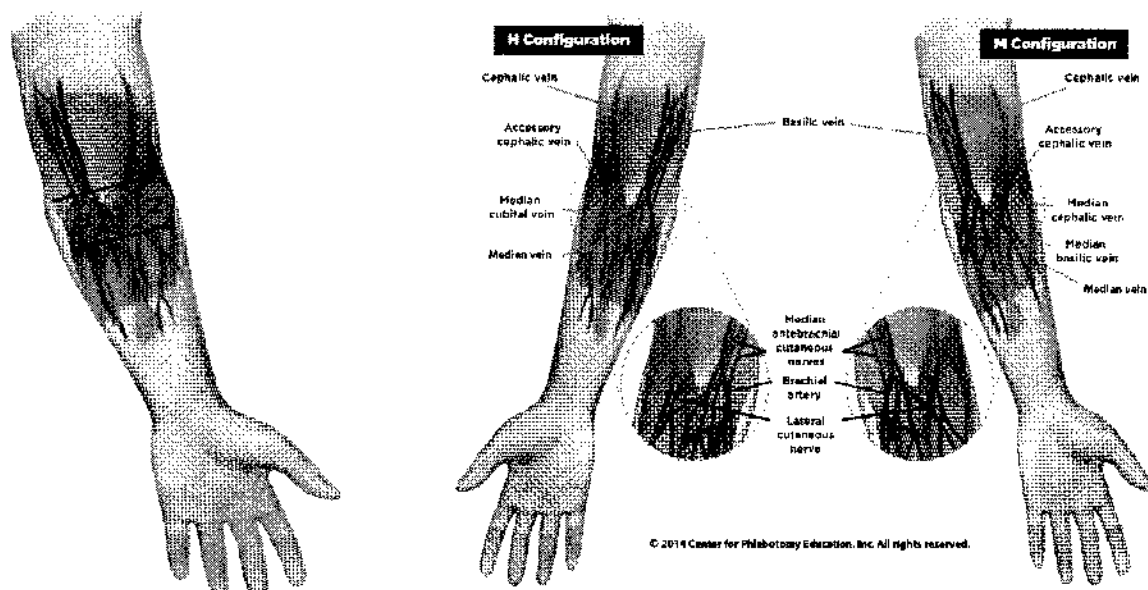
Notă: verificați termenele de expirare ale materialelor și asigurați-vă că aveți totul la îndemână inclusiv containerul pentru înțepătoare.

NU PREASAMBLAȚI sistemul de recoltare înainte de identificarea pacientului.

2/3 – Alegerea locului puncției: se preferă vene din zona plicii cotului, iar dacă zona nu este accesibilă se recomandă zona dorsală a palmei.

Notă: Recoltarea în afara acestor zone nu este recomandată dacă nu se cunoaște foarte bine anatomia zonei și riscurile ei. Recoltările arteriale nu trebuie să fie considerate alternative pentru puncțiile venoase pentru că analiții nu sunt echivalenți.

Flexarea cotului face venele mai puțin vizibile.





Puncția din vena scalpului la nou născuți nu trebuie efectuată fără permisiunea medicului și fără training specializat.

4 – Aplicarea garoului: pentru facilitarea palpării, identificării și alegerii venei asistenta poate aplica un garou, în proximitatea locului puncției, dar nu foarte aproape. Utilizarea greșită a garoului poate duce la erori ce afectează rezultatele testelor.

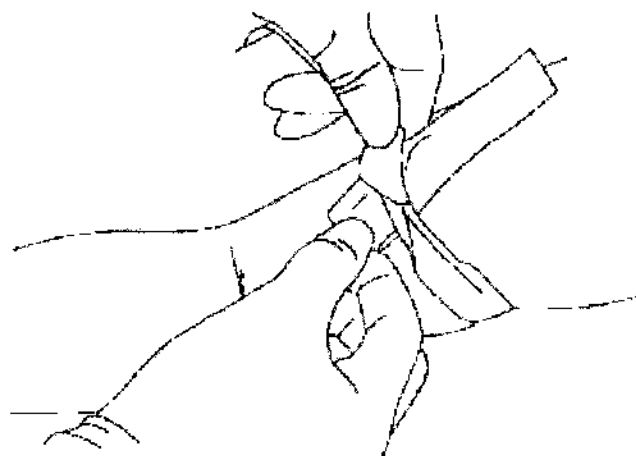
S-a demonstrat că hemoconcentrația poate influența creșterea valorilor analiților cum ar fi: albumina, calciu, potasiu, RBC, WBC, hemoglobina, hematocrit, glucoza, trigliceride, proteine totale, fosfataza alcalină.

Pentru a prevenii complicațiile trebuie ținut cont de:

- Aplicarea garoului să se facă la cel puțin 2-3 laturi de deget (3-5 cm) deasupra locului de înțepare;
- Aplicarea garoului nu trebuie să depășească 1 minut, pentru a preveni hemoconcentrația;

SPITALUL CLINIC JUDEȚEAN DE URGENȚĂ CLUJ   LABORATOR ANALIZE MEDICALE LABORATOR CENTRAL	Cod MRP-LAM		Ed. 04	Rev. 0
	MANUALUL DE RECOLTARE PROBE		Ex. necontrolat	
			Pagina: 21 din 72	



- Dacă garoul a fost aplicat mai mult de 1 minut, desfaceți-l, așteptați 2 minute și aplicați-l din nou;
- Trebuie folosite garouri fără latex pentru a preveni reacțiile alergice;
- Se recomandă folosirea garourilor de unică folosință din cauza prevalenței sporite a MRSA-ului în mediu spitalicesc;
- Un suport potrivit sub cotul pacientului facilitează imobilizarea și extensia brațului.



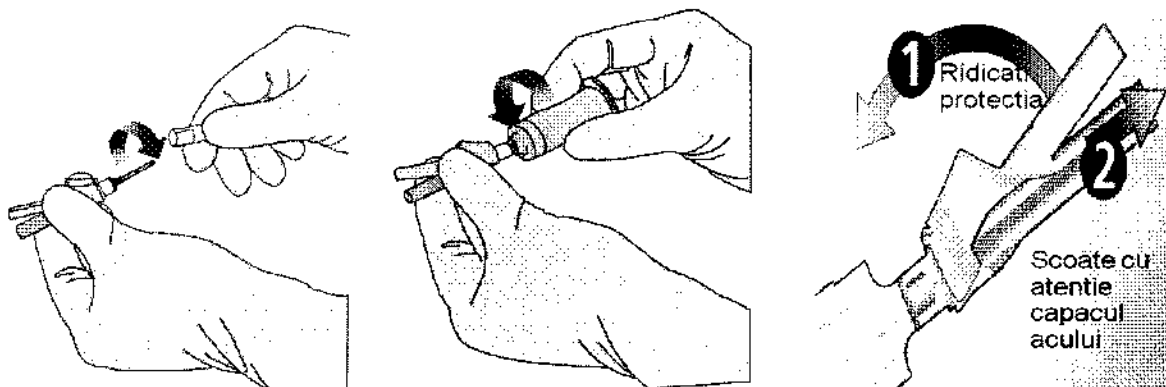
5 – Recomandați strângerea pumnului: Bolnavul va strânge pumnul pentru a crea o presiune venoasă crescută și o distensie maximă a venelor.



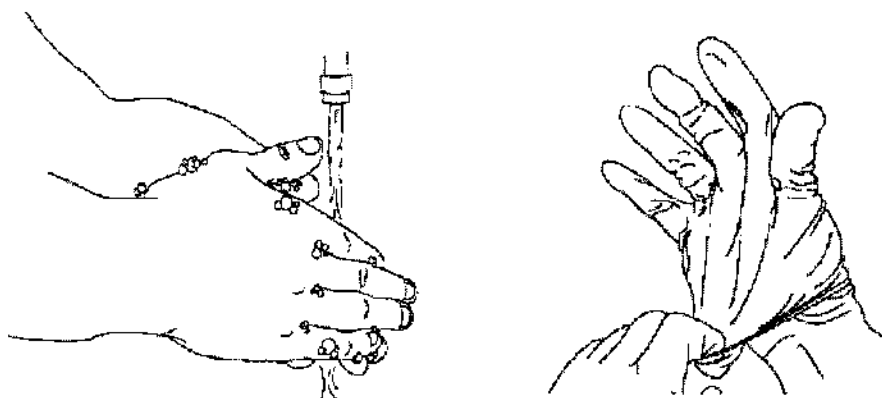
6 – Selectarea acelor se face în funcție de caracteristicile venelor și a cantității de sânge ce trebuie recoltată. Se alege un ac steril cu calibrul adecvat (19-22 G sau 23 G pentru nou-născuți) cantității de sânge necesar să fie recoltat, cuplat apoi la un container vidat, etanș, cu marker de nivel indicat.

SPITALUL CLINIC JUDEȚEAN DE URGENȚĂ CLUJ   LABORATOR ANALIZE MEDICALE LABORATOR CENTRAL	Cod MRP-LAM		Ed. 04	Rev. 0
	MANUALUL DE RECOLTARE PROBE			
	Ex. necontrolat			
				Pagina: 22 din 72

Se alege acul, se verifică sigiliul, integritatea acului și data expirării. Se înșurubează acul în holder în sensul acelor de ceasornic, fără a stânga prea tare. Înaintea puncției se scoate capacul acului.



7 – Mănușile trebuie să fie noi și trebuie să fie utilizate intacte. Pentru efectuarea puncției venoase se utilizează mănuși sterile. Pentru fiecare pacient folosiți mănuși noi!





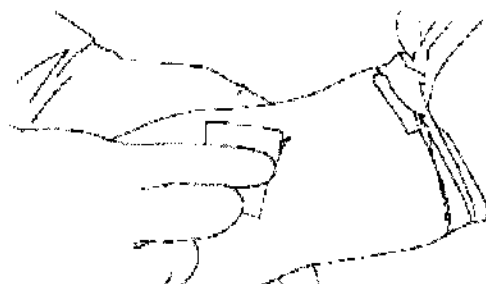
8 – Dezinfectarea locului trebuie să se facă conform standardelor internaționale cu alcool izopropilic de 70%.

PERMITEȚI ZONEI SĂ SE USUCE. Dacă după ce s-a dezinfectat zona e necesară repetarea palpării trebuie să se dezinfecteze din nou.

În SCJU Cluj, se utilizează dezinfectantul achiziționat de către spital la recomandarea SPIAAM.

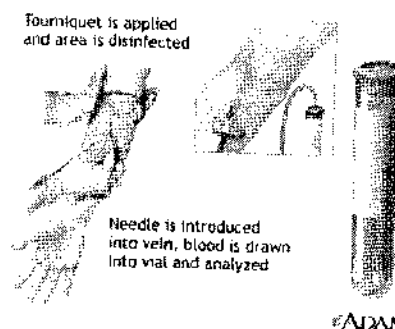
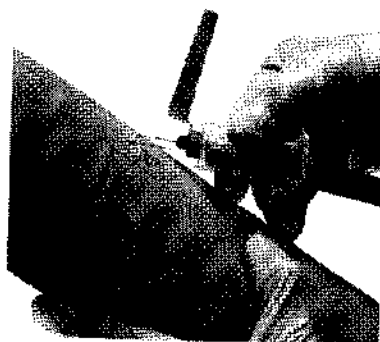
Este de preferat dezinfecția cu alcool în detrimentul dezinfectanților pe bază de iod, întrucât contaminarea sângelui cu astfel de dezinfectanți poate duce la valori fals crescute ale potasiului, fosforului și acidului uric (a se vedea "**WHO guidelines on drawing blood: best practices in phlebotomy**", cap.2.2. *Practical guidance on best practices in phlebotomy - Step 5 – Disinfect the entry site*).

SPITALUL CLINIC JUDEȚEAN DE URGENȚĂ CLUJ   LABORATOR ANALIZE MEDICALE LABORATOR CENTRAL	Cod MRP-LAM	Ed. 04	Rev. 0
	MANUALUL DE RECOLTARE PROBE	Ex. necontrolat	
		Pagina: 23 din 72	





9 – Efectuarea puncției:

- asigurați brațul,
- fixați vena,
- anunțați pacientul de puncție (din acest moment fiți pregătiți de mișcări bruște sau reacții diverse),
- introduceți acul într-un unghi de 30°.
- rugați pacientul să deschidă pumnul
- eliberați garoul (garoul se desface de îndată ce sângele curge constant în primul tub. Desfacerea se face pentru diminuarea hemoconcentrației. Dacă aveți semne că vena cedează păstrați garoul.



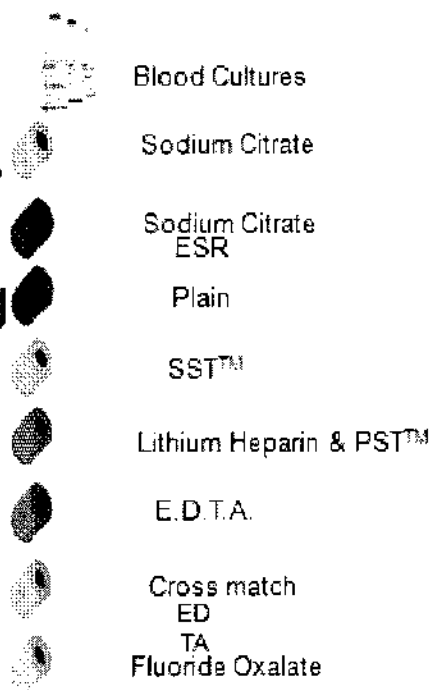
10 – Umplerea tuburilor: Sângele se recoltează pe cantități bine definite de substanțe sau soluții anticoagulante sau inhibitoare, omogenizând amestecul ușor (agitarea energetică produce hemoliză). Se acordă atenție la proporția sânge:anticoagulant pentru că nerespectarea ei modifică rezultatele testelor de coagulare și a testelor hematologice, ceea ce poate duce, fie la coagularea probei (cantitate prea mare de sânge în raport cu anticoagulantul), fie la obținerea de timpi de coagulare prelungiți (cantitate prea mică de sânge în raport cu anticoagulantul). Se verifică dacă fiecare vacutainer a aspirat sânge până la marcajul de pe etichetă, în caz contrar, se reia recoltarea într-un alt vacutainer.

SPITALUL CLINIC JUDEȚEAN DE URGENȚĂ CLUJ   LABORATOR ANALIZE MEDICALE LABORATOR CENTRAL	Cod MRP-LAM	Ed. 04	Rev. 0
	MANUALUL DE RECOLTARE PROBE	Ex. necontrolat	
		Pagina: 24 din 72	

Ordinea recoltării de sânge venos la același pacient este:

1. Flaconul pentru hemocultură
2. Vacutainer pentru coagulare (dop albastru)
3. Vacutainer pentru VSH (dop negru)
4. Vacutainer pentru ser (dop galben, transparent sau roșu – cu activator de coagulare, cu sau fără gel separator)
5. Vacutainer cu heparină (dop verde)
6. Vacutainer cu EDTA pentru hemogramă (dop mov)
7. Vacutainer cu inhibitor de glicoliză (dop gri)



**Draw tubes
in
descending
order**



Notă: Scopul respectării ordinii de recoltare este de a evita cross contaminarea (contaminarea încrucișată) cu reactivi. Studii au demonstrat că rezultatele PT, APTT și a altor câteva testări speciale de coagulare nu sunt afectate dacă sunt recoltate din primul tub. Aceste studii risipesc percepția greșită că majoritatea testelor de coagulare trebuie recoltate din al doilea tub pentru a evita activarea factorului tisular.

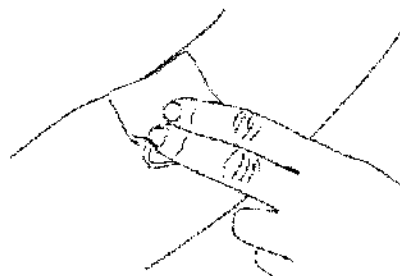
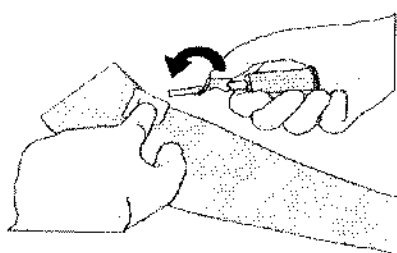
Vezi *CLSI H21, Smock KJ – “Discard tubes are not necessary when drawing samples for specialized coagulation testing” Blood coagul Fibrinolysis 2010, Serin E – Effect of tube filling order on specific cogulation parameters – Lab Med 2007.*

- Dacă pacientul are pe cerere analize de biochimie și analize de imunologie (care se efectuează prin diverse metode - manuală, ELISA, ELFA, chemiluminiscență - și care necesită o cantitate mai mare de ser) se recoltează două (2) tuburi pentru ser (dop roșu sau galben) pe care, în laborator, se lipesc etichete cu același cod de bare.

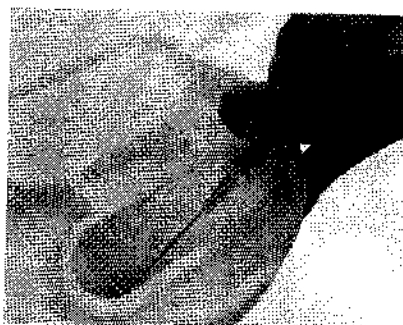
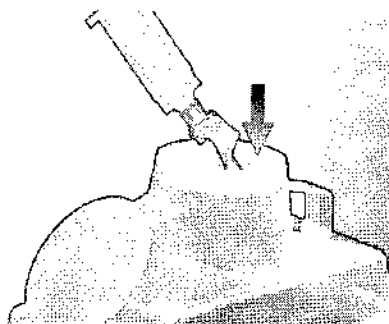
SPITALUL CLINIC JUDEȚEAN DE URGENȚĂ CLUJ   LABORATOR ANALIZE MEDICALE LABORATOR CENTRAL	Cod MRP-LAM		Ed. 04	Rev. 0
	MANUALUL DE RECOLTARE PROBE		Ex. necontrolat	
		Pagina: 25 din 72		

11/12 – Înlăturați acul, poziționați un nou tampon umezit în soluția dezinfectantă peste locul puncției, activați mecanismele de siguranță ale acului, **aplicați presiune** la locul puncției cu tamponul umezit în soluția dezinfectantă.

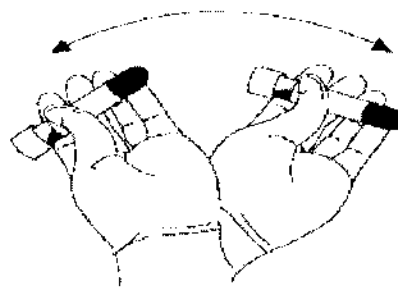
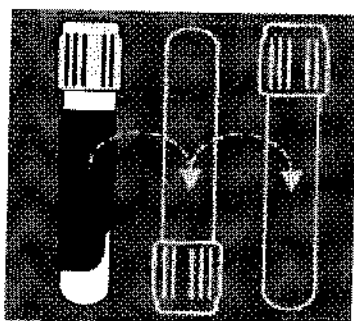
Notă: nu permiteți pacienților să îndoiască mâna – această mișcare poate duce la formarea unui hematom. Nu sunt recomandate folosirea de bucăți de vată sau de bumbac pentru acoperirea locului puncției.





13 – Îndepărtați materialele folosite ca deșeuri infecțioase (tampoanele cu dezinfectant utilizate, holderul, garoul de unica folosință, corpul seringii) și ca deșeuri înțepătoare (acele).



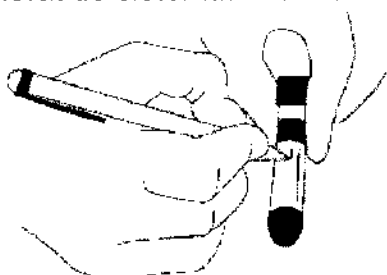
14 – Omogenizați probele: probele recoltate trebuie omogenizate imediat după recoltare prin inversare de cel puțin 3 ori, fără mișcări bruște. Menționăm că trebuie omogenizate inclusiv probele de biochimie care conțin activator de coagulare sau alți aditivi. Așezați apoi probele într-un stativ, în poziție verticală.



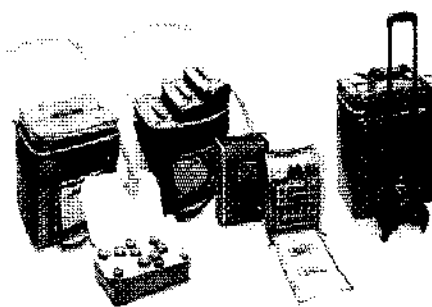
SPITALUL CLINIC JUDEȚEAN DE URGENȚĂ CLUJ   LABORATOR ANALIZE MEDICALE LABORATOR CENTRAL	Cod MRP-LAM	Ed. 04	Rev. 0
	MANUALUL DE RECOLTARE PROBE	Ex. necontrolat	
		Pagina: 26 din 72	

15 – Îngrijiți locul puncției: pacientul sau persoana care a efectuat recoltarea va menține tamponul timp de 1-3 minute, pentru evitarea formării hematomului. După oprirea sângerării se aplică un leucoplast steril.

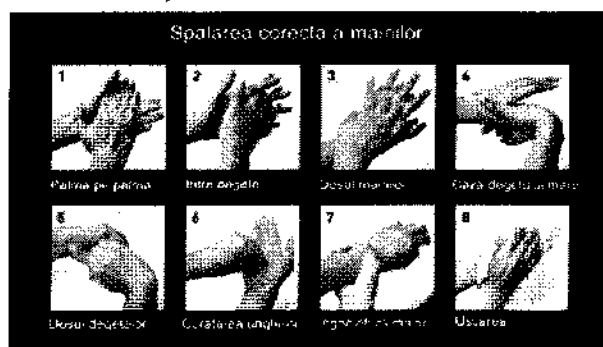
16 – Inscricționați probele. Se notează numele bolnavului și codul de cerere analiză pe fiecare etichetă a recoltarelor. Pentru a evita riscurile legate de identificarea probelor trebuie ca pe tuburi să existe două elemente de identificare: numele/prenumele pacientului și numărul cererii de analiză generat de sistemul informatic.





17 – Trimiteți probele către laborator: probele trebuie prelucrate în laboratorul de analize medicale cât mai repede față de momentul recoltării. Transportul se realizează în cutii speciale de transport prevăzute cu capac și cu inscripția "Pericol biologic", separat probele de sânge (așezate în stative) și separat probele de urină, scaun sau alte probe biologice (a se vedea cap.V. *Transportul probelor*).



18 – Scoateți mănușile și vă spălați pe mâini: Îndepărtați mănușile și le aruncați în containerul pentru deșeuri infecțioase, apoi vă spălați pe mâini cu apă și săpun (a se vedea Ordinul nr. 1101/2016 - anexa 4 - *Precauțiunile standard*)





SPITALUL CLINIC JUDEȚEAN DE URGENȚĂ CLUJ   LABORATOR ANALIZE MEDICALE LABORATOR CENTRAL	Cod MRP-LAM		Ed. 04	Rev. 0
	MANUALUL DE RECOLTARE PROBE		Ex. necontrolat	
			Pagina: 27 din 72	

B. Considerații speciale asupra modului de recoltare prin puncție venoasă

Probleme la recoltare:

- ✗ O mențiune specială este legată de recoltarea probelor de pe cateterele intravenoase și intraarteriale. Canula trebuie spălată în prealabil cu ser fiziologic, iar primii 5 ml de sânge trebuie aruncați înainte de recoltarea propriu-zisă a probei de sânge.
- ✗ Recoltarea pentru probele de coagulare de pe cateterele contaminate cu heparină este în mod critic influențată, astfel că pentru determinarea APTT și a timpului de protrombină se recomandă ca o cantitate de sânge echivalentă cu dublul volumului cateterului să fie aruncată înainte de prelevare.
- ✗ Se va evita recoltarea de pe brațul sau membrul inferior care au fost folosite deja pentru diverse terapii intravenoase sau transfuzii, deoarece rezultatul analizelor poate fi afectat. Dacă nu este posibilă recoltarea din brațul opus celui în care este montată perfuzia, atunci se va efectua recoltarea după întreruperea completă a perfuziei, la cel puțin 2 minute de la întreruperea acesteia.
- ✗ Se va evita recoltarea de sânge din zone edematoase, șunturi arterio-venoase, zone cu hematoame sau plăgi vasculare.
- ✗ Se va evita puncția venoasă din membrul inferior, deoarece poate crește riscul apariției tromboflebitei.
- ✗ Nu se recomandă recoltarea sângelui după radiografie, tușeu rectal sau după procedurile de fizioterapie.
- ✗ Dacă pacientul are tulburări de coagulare sau este sub tratament cu anticoagulante, se va presa ferm locul puncției cel puțin 5 minute pentru prevenirea formării hematomului și se va specifica tratamentul anticoagulant (tipul medicației) pe cererea de analize ce se trimite la laborator.
- ✗ Dacă pacientul se află sub tratament cu heparină sodică, recoltarea se va efectua înainte de administrarea unei doze.
- ✗ Dacă pacientul are vene vizibile, pronunțate, se va recolta evitând folosirea garoului, prevenindu-se astfel formarea de hematoame.
- ✗ Dacă pacientul prezintă vene fine, fragile și care se mișcă nu ezitați să schimbați diametrul acului.
- ✗ Pentru a stabili o venă care "șerpuiește", se fixează pielea dintr-o parte și din cealaltă a venei fie formând în jurul brațului pacientului un inel cu degetul gros și cel arătător, fie întinzând pielea în direcția palmei.
- ✗ Se va ține cont de timpul de stabilitate a probelor la temperatura camerei (a se vedea cap. IV. **Conservarea și stabilitatea probelor**), cu mențiunea că în acest interval sunt cuprinse toate etapele parcurse până la prelucrarea analitică a probelor (timpul de recoltare, timpul de transport până la laborator, operațiunea de preluare și de înregistrare a probelor în laborator, timpul de centrifugare etc.)

SPITALUL CLINIC JUDEȚEAN DE URGENȚĂ CLUJ   LABORATOR ANALIZE MEDICALE LABORATOR CENTRAL	Cod MRP-LAM	Ed. 04	Rev. 0
	MANUALUL DE RECOLTARE PROBE	Ex. necontrolat	
		Pagina: 28 din 72	

Probleme de recoltare cauzate de poziționarea incorectă a acului în venă:

- Introducerea corectă a acului în venă => sângele curge liber prin ac;
- Vârful acului pe peretele superior => sângele nu curge prin ac;
- Vârful acului pe peretele inferior => sângele nu curge prin ac;
- Acul introdus prea adânc => acul perforază vena iar sângele nu curge; penetrarea acului mai mult de 1 cm sub piele crește riscul perforării venei dintr-o parte în cealaltă și, în consecință, riscul producerii unui hematom.
- Acul introdus parțial în venă => se formează hematom - sângele poate curge prin ac în cantitate mică;
- Venă colabată => sângele nu curge prin ac;
- Unele analize (de exemplu: VSH-ul) necesită recoltare fără stază, deci se va desface garoul înainte de aspirarea sângelui în seringă.

C. Variabilele preanalitice legate de modul de recoltare, prelucrare, stocare și transport al probelor

Există numeroși factori (excluzând boala) care pot influența rezultatele analizelor: alimentația/înfrumetarea, medicamentele, oboseala fizică și psihică, ritmurile biologice (există diferențe între rezultatele analizelor recoltate la ora 8 și ora 16, astăzi sau mâine), starea fiziologică (sarcină, menstruație), efortul fizic și stresul psihic (prin eliberare de catecolamine), vaccinurile recente, tutunul și alcoolul etc.

Alți factori, la fel de importanți, pot fi:



- nerespectarea condițiilor de recoltare a probelor,
- nerespectarea condițiilor de conservare a probelor,
- nerespectarea condițiilor de transport al probelor.

1) Postura

La trecerea din clinostatism în ortostatism se produce o transvazare a apei din compartimentul vascular în cel interstițial într-un procent de aproximativ 8%. Astfel, se înregistrează o creștere de 3-8% a nivelului de proteine serice și a componentelor legate de proteine, dacă probă este recoltată imediat după un ortostatism prelungit și nu se așteaptă cel puțin 10 minute de decubit dorsal. Parametrii la care se observă creșterea concentrației sunt: Hb, Ht, nr. de eritrocite, nr. de leucocite, proteine totale, albumină, imunoglobuline, colesterol și calciu. La pacienții care prezintă edeme modificările sunt și mai pronunțate.

2) Ultima ingestie de alimente

Ingestia de alimente înainte de recoltare determină o creștere semnificativă a nivelului glucozei, fosforului și bilirubinei, o creștere mai accentuată a potasiului și ALAT, precum și o creștere moderată sau ușoară a acidului uric, proteinelor totale, calciului, fosfatazei alcaline și a trigliceridelor.

SPITALUL CLINIC JUDEȚEAN DE URGENȚĂ CLUJ   LABORATOR ANALIZE MEDICALE LABORATOR CENTRAL	Cod MRP-LAM	Ed. 04	Rev. 0
	MANUALUL DE RECOLTARE PROBE	Ex. necontrolat	
		Pagina: 29 din 72	

În cazurile cu hipertrigliceridemie postprandială marcată, datorită aspectului lipemic, se pot crea interferențe și pentru alți analiți, cu rezultate fals crescute și/sau fals scăzute. De aceea, se recomandă ca în afara situațiilor de urgență, recoltarea să se facă á jeun.

3) Proceduri efectuate în scop diagnostic și terapeutic

- Recoltarea probei după masaj sau puncție prostatică poate induce valori crescute ale PSA și fosfatazei acide.
- Injecțiile intramusculare cu anumite substanțe (benzodiazepine, clorpromazină, lidocaină, fenobarbital) pot determina creșteri ale CK.

4) Contaminarea probelor de laborator cu soluții perfuzabile



Reprezintă cel mai frecvent tip de interferență preanalitică în spital. De aceea, recoltarea probei de sânge nu trebuie să se facă niciodată proximal de locul perfuziei și se recomandă ca laboratorul să fie informat despre tipul substanțelor administrate și de momentul la care s-a efectuat prelevarea probelor. În aceste cazuri, probele primite pentru analiză sunt diluate în proporții variabile, necunoscute. De aceea, **recoltarea în asemenea situații trebuie să se efectueze din brațul opus celui în care este montată perfuzia, iar dacă acest lucru nu este posibil, atunci se va efectua recoltarea după întreruperea completă a perfuziei, la cel puțin 2 minute de la întreruperea acesteia.**

Cel mai frecvent incident în cazurile cu probleme a fost reprezentat de recoltarea de pe branulă. Dacă în rezervorul branulei rămân doar 0,5 ml lichid de perfuzie sau dacă înainte de recoltare se spală branula pentru repermeabilizare cu soluție heparinată, la doar 2 ml de sânge recoltat pentru analiză, aceasta înseamnă o diluție și o scădere a valorilor cu 20-25%.

Ca urmare a acestor practici de recoltare, unii parametri au valori extrem de ridicate (de exemplu glicemie de 1400 mg/dl după perfuzia cu glucoză), iar alți parametri au valori fals scăzute prin diluție. Menționăm că această ultimă situație nu poate fi întotdeauna depistată în laborator (de ex. la un pacient cu pancitopenie nu se poate preciza dacă aceasta este reală sau dacă este rezultatul unei diluții).

5) Hemoliza în vitro, care poate fi cauzată de:

- aspirarea puternică a sângelui, în special în cursul punționării venelor superficiale și mai ales dacă se folosesc ace groase;
- spargerea hematiilor, atunci când vacutainerul se umple prea greu cu sânge datorită unei venopuncții dificile; trebuie ales un alt loc de recoltare și un alt vacutainer și să se recolteze al doilea specimen;
- nerespectarea nivelului de umplere a tuburilor - retragerea prematură a acului poate determina intrarea aerului în tub cu distrugerea hematiilor; nu se retrage acul din venă până în momentul în care vacutainerul nu este complet umplut (vezi marcajul de pe etichetă);

SPITALUL CLINIC JUDEȚEAN DE URGENȚĂ CLUJ   LABORATOR ANALIZE MEDICALE LABORATOR CENTRAL	Cod MRP-LAM	Ed. 04	Rev. 0
	MANUALUL DE RECOLTARE PROBE	Ex. necontrolat	
		Pagina: 30 din 72	

- obstrucția parțială a unui cateter venos sau arterial; ca urmare a acestui fapt aspirarea este mai intensă dacă recoltarea se face cu o seringă;
- recoltarea probei cu o seringă și distribuirea sa în mai multe tuburi;
- recoltarea sângelui dintr-o zonă cu hematom;
- agitarea puternică a tubului;
- presiune pozitivă sau negativă în tuburile de recoltare;
- diluarea sângelui cu soluții hipotone;
- congelarea-decongelarea sângelui total;
- stocarea sau transportul sângelui integral într-un interval de câteva zile, în condiții ambientale.

6) Contaminarea probelor cu eritrocite

Această situație se produce în cazul stocării sau transportului îndelungat al probelor de sânge integral, centrifugarea acestora fiind efectuată tardiv. Parametri afectați: GLU, LDH, K. Nu se vor comunica rezultatele la acești parametri în cazul unei probe vechi.

7) Crioglobulinele

Crioglobulinele precipită în probele ținute la temperatura camerei; rezultă particule de diverse forme care pot mima leucocitele și se obțin astfel valori fals crescute ale numărului de leucocite. Mai mult, crioglobulinele afectează numărarea eritrocitelor (fenomen de aglutinare), hematocritul, CHEM și numărarea trombocitelor (pseudotrombocitopenie).

8) Anticorpii dependenți de EDTA



Aglutininele la rece sau alți anticorpi activi în prezența EDTA pot induce o falsă scădere a numărului de trombocite (pseudotrombocitopenie). Cu cât determinarea numărului de trombocite se efectuează mai târziu față de momentul recoltării, cu atât pseudotrombocitopenia este mai accentuată. În funcție de mărimea și forma lor, agregatele trombocitare pot fi numărate ca leucocite, rezultând astfel un număr fals crescut de leucocite.

Capitolul III. ALTE TIPURI DE RECOLTĂRI

1. Recoltarea sângelui pentru determinarea gazelor sanguine (ASTRUP)

Pentru determinarea gazelor sanguine recoltarea se poate face din sânge venos, arterial și capilar.

În laborator, în funcție de sistemele utilizate, se pot testa gazele arteriale, electroliții, metaboliții, hemoglobina totală și derivatele hemoglobinei, în toate probele de sânge arteriale, venoase și capilare.

SPITALUL CLINIC JUDEȚEAN DE URGENȚĂ CLUJ   LABORATOR ANALIZE MEDICALE LABORATOR CENTRAL	Cod MRP-LAM	Ed. 04	Rev. 0
	MANUALUL DE RECOLTARE PROBE	Ex. necontrolat	
		Pagina: 31 din 72	

Sângele arterial se obține prin puncția percutanată a arterei brahiale, radiale sau femurale. Există situații când medicul specialist poate să ceară efectuarea în prealabil a **testului Allen**, pentru a se stabili dacă fluxul de sânge care trece prin artera din care urmează să fie prelevată mostra este normal.

Pentru recoltarea sângelui venos sau arterial se utilizează seringi heparinate pentru a împiedica coagularea sângelui în seringă. După recoltare se elimină aerul din seringă, **se detașează acul** și se pune imediat capacul (seringile heparinate au un capac special), pentru a evita contaminarea cu aerul din cameră. Nu se folosesc capace de plută pentru seringă.

Pentru recoltarea sângelui capilar se folosesc tuburi capilare. Se umple tubul complet și se pune capacul în siguranță. Nu se folosesc alte materiale (argilă, plută) pentru a pune capacul tubului.

Nu se trimit la laborator seringi sau tuburi capilare care conțin cheaguri sau incorect recoltate (nu este păstrată proporția sânge:anticoagulant). În aceste situații se repetă recoltarea până la obținerea unei probe conforme.

Considerații speciale:

- dacă pacientul primește oxigen se va aștepta cel puțin 15 minute de când începe să-l primească până la recoltare;
- nu se va întrerupe administrarea de oxigen în timpul recoltării decât dacă se indică acest lucru în mod special;
- dacă pacientul tocmai a fost pus pe ventilator se va aștepta 20 minute până la recoltare.



Rezultatele testului pot fi influențate de:

- hipotermie sau febră;
- boli care afectează cantitatea de oxigen transportată la nivelul întregului organism, precum anemia sau policitemia;
- fumatul imediat înaintea efectuării testului, sau expunerea la spații neaerisite în care se pot regăsi vapori de fum (care conțin o cantitate mare de dioxid de carbon), de vopsea sau alte substanțe nocive organismului.

Probele trebuie trimise imediat la laborator, pentru a minimaliza consumul de oxigen. Prelucrarea probelor în laborator trebuie efectuată în **maxim 30 minute de la recoltare**.

2. Recoltarea de sânge pentru hemocultură

- Se recoltează sânge prin puncție venoasă în puseu febril, înainte de instituirea tratamentului antibiotic. Rezultatul este influențat de terapia cu antibiotice în curs.
- Se aseptizează larg zona de puncție prin badijonare cu alcool iodat 2%, prin mișcări circulare, din plica cotului spre exterior.
- Procedura de prelevare trebuie să respecte normele de asepsie și antisepsie necesare **pentru a evita contaminarea probei cu bacterii rezidente în flora tegumentară.**

SPITALUL CLINIC JUDEȚEAN DE URGENTĂ CLUJ   LABORATOR ANALIZE MEDICALE LABORATOR CENTRAL	Cod MRP-LAM	Ed. 04	Rev. 0
	MANUALUL DE RECOLTARE PROBE		
	Ex. necontrolat		
			Pagina: 32 din 72

- Se îndepărtează protectorul de pe flacoane și se dezinfectează cauciucul cu alcool izopropilic 70° (conform recomandărilor CLSI) sau cu dezinfectantul existent în spital la recomandarea SPIAAM.
- Se recoltează cu ac (19 sau 21G) și seringă între 10-20 ml (între 5-10 ml sânge la adulți pentru fiecare flacon și 1-3 ml sânge la nou-născut), în flacoane speciale. Un set de hemocultură constă din recoltarea sângelui dintr-o singură puncție venoasă, repartizat în flacoanele aerob și anaerob.
- Se evacuează aerul din seringă și se injectează aseptically conținutul în flacoane, întâi în flaconul aerob și cu un ac schimbat în flaconul anaerob.
- **Nu** se introduc cantități mai mari de 10 ml în flacoanele pentru adulți și de 3 ml pentru copii.
- Flacoanele se agită blând pentru omogenizare.
- Pe flacoanele recoltate se notează numele și prenumele pacientului și se trimit cât mai repede la laborator.
- În caz de bacteriemie legată de cateter se recomandă recoltarea simultană din cateter și o venă periferică pentru compararea rezultatelor.

În caz de suspiciune de septicemie, se indică recoltarea a trei seturi succesive de hemoculturi în puseu febril, alternând locul de recoltare (două vene diferite).

Nu se refrigerează!

3. Recoltarea urinei pentru determinări fizico-chimice, microscopice și bacteriologice



Se pot recolta mai multe tipuri de probe de urină, în funcție de examinările ce trebuie efectuate:

- o prima urină de dimineață: pentru examenul sumar al urinei pe strip și examenul microscopic al sedimentului urinar sau pentru urocultură;
- o o probă de urină spontană sau spoturi urinare: determinări chimice calitative sau cantitative (în ultimul caz, rezultatul se raportează, de obicei, la creatinina urinară);
- o "a 2-a urină" (orele 7-10 dimineața): pentru clearance la creatinină.
- o urina din 24 ore: determinarea ratei de excreție urinară a diverșilor analiți.

a) Pentru biochimia urinei și sumarul de urină cu sediment

Prima urină de dimineață este proba recomandată pentru biochimia urinei și examenul microscopic al sedimentului urinar, deoarece reprezintă cea mai concentrată urină, are un volum uniform și un pH scăzut, ceea ce permite conservarea elementelor. Dacă nu se poate obține prima urină, se va nota ora recoltării pe formularul de însoțire al probei către laborator sau în cererea electronică;

Este foarte important ca pacienții să cunoască modul corect de recoltare a probelor de urină:

SPITALUL CLINIC JUDEȚEAN DE URGENȚĂ CLUJ   LABORATOR ANALIZE MEDICALE LABORATOR CENTRAL	Cod MRP-LAM	Ed. 04	Rev. 0
	MANUALUL DE RECOLTARE PROBE	Ex. necontrolat	
		Pagina: 33 din 72	

- după toaleta mâinilor și a regiunii genitor-urinare (spălare cu apă și săpun, ștergere cu prosop curat și călcat), se recoltează într-un vas curat prima urină de dimineață (10-15 ml din jetul mijlociu). Se notează pe recoltor numele pacientului;
- pentru analizarea sumarului de urină nu se recomandă adăugarea de conservanți;
- probele care nu ajung în maxim 4 ore la laborator se păstrează la frigider;
- dacă se urmărește în mod special dozarea urobilinogenului și a bilirubinei, se recomandă păstrarea urinei în recipiente de culoare închisă și ferite de lumină.

Se recomandă ca urina să fie procesată:

- **optim în 1- 2 ore de la recoltare**
- **acceptabil până la 4 ore de la recoltare**, deoarece, în timp, se modifică următorii parametri: bilirubina, urobilinogenul, glucoză (scad), bacteriile (se înmulțesc), pH-ul (crește). În urină cu densitate <1010 și/sau pH >7 eritrocitele, leucocitele și cilindrii se distrug rapid.

b) Recoltarea urinei la sugari

Se curăță zona genito-urinară cu apă și săpun (nu se aplică creme, uleiuri sau pudre pediatrice).

Se atașează punga pediatrică de recoltare a urinei dezlipindu-se banda protectoare și fixând porțiunea adezivă la nivelul perineului, astfel încât orificiul urinar să fie complet inclus în pungă.



Imediat ce copilul urinează în punga colectoare, aceasta se dezlipiște, conținutul de urină se transferă în recipientul de plastic (evitându-se contaminarea) și se transportă la laborator în condiții corespunzătoare.

c) Pentru determinări cantitative din urină (urina pe 24 de ore sau random)

A) din urina din 24 ore, care se recoltează în recipiente curate chimic;

- cele mai frecvente erori în această testare provin din incorecta recoltare sau conservare a urinei timp de 24 ore;
- după toaleta matinală a regiunii genito-urinare, se aruncă prima urină de dimineață, se notează ora, apoi se recoltează într-un vas mai mare (2-3 litri), curat, volumele de urină rezultate pe parcursul zilei și nopții care urmează și prima urină din dimineața următoare;
- pe parcursul recoltării, vasul se ține la rece (este contraindicată adăugarea de conservanți).
- se măsoară volumul recoltat în cele 24 de ore (cu cilindru gradat), se notează pe recoltor: numele pacientului, data recoltării și volumul de urină pe 24 ore, apoi se omogenizează și se trimite la laborator un eșantion de 10-15 ml.

B) din urina random, se trimite la laborator un eșantion de 10-15 ml.

SPITALUL CLINIC JUDEȚEAN DE URGENȚĂ CLUJ   LABORATOR ANALIZE MEDICALE LABORATOR CENTRAL	Cod MRP-LAM	Ed. 04	Rev. 0
	MANUALUL DE RECOLTARE PROBE	Ex. necontrolat	
		Pagina: 34 din 72	

d) Recoltarea urinei pentru testul Addis – Hamburger (metoda rapidă)

- prima urină de dimineață se aruncă, apoi timp de 3 ore pacientul nu va ingera lichide;
- după aceste 3 ore se colectează urina într-un recipient curat;
- se notează cu exactitate cantitatea totală colectată și se aduce la laborator un eșantion de 50 ml; la diureza scăzută o eroare de 10 ml da o valoare semnificativ modificată.
- eșantionul va fi pus într-un recipient pentru sumar de urină pe etichetă căruia se vor nota numele și prenumele pacientului și volumul urinar colectat în cele 3 ore.

e) Clearance la creatinină (metoda rapidă)

Există în literatura de specialitate mai multe metode de recoltare a clearance-ului, cantitatea de urină putând fi recoltată la un interval de 2 ore, 3 ore sau 24 ore, poate fi colectată sub forma unei singure probe sau a două probe, la un anumit interval orar.


Recipient de recoltare - vacutainer fără anticoagulant cu/fără gel separator pentru sânge; pahar de plastic de unică folosință pentru urină.

Specimen recoltat - 2 probe de urină (U_1 și U_2) și o probă de sânge venos (P), după cum urmează:

- În dimineața recoltării pacientul stă în repaus la pat;
- O jumătate de oră înainte de începerea testului pacientul bea o cantitate de apă echivalentă cu 10 ml/ kg corp;
- După ce pacientul a terminat de băut apa, urinează - această urină nu se reține;
- Se notează ora la care s-a golit vezica urinară;
- Apoi se așează din nou în decubit;
- În două etape consecutive de una sau două ore pacientul își golește din nou vezica;
- Probele se notează cu U_1 și U_2 ;
- Se recoltează sânge venos, care se etichetează cu numele pacientului;
 - Proba de sânge pentru dozarea creatininei se poate recolta fie la începutul clearance-ului, fie la jumătatea intervalului dintre cele două perioade de colectare a urinei, deoarece această componentă este constantă pentru organism minimum 24 de ore.
- Diureza minimă pentru un clearance este de 1,5 ml/minut;
- În cazul în care diureza nu este suficientă, bolnavul este obligat să mai bea circa 200-300 ml apă;
- Se măsoară cu precizie volumele urinelor U_1 și U_2 din care se calculează debitul urinar exprimat în ml/minut notate cu V_1 și V_2 ;
- Se aduc toate probele la laborator pentru efectuarea și calculul clearance-ului.

f) Proteinele Bence-Jones

Pregătire pacient: - testul nu necesită o pregătire prealabilă.

SPITALUL CLINIC JUDEȚEAN DE URGENȚĂ CLUJ   LABORATOR ANALIZE MEDICALE LABORATOR CENTRAL	Cod MRP-LAM	Ed. 04	Rev. 0
	MANUALUL DE RECOLTARE PROBE	Ex. necontrolat	
		Pagina: 35 din 72	

Recoltare: Se colectează cel puțin 50 mL din urina emisă dimineața într-un recipient. Se menționează medicamentele primite de pacient ce ar putea interfera cu rezultatele.

Rezultate fals pozitive: proba de urină se transportă la laborator la rece și cât mai rapid, deoarece proteinele pot coagula la cald determinând un test fals pozitiv.

Rezultate fals negative: urina diluată determină rezultate fals negative.

g) Recoltarea urinei pentru Urocultură

Instrucțiuni pre-recoltare:

- Urina se recoltează în recipiente sterile, de unică folosință, cu capac înfiletat.
- Nu se deschide recipientul pentru urocultură până în momentul folosirii și nu se atinge cu mâna partea interioară.
- Orificiul recipientului să nu atingă tegumentele, mucoasele, lenjeria.
- Capacul recipientului să nu se desterilizeze.
- Urina să nu se prelingă pe zonele nedecontaminate (se retrage recipientul înainte de întreruperea micțiunii).
- Bolnavul să aibă pregătite tampoane de tifon steril pentru toaleta zonei genitale.
- Dacă nu se dispune de duș mobil, să se pregătească din timp apă fiartă și răcită pentru igiena genitală.
- Dacă bolnavul este sub tratament cu antibiotic îl va întrerupe cu 24 ore înainte de momentul recoltării (se menționează acest lucru la predarea probei).



A) Procedura la femei:

- Pacienta se spală pe mâini cu apă și săpun, le usucă.
- Cu o mână îndepărtează labile mici, efectuează toaleta vulvară riguroasă, se clătește abundent cu apă, preferabil sterilă – nu se folosesc soluții antiseptice deoarece pot fi antrenate în urină, inactivând germenii.
- Se usucă zona vulvară decontaminată cu două tampoane de tifon sterile (prosop curat, călcat) prin ștergere unică din față înspre spate – dacă rămân pelicule de apă, germenii din zonele nedecontaminate pot fi antrenate în jetul de urină.
- Pacienta îndepărtează cu două degete labiile mici, trăgând ușor anterior și începe să urineze, având grijă ca urina să nu curgă pe degete.
- Primul jet de urină, aproximativ 10 ml de urină, se lăsa să se scurgă (numărare încet până la 3).
- Se urinează în continuare fără întrerupere, se prinde cantitatea de urină necesară, aproximativ 2-3 ml (nu mai mult de 5 ml) direct în recipientul steril, de unică folosință, cu capac înșurubabil.
- Se retrage recipientul înainte de întreruperea urinării.

B) Procedura la bărbați:

- Pacientul se spală pe mâini cu apă și săpun, le usucă cu șervețel.

Acest document conține informații care sunt proprietatea Spitalului Clinic Județean de Urgență Cluj, Laborator Central. Se interzice multiplicarea, modificarea sau difuzarea procedurii fără acordul managementului laboratorului.

SPITALUL CLINIC JUDEȚEAN DE URGENȚĂ CLUJ   LABORATOR ANALIZE MEDICALE LABORATOR CENTRAL	Cod MRP-LAM		Ed. 04	Rev. 0
	MANUALUL DE RECOLTARE PROBE			
	Ex. necontrolat			
				Pagina: 36 din 72

- Cu o mână se retractă prepuțul pentru a decalota complet glandul.
- Se efectuează toaleta riguroasă a glandului cu apă și săpun, clătire abundentă cu apă – preferabil sterilă.
- Menținând prepuțul retras se urinează, primul jet se aruncă (se numără până la 3), recoltându-se din jetul mijlociu aproximativ 10 ml în recipient steril.
- Se retrage recipientul înainte de întreruperea micțiunii.

Urina recoltată pentru urocultură trebuie transportată urgent la laborator (maxim 3 ore de la recoltare)

C) Recoltarea urinei obținute prin sondaj vezical

- Se colectează urina obținută într-un recipient steril imediat după introducerea unui cateter nou; se etichetează, se notează numele pacientului și se transportă imediat la laborator;
- Este indicată la: pacienții necooperanți, pacienții care nu micșionează din cauze neurologice sau urologice, pacienții cateterizați pentru explorări urologice.

4. Recoltarea de materii fecale pentru determinări fizico-chimice, parazitologice și bacteriologice

a) Depistare hemoragii oculte în scaun

Pentru evitarea reacțiilor fals pozitive pacientul trebuie să țină un regim de 3 zile fără carne, pește sau legume verzi; de asemenea, se va întrerupe administrarea preparatelor cu fier.

Dacă în laborator se efectuează testul prin metoda imunocromatografică specifică pentru sângele uman, nu mai este necesar regimul dietetic menționat mai sus. Este și cazul Laboratorului de Analize Medicale al SCJU Cluj.

Proba se recoltează la minim 3 zile de la încheierea sângerării menstruale, sângerărilor hemoroidale sau urinare.



Alcoolul, aspirina și alte medicamente luate în exces pot cauza iritații gastro-intestinale provocând hemoragii oculte. Se recomandă, dacă este posibil, întreruperea administrării acestor substanțe cu 48 ore înainte de recoltare.

Recipient de recoltare – coprorecoltor.

Recoltare: se recoltează scaunul emis spontan într-un vas curat și uscat, având grijă să nu se amestece cu urina. Trebuie verificat ca materiile fecale să nu fie contaminate cu sânge provenit din hemoroizi sângerânți. Se ridică cu ajutorul linguriței coprorecoltorului o cantitate mică de materii fecale din diferite părți ale scaunului și se introduce lingurița cu grijă în recipient. Se înșurubează capacul coprorecoltorului și se notează numele pe etichetă. Se recomandă repetarea testului de 2-3 ori la un interval de 2-3 zile.

Probele se trimit la laborator în maxim 3 ore de la recoltare!

Probele care nu pot ajunge în laborator în maxim 3 ore de la recoltare se vor conserva prin refrigerare până la maxim 3 zile la 2-8° C!

SPITALUL CLINIC JUDEȚEAN DE URGENȚĂ CLUJ   LABORATOR ANALIZE MEDICALE LABORATOR CENTRAL	Cod MRP-LAM		Ed. 04	Rev. 0	
	MANUALUL DE RECOLTARE PROBE			Ex. necontrolat	
				Pagina: 37 din 72	

b) Examenul coproparazitologic

Se recoltează scaunul emis spontan într-un vas curat și uscat, având grijă să nu se amestece cu urina. Se ridică cu ajutorul linguriței coprorecoltorului cantități mici de materii fecale și se introduce lingurița cu grijă în recipient. Se înșurubează capacul coprorecoltorului și se notează numele pe etichetă. Este indicat să se recolteze 5 probe la interval de 7-10 zile, deoarece eliminările de paraziți sunt intermitente.

c) Examenul de digestie

Pentru informații exacte asupra digestiei și absorbției intestinale, bolnavul este supus unui regim alimentar de probă, care să conțină țesut conjunctiv, țesut muscular, grăsimi, amidon, celuloză, într-un raport bine stabilit; sau fără regim de probă cu condiția de a fi asigurată polivalența alimentației.

Prânzul de probă:

- 500 ml lapte
- 100 g pâine
- 50 g unt
- 100 g carne de vacă
- 200 g cartofi

Prânzul se administrează 3 zile consecutiv.


Se recoltează scaunul emis spontan într-un vas curat și uscat, având grijă să nu se amestece cu urina. Se ridică cu ajutorul linguriței coprorecoltorului cantități mici de materii fecale și se introduce lingurița cu grijă în recipient. Se înșurubează capacul coprorecoltorului și se notează numele pe etichetă.

d) Coprocultura

Se recoltează din scaunul emis spontan, cât mai precoce după debutul bolii (în primele 3 zile de boală germenii sunt prezenți în număr cel mai mare).

Scaunul se reține într-un vas curat și uscat, având grijă să nu se amestece cu urina. Se ridică cu ajutorul linguriței coprorecoltorului cantități mici de materii fecale, aproximativ egale cu cantitatea mediului de transport, din mai multe locuri, mai ales din zonele ce prezintă modificări (mucus, sânge, puroi), ce nu s-au atins de vasul colector și se introduce în coprorecoltoare cu mediu de transport Cary – Blair (puse la dispoziție de laboratorul de microbiologie, după caz). Materiile fecale trebuie să ajungă în mediul de transport și să se amestece cu acesta, să nu rămână pe suprafața mediului de transport. Este important pentru ca trecerea pe mediile de cultură să fie făcută din mediul de transport și nu din materiile fecale aflate deasupra (de multe ori este imposibil de scos din mediul de transport produsul recoltat din cauza cantității exagerate – în aceste situații produsul va fi refuzat, practic mediul de transport nu își poate îndeplini rolul!).

Probele care nu pot ajunge în laborator în maxim 2 ore de la recoltare se vor conserva prin refrigerare maxim 14 ore la 4° C!

SPITALUL CLINIC JUDEȚEAN DE URGENȚĂ CLUJ   LABORATOR ANALIZE MEDICALE LABORATOR CENTRAL	Cod MRP-LAM	Ed. 04	Rev. 0
	MANUALUL DE RECOLTARE PROBE	Ex. necontrolat	
		Pagina: 38 din 72	

e) Recoltarea de materii fecale - determinare de Clostridium Difficile (toxine A/ B)

Indicații de testare:

- toți pacienții la care diareea apare după 48 de ore de la internare
- diaree sau alte tablouri clinice sugestive la pacienți care au avut spitalizări recente sau tratament la domiciliu cu antibiotice, antisecretorii gastrice, imunosupresoare.

Sugarii și copiii mici pot fi colonizați cu Clostridium difficile toxigen fără a dezvolta boala, de aceea testarea nu se recomandă sub vârsta de 2 ani.

Mod de recoltare: Se recoltează materii fecale proaspăt emise; cantitatea recomandată este 1-2 g de materii fecale formate sau 1-2 ml de materii fecale lichide; nu sunt acceptate probe recoltate pe tampon rectal. Doar la pacienții cu ileus se acceptă și probe recoltate pe tampon rectal.

Materialul recoltat se introduce într-un recipient de unică folosință pentru fecale; este interzisă adăugarea de substanțe conservante.

Materiile fecale normale nu sunt acceptabile pentru prelucrare; acestea sunt respinse cu un comentariu adecvat.

Probele se transportă în maxim 2 ore de la recoltare.

Un rezultat negativ nu exclude prezența unei afecțiuni asociate cu Clostridium difficile. Un rezultat fals-negativ poate avea următoarele cauze:

- recoltare, transport sau păstrare improprie a probei;
- niveluri scăzute de toxine A/B, sub limita de detecție a metodei;
- degradarea toxinelor.

Stabilitatea probei – după recoltare, proba trebuie transportată cât mai repede la laborator; proba este stabilă 3 zile la 2-8°C; se poate refrigera pentru o lună la -25°C sau peste o lună la -70°C.

5. Recoltarea lichidului cefalorahidian (LCR)

Recoltarea LCR se efectuează de către medic, prin puncție lombară (sau din alte regiuni ale coloanei vertebrale).

a) Pentru examinările hematologice, biochimice și imunologice:



Se trimite la laborator 4-5 ml de LCR fie în vacutainere fără aditivi sau acceleratori de coagulare, fie în recipiente sterile cu capac înșurubabil, evitându-se contaminarea.

b) Pentru examenul bacteriologic:

Se recoltează prin rahicenteză, uzual lombară sau puncție ventriculară în condiții strict aseptice.

Se recoltează 5-10 ml lichid cefalorahidian în recipient steril.

Probele se trimite în maxim 1 oră în laborator pentru examinare. Nu se refrigerează!

SPITALUL CLINIC JUDEȚEAN DE URGENȚĂ CLUJ   LABORATOR ANALIZE MEDICALE LABORATOR CENTRAL	Cod MRP-LAM	Ed. 04	Rev. 0
	MANUALUL DE RECOLTARE PROBE	Ex. necontrolat	
		Pagina: 39 din 72	

6. Recoltarea produselor patologice pentru examen bacteriologic

Generalități:

Recoltările bacteriologice se efectuează de către:

- a) asistentul medical: secreție faringiană, puroi, secreții din leziuni superficiale sau eliminate prin tub de dren, sânge pentru hemocultură, urina recoltată prin cateter permanent;
- b) medicul curant: lichide sterile în mod normal (excepție sânge), probe prelevate intraoperator, urina prin cateter nou introdus;
- c) bolnav (după instruirea corespunzătoare): urina emisă spontan, materii fecale.

Recoltările bacteriologice se efectuează înainte de instituirea tratamentului antibacterian. În cazul în care bolnavul se află deja sub tratament antibacterian, se specifică în cererea de analize, la rubrica "Observații", felul antibioticului/antisepticului, durata și modul de administrare, precum și momentul administrării ultimei doze.

Recoltările trebuie făcute aseptice, reducându-se astfel, sau prevenind, contaminarea probelor bacteriologice cu germeni din flora de asociație. Prezența contaminanților îngreunează interpretarea corectă a rezultatelor.

Instrumentele de prelevare, recipientele pentru recoltare trebuie să fie sterile și lipsite de urme de substanțe antibacteriene, de aceea se folosesc cele de unică folosință cu capac înșurubabil, ce se închide etanș.

În intervalul dintre prelevarea probelor și examenul lor microbiologic în laborator (care poate varia de la câteva minute la câteva ore) se urmăresc două **obiective majore**:

1. Menținerea condiției microbiologice inițiale a probei (supraviețuirea microbului infectant, inhibarea multiplicării microbilor contaminanți, menținerea nealterată a citologiei).
2. Prevenirea răspândirii microbului infectant la personal și în colectivitate.

Produsele care nu pot fi transportate în timp corespunzător la laborator trebuie recoltate pe medii de transport (chiar și în aceste condiții trebuie să ajungă în laborator în maxim 4 ore).

Pentru produsele la care nu pot fi folosite medii de transport se recomandă refrigerarea la 4-8°C, unde majoritatea germenilor supraviețuiesc (cu excepția: *Neisseria meningitidis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Haemophilus influenzae*, anaerobi), iar multiplicarea lor este oprită, raportul dintre germenii patogeni și contaminanți rămânând neschimbat.

Nu rezistă la refrigerare: meningococul, gonococul, *Haemophilus influenzae*.

ATENȚIE! Nu se refrigerează: *hemoculturile, lichidele de puncție (LCR, lichid pleural, lichid ascitic, lichid pericardic etc.), exsudatele faringiene, produsele recoltate pentru cultivarea anaerobilor.*

SPITALUL CLINIC JUDEȚEAN DE URGENȚĂ CLUJ   LABORATOR ANALIZE MEDICALE LABORATOR CENTRAL	Cod MRP-LAM	Ed. 04	Rev. 0
	MANUALUL DE RECOLTARE PROBE	Ex. necontrolat	
		Pagina: 40 din 72	

a) Recoltarea exsudatului faringian.

- Se prelevează dimineața înainte de toaleta gurii și a ingerării de alimente, lichide, fumat;
- Pacientul se așează pe scaun cu fața spre o sursă de lumină, gâtul în ușoara extensie, se deprimă baza limbii cu un apăsător de limbă steril în timp ce pacientul pronunță vocala A; se șterg ferm cu tamponul steril amigdalele, peretele posterior al faringelui, orice zonă inflamată, ulcerată sau cu depozit purulent, se pătrunde în criptele amigdaline; se evită atingerea tamponului de baza limbii sau de palatul moale.

Probele se trimit la laborator în maxim 3 ore de la recoltare!

b) Recoltarea exsudatului lingual

Se face înainte de toaleta gurii sau ingestia de alimente, înaintea instituirii tratamentului antimicotic;

- Pacientul se așează pe scaun cu fața spre o sursă de lumină, gâtul în ușoara extensie;
- Cu un tampon steril se șterge limba;
- Tamponul se rotește de cel puțin 5 ori.

Probele se trimit la laborator în maxim 3 ore de la recoltare!

c) Recoltarea secreției nazale

- Pacientul se așează pe scaun cu fața spre o sursă de lumină, gâtul în ușoară extensie;
- Cu un tampon umectat în ser fiziologic steril se șterg pe rând ambele camere nazale anterioare;
- Tamponul se rotește de cel puțin 5 ori în fiecare nară, apăsând egal și ferm peretele vestibulului nazal.
- Dacă se practica recoltarea din ambele fose nazale se vor folosi tampoane separate și se va menționa pe fiecare proveniența

Probele se trimit la laborator în maxim 3 ore de la recoltare!

d) Recoltarea secreției otice



- În caz de otite externe se prelevează exsudatul cu un tampon steril umectat în ser fiziologic.
- În otitele medii se recoltează exsudat aspirat prin timpanocenteză sau, în caz de perforare spontană a timpanului, se recoltează cu un tampon cu mediu de transport din fistulă.

Probele se trimit la laborator în maxim 3 ore de la recoltare!

e) Recoltarea probelor de secreție conjunctivală

Se face înainte de toaleta feței și de terapia antimicrobiană topică sau sistemică.

- Se recoltează cu 2 tampoane sterile umectate în ser fiziologic, exsudat din sacul conjunctival și de pe suprafața ambelor conjunctive palpebrale.
- Se poate recolta exsudat seros sau seropurulent prin aspirare cu micropipeta din sacul conjunctival și se introduce într-un recipient steril cu ser fiziologic.

SPITALUL CLINIC JUDEȚEAN DE URGENȚĂ CLUJ   LABORATOR ANALIZE MEDICALE LABORATOR CENTRAL	Cod MRP-LAM	Ed. 04	Rev. 0
	MANUALUL DE RECOLTARE PROBE		
	Ex. necontrolat		
Pagina: 41 din 72			

- Se raclează cu spatula de platină sterilă din ulcerule corneene și se introduce materialul în recipient steril cu ser fiziologic.

Probele se trimit la laborator în maxim 2 ore de la recoltare!

f) Recoltarea sputei

Se explică pacientului diferența între spută, salivă și secreție rinofaringiană înghițită și expectorată.

Sputa emisă spontan se recoltează dimineața, când schimbarea poziției din clinostatism în ortostatism favorizează eliminarea secrețiilor bronșice. Pacientul elimină secrețiile nazofaringiene, se spală pe dinți, clătește abundant gura cu apă și efectuează gargară profundă cu ser fiziologic. Sputa se obține după o tuse profundă, se expectorează în recipient steril, cu capac înșurubabil.

Sputa recoltată trebuie transportată urgent la laborator (maxim 2 ore de la recoltare!)

Nu se lucrează probele de spută după 24 ore de la recoltare - înmulțirea contaminanților împiedică detectarea patogenilor infectanți, iar refrigerarea îndelungată poate omorî patogenii sensibili.

Aspiratul transtraheal și lavajul bronșic sunt probele indicate pentru examenul bacteriologic și aprecierea corectă a infecțiilor respiratorii la pacienții intubați.

Sunt metode de recoltare invazive, de competența medicului specialist, și se efectuează bronhoscopic. Produsul astfel recoltat se introduce în recipiente sterile, cu capac înfiletat și se transportă cât de repede la laborator.



Vârfurile de tuburi endotraheale obținute de la nou – născuți se plasează în recipiente sterile și se transportă imediat la laborator.

Nu se acceptă vârfuri de tuburi endotraheale de la adulți, deoarece acestea se contaminează frecvent.

g) Recoltarea spermei

Condiția recoltării de spermă pentru spermogramă și spermocultură este lipsa contactului sexual (ejaculării) cu trei zile înainte de recoltare. Sperma se recoltează în recipiente de unică folosință, cu capac înfiletat.

- Pacientul se spală pe mâini cu apă și săpun, le usucă cu șervețel.
- Cu o mână se retractă prepuțul pentru a decalota complet glandul.
- Se efectuează toaleta riguroasă a glandului cu apă și săpun, clătire abundantă cu apă – preferabil sterilă.
- Se usucă cu două tifoane sterile prin ștergere dinspre meat spre fren.
- Se ejaculează după masturbare în recipient, având grijă ca toată cantitatea de spermă să fie recoltată și orificiul recipientului să nu atingă tegumentele, mucoasele, lenjeria, iar capacul recipientului să nu se desterilizeze.
- Se notează numele pe recipient.

SPITALUL CLINIC JUDEȚEAN DE URGENȚĂ CLUJ   LABORATOR ANALIZE MEDICALE LABORATOR CENTRAL	Cod MRP-LAM	Ed. 04	Rev. 0
	MANUALUL DE RECOLTARE PROBE	Ex. necontrolat	
		Pagina: 42 din 72	

Sperma recoltată trebuie transportată urgent la laborator (maxim 1/2 oră de la recoltare!)

h) Recoltarea secrețiilor genitale

La femei, în vaginite, se recoltează cu trei tampoane secreții din fundul de sac vaginal și se aduc imediat în laborator. Ele vor fi destinate cultivării bacteriene și fungice, precum și examenului microscopic colorat.

- în cazul suspiciunii clinice de infecție cu *Trichomonas vaginalis* se recoltează secreție cu ajutorul valvelor ginecologice și se întinde pe o lamă curată care se acoperă cu o lamelă. Produsul se transporta în cel mai scurt timp la laborator;
- în caz de suspiciune de infecție gonococică se solicită laboratorului o placă cu mediu selectiv (geloză Chocolat). Secreția recoltată se întinde cu un tampon steril direct pe mediu preîncălzit la 37° C și se aduce lor **în cel mai scurt timp** în laborator.

La bărbați, în uretrite, se recoltează secreție uretrală dimineața, înainte de micțiune cu tampon steril.

Se indică recoltarea a două tampoane. Ele vor fi destinate cultivării bacteriene și fungice, precum și examenului microscopic colorat.

- suspiciunea de infecție gonococică impune recoltarea secreției uretrale direct pe mediul de cultură selectiv (geloză Chocolat) preîncălzit la 37° C și aducerea cât mai rapidă în laborator;
- în suspiciunea de infecție cu *Trichomonas vaginalis* se recoltează secreție pe un tampon steril îmbibat în ser fiziologic în cel mai scurt timp în laborator.



Detectarea de antigene Chlamydia:

- Se recoltează din canalul cervical sau uretră;
- Pacientul își ține urina 1-2 ore;
- Cu un tampon steril se șterge mucusul de la orificiul cervical/uretral;
- Tamponul special de recoltare se introduce la 1-1,5 cm intracervical/ la 2-4 cm intrauretral și se rotește 5-10 secunde (este esențial să se obțină celulele epiteliale, Chlamydia fiind un germen intracelular);
- Se extrage ușor tamponul, evitând contactul cu regiunile adiacente;
- Tamponul se introduce în mediul de transport special.

i) Recoltarea puroiului din arsuri, plăgi, leziuni superficiale

Suprafața zonei de recoltare se spală cu soluție salină sterilă pentru îndepărtarea exsudatului stagnant, prelevarea se face dintr-o zonă lipsită de țesut necrotic, cea mai indicată fiind prelevarea biptică cu perforatorul dermic de 4 mm.

Tampoanele sunt contraindicate pentru prelevarea puroiului ori de câte ori putem obține probe prin puncție-aspirație, chiuretaj sau biopsie. **Tampoanele pot fi utilizate numai**

SPITALUL CLINIC JUDEȚEAN DE URGENȚĂ CLUJ   LABORATOR ANALIZE MEDICALE LABORATOR CENTRAL	Cod MRP-LAM	Ed. 04	Rev. 0
	MANUALUL DE RECOLTARE PROBE	Ex. necontrolat	
		Pagina: 43 din 72	

pentru prelevarea puroiului din colecții foarte mici, după irigarea leziunilor cu ser fiziologic steril.

Produsul astfel recoltat se trimite direct în seringă utilizată la aspirație cu acul protejat, iar în caz de chiuretaj sau biopsie, materialul obținut se introduce steril într-un recipient steril cu deschidere largă și cu capac înfiletat.

Din leziunile superficiale cronice (ulcer de gambă, picior diabetic) se recoltează produs patologic în vederea examenului bacteriologic doar în cazul unor semne clare de infecție, deoarece de regulă există o floră de contaminare bogată iar cultivarea nu oferă informații suficient de pertinente pentru a stabili rolul germeilor izolați în cauzarea infecției. În acest caz recoltarea se face cu ajutorul unui tampon, după irigare cu ser fiziologic, alegând porțiunea cea mai profundă a plăgii. **Nu se recoltează cu tamponul prin simpla ștergere superficială a plăgii.**

Probele se trimit la laborator în maxim 2 ore de la recoltare!

j) Recoltarea din colecții

- Se face prin puncție de aspirație cu ac de grosime adaptată tipului colecției.
- Seringa se aduce în timp cât mai scurt în laborator sau materialul obținut se introduce steril într-un recipient steril cu deschidere largă și cu capac înfiletat.

Pentru izolare de floră anaerobă:

- Se recoltează din colecții închise, în flacon de hemocultură pentru anaerobi sau în recipiente cu bulion tioglicolat; în lipsa acestor recipiente se poate recolta în seringă, după ce se elimină bulele de aer, al cărui ac se înțeapă în dop de cauciuc.
- Produsul recoltat se trimite cât mai repede la laborator.

Probele se trimit la laborator în maxim 2 ore de la recoltare! Nu se refrigerază!



k) Recoltarea cateterelor venoase centrale

- Se secționează cu un foarfece steril, din inserția i.v. a cateterului și se introduce într-o placă Petri sterilă.

Se trimite imediat în laborator pentru examinare.

l) Recoltarea probelor pentru examen micologic

- Probele de la nivelul mucoaselor, plăgilor, ulcerelor destinate examenului micologic se recoltează cu un tampon steril;
- Pentru diagnosticul dermatomicozelor se recoltează prin raclare cu marginea unei lame de sticlă șlefuită, bisturiu sau cu o mică chiuretă, scuame din leziunile mai recente netratate antimicotic (la limita dintre leziune și zona sănătoasă); materialul recoltat se depune pe o lamă curată și se acoperă cu o lamelă;
- În leziunile unghiale se recoltează material subunghial din partea modificată a unghiei, cu un bisturiu sau vârf de lanțetă;

SPITALUL CLINIC JUDEȚEAN DE URGENȚĂ CLUJ   LABORATOR ANALIZE MEDICALE LABORATOR CENTRAL	Cod MRP-LAM	Ed. 04	Rev. 0
	MANUALUL DE RECOLTARE PROBE	Ex. necontrolat	
		Pagina: 44 din 72	

- Firele de păr afectate vor fi smulse cu o pensetă;
- Materialul recoltat se pune între două lame de sticlă curate și se aduc cât mai repede în laborator.

7. Recoltarea probelor pentru determinări imunologice

Acid folic

Pregătire pacient – à jeun (pe nemâncate), înaintea unor eventuale injecții cu vitamina B12, administrării de transfuzii sau începerii tratamentului cu folat.

Specimen recoltat – sânge venos.

Recipient de recoltare – vacutainer fără anticoagulant cu/fără gel separator.

Cauze de respingere a probei – ser hemolizat.

Stabilitate probă – serul separat este stabil 8 ore la 2-8°C; timp îndelungat la -20°C.

Metoda – imunochimică cu detecție prin chemiluminiscență (CLIA).

Timp de execuție: 7 zile

Alfafetoproteina (AFP)

Pregătire pacient – à jeun (pe nemâncate) sau postprandial

Specimen recoltat – sânge venos.

Recipient de recoltare – vacutainer fără anticoagulant, cu/fără gel separator.

Cauze de respingere a probei – specimen hemolizat; specimen expus la temperatură ridicată; specimen contaminat bacterian.

NOTĂ: specimenul care prezintă turbiditate sau particule în suspensie trebuie clarificat prin centrifugare.

Stabilitate probă – serul separat este stabil 2 zile la 2-8°C; timp îndelungat la -20°C sau la -70°C.

Metoda – imunochimică cu detecție prin chemiluminiscență (CLIA).

Timp de execuție: 7 zile

Anticorpi anti-ADN dublu caternar (anti ADNdc)

Pregătirea pacientului – recoltarea se realizează à jeun (pe nemâncate) sau postprandial (după mese).



Specimenul recoltat – sânge venos

Recipientul de recoltare – vacutainer fără anticoagulant cu/fără gel separator.

Cauze de respingere a probei - specimen intens hemolizat și lipemic; specimen contaminat bacterian.

Stabilitate probă - serul separat este stabil 4 zile la 2-8°C; timp mai îndelungat la -20°C;

Timp de execuție: 4-7 zile.

SPITALUL CLINIC JUDEȚEAN DE URGENȚĂ CLUJ   LABORATOR ANALIZE MEDICALE LABORATOR CENTRAL	Cod MRP-LAM	Ed. 04	Rev. 0
	MANUALUL DE RECOLTARE PROBE	Ex. necontrolat	
		Pagina: 45 din 72	

Anticorpi Anti-Borrelia IgG și IgM

Pregătire pacient – nu este necesară

Specimen recoltat – sânge venos.

Recipient de recoltare – vacutainer fără anticoagulant cu/fără gel separator.

Cauze de respingere a probei – ser hemolizat

Stabilitate probă – 14 zile la 2-8°C, timp îndelungat la -20°C

Metoda – ELISA.

Timp de execuție: 7 zile

Anticorpi anti-cardiolipina (ACA) - IgG

Pregătirea pacientului – recoltarea se realizează à jeun (pe nemâncate) sau postprandial

Specimenul recoltat – sânge venos

Recipientul de recoltare – vacutainer fără anticoagulant cu/fără gel separator.

Cauze de respingere a probei - specimen intens hemolizat și lipemic; specimen contaminat bacterian.

Stabilitate probă - serul separat este stabil 4 zile la 2-8°C; timp mai îndelungat la -20°C;

Timp de execuție: 10-15 zile.

Anticorpi anti-CCP

Pregătire pacient – nu este necesară

Specimen recoltat – sânge venos.

Recipient de recoltare – vacutainer fără anticoagulant, cu/fără gel separator.

Cauze de respingere a probei – specimen intens hemolizat

Stabilitate probă – serul separat este stabil 14 zile la 2-8°C; timp îndelungat la -20°C

Metoda – ELISA

Timp de execuție: 7-10 zile

Anticorpi anti-celule parietale gastrice

Pregătirea pacientului – recoltarea se realizează à jeun (pe nemâncate) sau postprandial (după mese); nu necesită pregătire prealabilă.



Specimenul recoltat – sânge venos

Recipientul de recoltare – vacutainer fără anticoagulant cu/fără gel separator.

Cauze de respingere a probei - specimen intens hemolizat și lipemic; specimen contaminat bacterian.

Stabilitate probă - serul separat este stabil 4 zile la 2-8°C; timp mai îndelungat la -20°C; nu se decongelează/recongelează.

Timp de execuție: 2-4 zile.

SPITALUL CLINIC JUDEȚEAN DE URGENȚĂ CLUJ   LABORATOR ANALIZE MEDICALE LABORATOR CENTRAL	Cod MRP-LAM	Ed. 04	Rev. 0
	MANUALUL DE RECOLTARE PROBE	Ex. necontrolat	
		Pagina: 46 din 72	

Anticorpi anti-HBs (AcHBs)

Antigen HBs (AgHBs)

Pregătire pacient – recoltarea se realizează à jeun (pe nemâncate) sau postprandial

Specimen recoltat – sânge venos.

Recipient de recoltare – vacutainer fără anticoagulant cu/fără gel separator.

Cauze de respingere a probei – specimen hemolizat; specimen lipemic; specimen expus la temperaturi ridicate; specimen contaminat bacterian.

Stabilitate probă – serul este stabil 4 zile la 2-8°C; timp îndelungat la -20°C; se evită decongelarea/recongelarea.

Metoda – imunochimică cu detecție prin chemiluminiscență (CLIA).

Timp de execuție: 1 zi.

Anticorpi anti-HCV

Pregătirea pacientului – recoltarea se realizează à jeun (pe nemâncate) sau posprandial

Specimenul recoltat – sânge venos

Recipientul de recoltare – vacutainer fără anticoagulant cu/fără gel separator.

Cauze de respingere a probei - specimen intens hemolizat sau lipemic; specimen expus la temperaturi ridicate; specimen contaminat bacterian.

Stabilitate probă - serul separat este stabil 2 zile la 2-8°C; timp mai îndelungat la -20°C; se evită decongelarea/recongelarea.

Rezultate fals negative pot fi întâlnite în caz de congelări și decongelări repetate sau depozitare prelungită a eșantioanelor de sânge.

Metoda – imunochimică cu detecție prin chemiluminiscență (CLIA).

Timp de execuție: 1 zi.

Anticorpi anti-fibră musculară netedă (ASMA)

Pregătirea pacientului – recoltarea se realizează à jeun (pe nemâncate) sau postprandial (după mese).

Specimenul recoltat – sânge venos

Recipientul de recoltare – vacutainer fără anticoagulant cu/fără gel separator.

Cauze de respingere a probei - specimen intens hemolizat și lipemic; specimen contaminat bacterian.

Stabilitate probă - serul separat este stabil 4 zile la 2-8°C; timp mai îndelungat la -20°C;



Timp de execuție: 2-4 zile.

Anticorpi anti-microsomi ficat/rinichi (anti-LKM)

Pregătirea pacientului – recoltarea se realizează à jeun (pe nemâncate) sau postprandial (după mese).

Specimenul recoltat – sânge venos

Recipientul de recoltare – vacutainer fără anticoagulant cu/fără gel separator.

SPITALUL CLINIC JUDEȚEAN DE URGENȚĂ CLUJ   LABORATOR ANALIZE MEDICALE LABORATOR CENTRAL	Cod MRP-LAM	Ed. 04	Rev. 0
	MANUALUL DE RECOLTARE PROBE	Ex. necontrolat	
		Pagina: 47 din 72	

Cauze de respingere a probei - specimen intens hemolizat, lipemic sau puternic contaminat bacterian.

Stabilitate probă - serul separat este stabil 4 zile la 2-8°C; timp mai îndelungat la -20°C;

Timp de execuție: 2-4 zile.

Anticorpi anti-mieloperoxidaza (p-ANCA)

Anticorpi anti-proteinaza 3 (c-ANCA)

Pregătire pacient – nu este necesară

Specimen recoltat – sânge venos.

Recipient de recoltare – vacutainer fără anticoagulant, cu/fără gel separator.

Cauze de respingere a probei – specimen intens hemolizat

Stabilitate probă – serul separat este stabil 14 zile la 2-8°C; timp îndelungat la -20°C

Metoda – ELISA

Timp de execuție: 7 zile

Anticorpi anti-mitochondriali (AMA)

Pregătirea pacientului – recoltarea se realizează à jeun (pe nemâncate) sau postprandial (după mese).

Specimenul recoltat – sânge venos

Recipientul de recoltare – vacutainer fără anticoagulant cu/fără gel separator.

Cauze de respingere a probei - specimen intens hemolizat și lipemic; specimen contaminat bacterian.

Stabilitate probă - serul separat este stabil 4 zile la 2-8°C; timp mai îndelungat la -20°C;

Timp de execuție: 2-4 zile.

Anticorpi antinucleari (ANA)

Pregătirea pacientului – recoltarea se realizează à jeun (pe nemâncate) sau postprandial (după mese).

Specimenul recoltat – sânge venos

Recipientul de recoltare – vacutainer fără anticoagulant cu/fără gel separator.

Cauze de respingere a probei - specimen intens hemolizat și lipemic; specimen contaminat bacterian.

Stabilitate probă - serul separat este stabil 4 zile la 2-8°C; timp mai îndelungat la -20°C;



Timp de execuție: 2-4 zile; pentru titrări suplimentare 7 zile.

Anticorpi anti-RNP/SM

Pregătirea pacientului – recoltarea se realizează à jeun (pe nemâncate)

Specimenul recoltat – sânge venos

Recipientul de recoltare – vacutainer fără anticoagulant cu/fără gel separator.

SPITALUL CLINIC JUDEȚEAN DE URGENȚĂ CLUJ   LABORATOR ANALIZE MEDICALE LABORATOR CENTRAL	Cod MRP-LAM	Ed. 04	Rev. 0
	MANUALUL DE RECOLTARE PROBE	Ex. necontrolat	
		Pagina: 48 din 72	

Cauze de respingere a probei - specimen intens hemolizat și lipemic; specimen contaminat bacterian.

Stabilitate probă - serul separat este stabil 4 zile la 2-8°C; timp mai îndelungat la -20°C.

Timp de execuție: 7-10 zile.

Anticorpi anti-Ro (SS-A)

Pregătirea pacientului – recoltarea se realizează à jeun (pe nemâncate)

Specimenul recoltat – sânge venos

Recipientul de recoltare – vacutainer fără anticoagulant cu/fără gel separator.

Cauze de respingere a probei - specimen intens hemolizat și lipemic; specimen contaminat bacterian.

Stabilitate probă - serul separat este stabil 4 zile la 2-8°C; timp mai îndelungat la -20°C.

Timp de execuție: 7-10 zile.

Anticorpi anti-SCL-70

Pregătirea pacientului – recoltarea se realizează à jeun (pe nemâncate)

Specimenul recoltat – sânge venos

Recipientul de recoltare – vacutainer fără anticoagulant cu/fără gel separator.

Cauze de respingere a probei - specimen intens hemolizat și lipemic; specimen contaminat bacterian.

Stabilitate probă - serul separat este stabil 4 zile la 2-8°C; timp mai îndelungat la -20°C.

Timp de execuție: 7-10 zile.

Antigen Carbohidrat (CA 19-9)

Pregătire pacient – à jeun (pe nemâncate) sau postprandial

Specimen recoltat – sânge venos.

Recipient de recoltare – vacutainer fără anticoagulant, cu/fără gel separator.

Cauze de respingere a probei – specimen hemolizat; specimen expus la temperatură ridicată; specimen contaminat bacterian.

Stabilitate probă – serul separat este stabil 2 zile la 2-8°C; timp îndelungat la -20°C sau la -70°C; nu se decongelează decât o dată.

Metoda – imunochimică cu detecție prin chemiluminiscență (CLIA).

Timp de execuție: 7 zile



Antigen Carcinoembrionic (CEA)

Pregătire pacient – à jeun (pe nemâncate) sau postprandial

Specimen recoltat – sânge venos.

Recipient de recoltare – vacutainer fără anticoagulant, cu/fără gel separator.

Cauze de respingere a probei – specimen hemolizat; specimen expus la temperatură ridicată; specimen contaminat bacterian.

SPITALUL CLINIC JUDEȚEAN DE URGENȚĂ CLUJ   LABORATOR ANALIZE MEDICALE LABORATOR CENTRAL	Cod MRP-LAM	Ed. 04	Rev. 0
	MANUALUL DE RECOLTARE PROBE	Ex. necontrolat	
		Pagina: 49 din 72	

Stabilitate probă – serul separat este stabil 2 zile la 2-8°C; timp îndelungat la -20°C sau la -70°C; nu se decongelează decât o dată.

Metoda – imunochimică cu detecție prin chemiluminiscență (CLIA).

Timp de execuție: 7 zile

Antisteptolizina O (ASLO)

Pregătirea pacientului – recoltarea se realizează à jeun (pe nemâncate)

Specimenul recoltat – sânge venos

Recipientul de recoltare – vacutainer fără anticoagulant cu/fără gel separator

Cauze de respingere a probei – specimen intens hemolizat, intens lipemic sau contaminat cu bacterii.

Stabilitate probă – serul separat este stabil timp de 2 zile la 15-25°C și 8 zile la 2-8°C.

Metoda: imunoturbidimetrie

Timp de execuție: 1 zi.

Complementul seric (C3, C4)

Pregătirea pacientului – recoltarea se realizează à jeun (pe nemâncate)

Specimenul recoltat – sânge venos

Recipientul de recoltare – vacutainer fără anticoagulant cu/fără gel separator

Cauze de respingere a probei - specimen intens lipemic.

Stabilitate probă – C 3 - serul este stabil 8 zile la 2-8°C sau 4 zile la 15-25°C.

– C 4 - serul este stabil 8 zile la 2-8°C sau 2 zile la 15-25°C.

Metoda: imunoturbidimetrie

Timp de execuție: 1 zi.

Complexe imune circulante (CIC)

Pregătirea pacientului – recoltarea se realizează à jeun (pe nemâncate)

Specimenul recoltat – sânge venos

Recipientul de recoltare – vacutainer fără anticoagulant cu/fără gel separator.

Cauze de respingere a probei - specimen intens hemolizat și lipemic; specimen contaminat bacterian.

Stabilitate probă - serul separat este stabil 4 zile la 2-8°C; timp mai îndelungat la -20°C;

Timp de execuție: 3 zile.



Crioglobuline

Se recoltează à jeun (pe nemâncate).

Se folosește pentru determinarea precipitării crioglobulinelor la 4 grade Celsius.

Specimen recoltat - sânge venos.

Recipient de recoltare - vacutainer fără aditivi, preîncălzit la 37° C; este exclusă utilizarea tubului cu gel separator.

SPITALUL CLINIC JUDEȚEAN DE URGENȚĂ CLUJ   LABORATOR ANALIZE MEDICALE LABORATOR CENTRAL	Cod MRP-LAM	Ed. 04	Rev. 0
	MANUALUL DE RECOLTARE PROBE	Ex. necontrolat	
		Pagina: 50 din 72	

Cantitate recoltată - 5 mL sânge

Prelucrare necesară după recoltare - tubul de recoltare preîncălzit la 37° C se reintroduce imediat după prelevarea sângelui la 37° C și se lasă până când se produce coagularea; apoi, serul se separă prin centrifugare, se decantează și se transferă într-o eprubetă la 4° C.

Cauze de respingere a probei - specimen care nu a coagulat la 37° C; specimen hemolizat sau lipemic.

Testul fiind calitativ, indică doar prezența sau absența crioglobulinelor. Pentru analiza prezenței componentelor monoclonale sau policlonale este necesar testul de imunofixare.

Rezultate fals negative pot să apară dacă vacutainerul nu a fost preîncălzit la 37° C, proba nu a fost ținută la 37° C până la formarea coagulului, sau a fost centrifugată la temperaturi mai mici de 37° C.

Rezultate fals pozitive pot să apară în cazul serurilor lipemice și în situația în care se folosesc la recoltarea probei vacutainere cu anticoagulant.

Timp de execuție: 7 zile.

Factor reumatoid (FR)

Pregătirea pacientului – recoltarea se realizează à jeun (pe nemâncate)

Specimenul recoltat – sânge venos

Recipientul de recoltare – vacutainer fără anticoagulant cu/fără gel separator

Cauze de respingere a probei - specimen intens lipemic sau intens hemolizat.

Stabilitate probă - serul este stabil 1 zi la 15-25°C, 8 zile la 2-8°C și 3 luni la -20°C.

Metoda: imunoturbidimetrie

Timp de execuție: 1 zi.

Imunograma (IgA, IgG, IgM)

Pregătirea pacientului – recoltarea se realizează à jeun (pe nemâncate)

Specimenul recoltat – sânge venos

Recipientul de recoltare – vacutainer fără anticoagulant cu/fără gel separator.

Cauze de respingere a probei - specimen intens hemolizat sau lipemic.

Stabilitate probă - IgA - serul este stabil 8 luni la 2-8°C;

- IgG - serul este stabil 8 luni la 2-8°C sau 4 luni la 15-25°C.

- IgA - serul este stabil 8 luni la 2-8°C sau 2 luni la 15-25°C.

Metoda: imunoturbidimetrie

Timp de execuție: 1 zi.



Procalcitonina

Pregătirea pacientului – nu este necesară

Specimenul recoltat – sânge venos

Recipientul de recoltare – vacutainer fără anticoagulant cu/fără gel separator.

Cantitate recoltată – minim 5 ml sânge

SPITALUL CLINIC JUDEȚEAN DE URGENȚĂ CLUJ   LABORATOR ANALIZE MEDICALE LABORATOR CENTRAL	Cod MRP-LAM		Ed. 04	Rev. 0
	MANUALUL DE RECOLTARE PROBE		Ex. necontrolat	
			Pagina: 51 din 72	

Cauze de respingere a probei - specimen intens hemolizat, intens lipemic, intens icteric
Stabilitate probă - serul separat care nu este analizat în 48 ore trebuie congelat și păstrat la - 20°C

Metoda: ELFA

Timp de execuție: 1 zi.

Proteina C reactivă (CRP)

Se recoltează a jeun (pe nemâncate).

Specimen recoltat - sânge venos.

Recipient de recoltare - vacutainer fără anticoagulant cu/fără gel separator.

Cauze de respingere a probei - specimen intens lipemic sau intens hemolizat.

Stabilitate probă - serul este stabil 11 zile la 15-25°C; 2 luni la 2-8° C.

Rezultate fals negative: medicamente antiinflamatorii, scăderea ponderală, suprasolicitarea fizică.

Metoda: imunoturbidimetrie

Timp de execuție: 1 zi.

Test HIV combinat - depistarea calitativă a antigenului HIV-1 p24 și a anticorpilor HIV-1 (grupele M și O) și HIV-2

Pregătire pacient - à jeun (pe nemâncate) sau postprandial

- se solicită consimțământul informat al pacientului și se asigură consiliere pre și post testare

Specimen recoltat - sânge venos.

Recipient de recoltare - vacutainer fără anticoagulant, cu/fără gel separator. A se menține întotdeauna probele cu dop. **A nu se încălzi probele.**

Cauze de respingere a probei - specimen hemolizat; specimen expus la temperatură ridicată; specimen contaminat bacterian.

NOTĂ: specimenul care prezintă turbiditate sau particule în suspensie trebuie clarificat prin centrifugare (se pot genera rezultate fals pozitive).

Stabilitate probă - serul separat este stabil 8 zile la 2-8°C; timp îndelungat la -20°C sau la -70°C.

Metoda - imunochimică cu detecție prin chemiluminiscență (CLIA).

Timp de execuție: 1 zi

Vitamina B12

Pregătire pacient - à jeun (pe nemâncate), înaintea unei eventuale injecții cu vitamina B12

Specimen recoltat - sânge venos.

Recipient de recoltare - vacutainer fără anticoagulant, cu/fără gel separator.

Cauze de respingere a probei - specimen hemolizat; specimen expus la temperatură ridicată; specimen contaminat bacterian.

Acest document conține informații care sunt proprietatea Spitalului Clinic Județean de Urgență Cluj, Laborator Central. Se interzice multiplicarea, modificarea sau difuzarea procedurii fără acordul managementului laboratorului.

Întocmit: Dr. Mariana Coca; As sefă Livia Weiss

SPITALUL CLINIC JUDEȚEAN DE URGENTĂ CLUJ   LABORATOR ANALIZE MEDICALE LABORATOR CENTRAL	Cod MRP-LAM	Ed. 04	Rev. 0
	MANUALUL DE RECOLTARE PROBE	Ex. necontrolat	
		Pagina: 52 din 72	

NOTĂ: specimenul care prezintă turbiditate sau particule în suspensie trebuie clarificat prin centrifugare.

Stabilitate probă – serul separat este stabil 1 zi la 2-8°C; timp îndelungat la -20°C sau la -70°C; se congelează numai o dată.

Metoda – imunochimică cu detecție prin chemiluminiscență (CLIA).

Timp de execuție: 7 zile

8. Recoltarea probelor pentru hormoni

Pregătirea pacientului – recoltarea se realizează à jeun (pe nemâncate), evitându-se fumatul și factorii de stres, în special când este vorba de dozarea cortizolului. La dozarea cortizolului se va respecta ora 8, respectiv ora 18 de recoltare, pentru respectarea ritmului circadian de secreție.

Specimenul recoltat – sânge venos

Recipientul de recoltare – vacutainer fără anticoagulant cu/fără gel separator.

Cantitate recoltată – 5 mL sânge

Cauze de respingere a probei – specimen intens hemolizat și lipemic; specimen contaminat bacterian.

Stabilitate probă - serul separat este stabil 4 zile la 2-8°C; timp mai îndelungat la -20°C; excepție PTH care este stabil 8 ore la 2-8°C, iar apoi timp îndelungat la -20°C

Timp de execuție: 1 – 5 zile (excepție 25-OH Vitamina D: 14 zile sau în funcție de numărul de probe).



Capitolul IV. CONSERVAREA ȘI STABILITATEA PROBELOR

1. Stabilitatea probelor până la prelucrare

Serul sau plasma trebuie separate fizic de celulele sanguine cât mai repede posibil, pentru a nu exista riscul producerii unor rezultate eronate.

Probele urinare necesită moduri de colectare, stabilitate și transport diferite.

Se recomandă astfel o limită maximă de stabilitate din momentul recoltării probei și până la prelucrarea ei în laboratorul de analize medicale, după cum reiese din tabele de mai jos:

SPITALUL CLINIC JUDEȚEAN DE URGENȚĂ CLUJ   LABORATOR ANALIZE MEDICALE LABORATOR CENTRAL	Cod MRP-LAM	Ed. 04	Rev. 0
	MANUALUL DE RECOLTARE PROBE		
	Ex. necontrolat		
Pagina: 53 din 72			



TABEL NR.1

ANALIZE MEDICALE din urină - DESCRIERE -	STABILITATE					Observații
	Temp.camerei 21-25°C	Refrigerare 4°C	Închetoare -20°C	Adaus de conservanți (urina)		
				50% Ac. acetic	Ac.boric (crist)	
EXAMEN DE URINĂ	da					Maxim 2 ore
UROCULTURA	da					Maxim 2 ore
UREE URINARA	nu	da	da		10 g la cantitatea pe 24 ore	Refrigerare (recomandat)
CREATININA URINARA	da	da	da			Temp.camerei (recomandat)
CLEARENCE CREATININA	da	da	da			Temp.camerei (recomandat)
AC.URIC URINAR	nu	da	da		10 g la cantitatea pe 24 ore	Refrigerare (recomandat)
PROTEINURIE	da	da	da			Temp.camerei (recomandat)
SODIU URINAR Na	da	da	da			Refrigerare (recomandat)
POTASIU URINAR K	da	da	da			Refrigerare (recomandat)
CLOR URINAR Cl	da	da	da			Refrigerare (recomandat)
FOSFOR URINAR P	da	da	da			Refrigerare (recomandat)
CALCIU URINAR Ca 24 ore	da	da	da			Refrigerare (recomandat)
MAGNEZIU URINAR	da	da	da			Refrigerare (recomandat)
GLUCOZA URINARA	nu	da	da			Refrigerare (recomandat)
ELECTROFOREZA PROTEINE URINARE	da	da	da			Refrigerare (recomandat)
MICROALBUMINURIA (24 ore)	da	da	da			Temp.camerei (recomandat)
CORTIZOL LIBER URINAR	nu	da	da			Refrigerare (recomandat)

*Se recomandă variantele hașurate.



Acest document conține informații care sunt proprietatea Spitalului Clinic Județean de Urgență Cluj, Laborator Central. Se interzice multiplicarea, modificarea sau difuzarea procedurii fără acordul managementului laboratorului.

Întocmit: Dr. Mariana Coca: As.sefă Livia Weiss

SPITALUL CLINIC JUDEȚEAN DE URGENȚĂ CLUJ   LABORATOR ANALIZE MEDICALE LABORATOR CENTRAL	Cod MRP-LAM	Ed. 04	Rev. 0
	MANUALUL DE RECOLTARE PROBE	Ex. necontrolat	
		Pagina: 54 din 72	

TABEL NR.2



ANALIZE MEDICALE – DESCRIERE (cuprinse în nomenclatorul Laboratorului de Analize Medicale)	Stabilitate în sânge la temperatura camerei (18-25°C)	Observații
Hemograma completă	8 ore	
Frotiu sanguin	2 ore	
Reticulocite	8 ore	
VSH	3 ore	
Hb glicată A1c	24 ore	
Fibrinogen	4 ore	
Timp de protrombina Quick	4 ore	
APTT	4 ore	1 oră la probele cu heparină
Uree serică	3 ore	
Creatinină serică	3 ore	
Acid uric seric	3 ore	
GOT/ASAT/AST	3 ore	
GPT/ALAT/ALT	3 ore	
GGT-gamaglutamiltransferaza	3 ore	
Bilirubina totală	3 ore	
Bilirubina directă	3 ore	
Fosfataza alcalină	3 ore	
Fosfataza acidă totală	3 ore	
LDH-lactatdehidrogenaza	2 ore	
CPK-creatinfosfokinaza	2 ore	
Amilaza serică	3 ore	
Proteine totale serice	3 ore	
Sideremie	3 ore	
Sodiu seric Na	3 ore	
Potasiu seric K	1 oră	
Fosfor seric P	3 ore	
Magneziu seric Mg	3 ore	
Clor seric Cl	1 oră	
Calciu total Ca	3 ore	
Trigliceride	3 ore	
Colesterol seric total	3 ore	
HDL Colesterol	3 ore	
LDL Colesterol	3 ore	

SPITALUL CLINIC JUDEȚEAN DE URGENȚĂ CLUJ   LABORATOR ANALIZE MEDICALE LABORATOR CENTRAL	Cod MRP-LAM	Ed. 04	Rev. 0
	MANUALUL DE RECOLTARE PROBE		
	Ex. necontrolat		
Pagina: 55 din 72			

Gluczoza serică	1 oră	
Examen de urină	3 ore	Daca urina are pH alcalin se modifică valoarea leucocitelor
Electroforeza proteinelor serice	3 ore	
IgM	3 ore	
IgA	3 ore	
IgG	3 ore	
Complement C3	3 ore	
Complement C4	3 ore	
Factor reumatoid FR	3 ore	
Proteina C reactivă –PCR	3 ore	
ASLO	3 ore	
TSH-hormon de stimulare tiroidiană	7 zile	
FT4-tiroxina liberă	1 zi	
T4-tiroxina totală	1 zi	
T3-triiod tironina totală	1 zi	
LH-hormon luteinizant	7 zile	
Prolactina	2 zile	
FSH-hormon de stimulare foliculară	7 zile	
Estradiol	1 zi	
Progesteron	7 zile	
Testosteron	7 zile	
Cortizol	7 zile	
ACTH	1 zi	Necesită stabilizare cu aprotinină și mercaptoetanol
Anticorpi anti-tiroidieni TPO	1 zi	
Beta-Hcg-human chorionicgonadotropin	1 zi	
hGH-hormon de creștere umană	1 zi	
17-alfa-hidroxiprogesteron	1 zi	
PTH-parathormon	6 ore	
Testosteron liber	7 zile	
Feritina	1 zi	
Ag HBs	3 ore	
Anti HCV	3 ore	
RPR (VDRL) syphilis	3 ore	
TPHA-syphilis	3 ore	
Culturi secreție faringiană	3 ore	
Culturi secreție nazală	3 ore	

Acest document conține informații care sunt proprietatea Spitalului Clinic Județean de Urgență Cluj, Laborator Central.
Se interzice multiplicarea, modificarea sau difuzarea procedurii fără acordul managementului laboratorului.

Întocmit: Dr. Mariana Coca: As sefă Livia Weiss

SPITALUL CLINIC JUDEȚEAN DE URGENȚĂ CLUJ   LABORATOR ANALIZE MEDICALE LABORATOR CENTRAL	Cod MRP-LAM	Ed. 04	Rev. 0
	MANUALUL DE RECOLTARE PROBE		
	Ex. necontrolat		
Pagina: 56 din 72			

Culturi secreție otică	3 ore	
Culturi secreție genitală	30 minute	
Culturi secreție uretrală	30 minute	
Urocultura	2 ore	
Coprocultura	3 ore	Necesită mediu de transport
Examen micologic direct KOH	1 zi	
Examen micologic – cultură	3 ore	
Examen hemocultura	1 zi	În flacoanele speciale. Nu se refrigerază.
Examen coproparazitologic	2 ore	Dupa 2 ore necesită refrigerare
Examen LCR	1 oră	Nu se refrigerază

2. Timpul de păstrare a probelor post-examinare



După examinarea și eliberarea rezultatelor, eșantioanele din care s-au efectuat analizele se păstrează un anumit interval de timp; în această perioadă, medicul curant poate solicita suplimentarea analizelor sau în cazul în care există incertitudini legate de rezultat, analizele se pot repeta.

Nu toți analiții sunt stabili în timp, motiv pentru care numai unii dintre ei pot fi solicitați, așa cum se vede din tabelul nr.3.



TABEL NR.3

TIMP DE PĂSTRARE A PROBELOR POST-EXAMINARE				
ANALIT	SER/ PLASMĂ/ SÂNGE/ URINĂ/ ALTE PRODUSE BIOLOGICE			OBSERVAȚII
	- 20°C	4 – 8°C	18 – 25°C	
IgG		24 ore	24 ore	
IgA		24 ore	24 ore	
IgM		24 ore	24 ore	
C3		24 ore	24 ore	
C4		24 ore	24 ore	
CRP		24 ore	24 ore	
FACTOR REUMATOID		24 ore	24 ore	
ASLO		24 ore	24 ore	
Crioglobuline		48 ore		
CIC		48 ore		
Acid folic		-		
Alfa-fetoproteina		24 ore		
CA 19-9		24 ore		



Acest document conține informații care sunt proprietatea Spitalului Clinic Județean de Urgență Cluj, Laborator Central. Se interzice multiplicarea, modificarea sau difuzarea procedurii fără acordul managementului laboratorului.

SPITALUL CLINIC JUDEȚEAN DE URGENȚĂ CLUJ   LABORATOR ANALIZE MEDICALE LABORATOR CENTRAL	Cod MRP-LAM	Ed. 04	Rev. 0
	MANUALUL DE RECOLTARE PROBE	Ex. necontrolat	
		Pagina: 57 din 72	

CEA		24 ore		
VITAMINA B12		48 ore		Protejat de lumină
TROPONINA		-		
Anti-Ro(SS-A)		48 ore		
Anti-Sclero 70		48 ore		
Anti RNP-Sm		48 ore		
Anti-nucleari (ANA)		48 ore		
Anti ADNds (crithidia)		48 ore		
Anti muschi neted (ASMA)		48 ore		
Anti mitocondriali (AMA)		48 ore		
Anti LKM		48 ore		
Anticorpi anti-MPO (p-ANCA)		24 ore		
Anticorpi anti-PR 3 (c-ANCA)		24 ore		
Anticorpi anti-Borrelia IgG, IgM		24 ore		
Anticorpi anti-CCP		24 ore		
PROCALCITONINA		-		
Ag HBS		24 ore		
AC HCV		24 ore		
Test HIV		24 ore		
ACID URIC		24 ore	24 ore	
ALBUMINA		24 ore	24 ore	
FOSFATAZA ALCALINĂ		24 ore	24 ore	
ASAT		24 ore	24 ore	
ALAT		24 ore	24 ore	
AMILAZA		24 ore	24 ore	
BILIRUBINA DIRECTA		24 ore	24 ore	
BILIRUBINA TOTALA		24 ore	24 ore	
CALCIU IONIC		-	-	
CALCIU TOTAL		24 ore	24 ore	
CERULOPLASMINA		24 ore	24 ore	
CK		24 ore	24 ore	Protejat de lumină
CK-MB		24 ore	24 ore	
COLINESTARAZA		24 ore	24 ore	
COLESTEROL (HDL, LDL, total)		24 ore	24 ore	
CLOR		4 ore	4 ore	Doar din serul separat de cheag
SODIU		4 ore	4 ore	Doar din serul separat de cheag
POTASIU		4 ore	4 ore	Doar din serul separat de cheag
CREATININA		24 ore	24 ore	
FERITINA		24 ore	24 ore	
FIER		24 ore	24 ore	
FOSFOR		24 ore	24 ore	
GGT		24 ore	24 ore	

SPITALUL CLINIC JUDEȚEAN DE URGENȚĂ CLUJ   LABORATOR ANALIZE MEDICALE LABORATOR CENTRAL	Cod MRP-LAM	Ed. 04	Rev. 0
	MANUALUL DE RECOLTARE PROBE	Ex. necontrolat	
		Pagina: 58 din 72	

GLUCOZA	4 ore	4 ore	Doar din serul separat de cheag
	24 ore	24 ore	Doar din probele recoltate pe fluorură (fără separarea plasmei)
LDH	24 ore	24 ore	
LIPAZA	24 ore	24 ore	
MAGNEZIU	24 ore	24 ore	
PROTEINE TOTALE	24 ore	24 ore	
TRIGLICERIDE	24 ore	24 ore	
UREE	24 ore	24 ore	
TRANSFERINA	24 ore	24 ore	
Electroreza proteinelor serice	24 ore		
PROTEINE URINARE		până la sfârșitul programului de lucru	
GLUCOZA URINARĂ		până la sfârșitul programului de lucru	
Densitate urinară		până la sfârșitul programului de lucru	
Leucocite urinare		până la sfârșitul programului de lucru	
Eritrocite urinare		până la sfârșitul programului de lucru	
Ph – urinar		până la sfârșitul programului de lucru	
Acid ascorbic urinar		până la sfârșitul programului de lucru	
Proteine urinare		până la sfârșitul programului de lucru	
Glucoza urinara		până la sfârșitul programului de lucru	
Bilirubina urinara		până la sfârșitul programului de lucru	
Nitriti		până la sfârșitul programului de lucru	
Corpi cetonici		până la sfârșitul programului de lucru	
Urobilinogen		până la sfârșitul programului de lucru	
Sediment urinar		până la sfârșitul programului de lucru	
Timp Quick (PT)	-	-	
APTT	-	-	
Fibrinogen	-	-	
Hemoleucograma		24 de ore de la recoltare	
Hemoleucograma cu formulă leucocitară	-	-	
Numărătoare reticulocite	-	-	
VSH		4 ore de la recoltare	
Frotiu sanguin		2 ore de la recoltare	Lamele colorate se păstrează 30 zile
Probele biologice pentru analiza bacteriologică		3 ore de la recoltare	Probele care necesită îmbogățire se păstrează 48 de ore la termostat la 37 °C

SPITALUL CLINIC JUDEȚEAN DE URGENTĂ CLUJ   LABORATOR ANALIZE MEDICALE LABORATOR CENTRAL	Cod MRP-LAM	Ed. 04	Rev. 0
	MANUALUL DE RECOLTARE PROBE	Ex. necontrolat	
		Pagina: 59 din 72	

Capitolul V. TRANSPORTUL PROBELOR

1. Generalități

- Transportul probelor provenite de la pacienții internați este responsabilitatea secțiilor clinice ale spitalului și este asigurat de către personalul desemnat pentru această activitate. Asistenta șefă din fiecare secție, precum și asistentele desemnate pe fiecare tură sunt responsabile ca transportul probelor să fie făcut la timp și în siguranță.
- Transportul probelor recoltate în punctele externe de recoltare ale Laboratorului de analize medicale este responsabilitatea Laboratorului de analize medicale și este asigurat de către personalul din cadrul laboratorului desemnat pentru această activitate. Asistenta șefă și personalul desemnat de la punctele de recoltare și de laborator răspund de transportul probelor.

Probele recoltate sunt transportate cât mai repede către punctele de laborator unde vor fi prelucrate.

Șeful de laborator informează secțiile cu privire la modalitatea și condițiile de transport al probelor biologice și se asigură că recomandările sunt respectate.

Transportului probelor trebuie efectuat astfel încât:

- probele să ajungă în laborator în intervalul de timp impus de analiza solicitată;
- să fie respectate condițiile de temperatură specificate în manualul de recoltare;
- să respecte condițiile reglementate privind siguranța.



Probele sunt așezate în cutiile speciale de transport de către asistentele de pe secții sau din punctele de recoltare.

Cutiile de transport se dezinfectează zilnic, conform PO-EPI 15, "Decontaminarea și dezinfecția echipamentelor medicale și dispozitivelor medicale", anexa 10.

Personalul desemnat pentru transportul probelor va manipula doar cutia de transport probe biologice și va purta obligatoriu mănuși de unică folosință. Personalul care transportă probele nu manipulează probele nici în momentul preluării și nici în momentul predării probelor la laborator.

Orice accident sau incident petrecut în timpul transportului probelor va fi anunțat asistentei șefe din secția care a trimis probele către laborator și care, în funcție de risc, va iniția protocolul de decontaminare corespunzător direct sau prin intermediul asistentei șefe din secția unde a avut loc accidentul sau incidentul.

Preluarea probelor în laborator este responsabilitatea personalului din punctele de recepție ale laboratorului de analize medicale.

SPITALUL CLINIC JUDEȚEAN DE URGENȚĂ CLUJ   LABORATOR ANALIZE MEDICALE LABORATOR CENTRAL	Cod MRP-LAM	Ed. 04	Rev. 0
	MANUALUL DE RECOLTARE PROBE	Ex. necontrolat	
		Pagina: 60 din 72	

În SCJU Cluj, din cauza structurii multipavilionare, transportul probelor se efectuează:



1. Pe jos, personalul desemnat pentru transportul probelor deplasându-se între clinicile spitalului și punctele de lucru ale Laboratorului de analize medicale, care sunt:

- Laboratorul Central – situat în clădirea UPU, la mansardă
- Laboratorul de Urgență – situat în clădirea UPU, la mansardă
- Laboratorul Cl. Medicală II – situat în Clinica Medicală II
- Laboratorul Cl. Endocrinologie – situat în Clinica Endocrinologie
- Laboratorul Cl. Ginecologie I – situat în Clinica Ginecologie I
- Laboratorul Cl. Ginecologie II – situat în Clinica Ginecologie "Stanca"

2. Cu mașina special autorizată – se transportă probele de la clinicile aflate la distanță mare față de laborator, conform programului de mai jos:

PROGRAM TRANSPORT PROBE cu mașina autorizată

Clinica	Spațiu	Luni-vineri	Sambata, duminica – dimineata	Sambata, duminica – dupa-masa
CL. ORTOPIEDIE și TRAUMATOLOGIE	Fostul laborator	• 08,30 • 11,15	• 9,30	• 15,00
CL. GINECOLOGIE STANCA	Laborator Stanca	• 08,45 • 11,30	• 9,45	• 15,15
ONCOMED	Laborator Endo	• 09,30	• 10,00	• 15,30
MEDICINA MUNCII		- se duc probele de hormoni de la Laborator Central la Lab.Endo) - se aduc de la Lab.Endo probele pentru anatomie patologica si VDRL (VDRL se lasa la Lab. Central) • 10,45		
ENDOCRINOLOGIE				
NEUROCHIRURGIE				
NEUROLOGIE I				
NEUROLOGIE II				
PSIHIATRIE I+II+III				

SPITALUL CLINIC JUDEȚEAN DE URGENȚĂ CLUJ   LABORATOR ANALIZE MEDICALE LABORATOR CENTRAL	Cod MRP-LAM	Ed. 04	Rev. 0
	MANUALUL DE RECOLTARE PROBE	Ex. necontrolat	
		Pagina: 61 din 72	

a) Transportul probelor biologice se poate efectua:

- **în condiții ambientale (temperaturi de 18-25°C)** – probele sunt transportate în cutii din material termoizolant pentru a fi protejate de temperaturile extreme.
- **la rece** – probele sunt refrigerate la 2-8°C și transportate în cutii speciale termoizolatoare, așezate în apropierea "bateriilor refrigerabile" (care se reîncarcă/ îngheață zilnic).

În cutiile de transport trebuie să fie plasat **termometru pentru monitorizarea temperaturii**. Termometrul trebuie protejat de contactul cu probele printr-un ambalaj (ex. folie, pungă de plastic).

b) Monitorizarea temperaturii

Pe lângă monitorizarea temperaturii din frigiderul de păstrare probe (aflat fie pe secție, fie în punctele de recoltare) și înregistrarea în Fișa de temperatură a frigiderului, trebuie monitorizată temperatura în timpul transportului probelor.

În Fișa de monitorizare a temperaturii la transport se va nota:

- de către responsabilii din secțiile clinice – **ora plecării și valoarea temperaturii din cutia de transport la plecare;**
- de către responsabilul de preluarea probelor din punctele de laborator – **ora sosirii și valoarea temperaturii din cutia de transport la preluarea probelor.**

În laborator înregistrarea se face în Registrul de preluare probe.

2. Instrucțiuni de transport

Transportul probelor, de la punctul de recoltare probe pacienți până în laborator, se face în cutii termoizolante etanșe cu capac sau în lada frigorifică inscripționată corespunzător, cu inscripția "Pericol biologic".

Transportul asigură atât stabilitatea analiților, cât și protecția personalului și a mediului în conformitate cu legislația în vigoare.



Transportul trebuie efectuat în timp util, de la punctul de recoltare la laborator, astfel încât să nu fie afectată calitatea rezultatelor.

Probele care sunt însoțite de buletinele de solicitare sunt așezate separat de acestea, pentru a evita contaminarea buletinelor cu produsele biologice.

a) **Probele de sângele** se transportă și se păstrează în flacoane închise ermetic (vacuumtainere), așezate în stative speciale, în poziție verticală.

În timpul transportului sunt asigurate condițiile necesare pentru a reduce pe cât posibil traumatizarea celulelor, în special cea determinată de vibrații, care poate determina hemoliza și activarea coagulării.

Se recomandă ca probele de sânge să ajungă în laborator în **maxim 60 minute** de la recoltare pentru a asigura separarea serului sau plasmei de pe cheag/celule în decurs de o oră.

SPITALUL CLINIC JUDEȚEAN DE URGENȚĂ CLUJ   LABORATOR ANALIZE MEDICALE LABORATOR CENTRAL	Cod MRP-LAM	Ed. 04	Rev. 0
	MANUALUL DE RECOLTARE PROBE	Ex. necontrolat	
		Pagina: 62 din 72	

Medicii și personalul de la recoltare sunt informați asupra consecințelor ce decurg din prelungirea timpului scurs între momentul recoltării și procesare.

Probele de sânge se transportă astfel:

- VSH, coagulograma, frotiu sanguin – se transportă în condiții ambientale (temp. 18-25°C)
- Hemoleucograma, numărătoare reticulocite – se transportă fie în condiții ambientale, fie la rece (temp. 2-25°C)
- Biochimia – se transportă fie în condiții ambientale, fie la rece (temp. 2-25°C)
- Imunologia, serologia și hormonii – se transportă fie în condiții ambientale, fie la rece (temp. 2-25°C)

De reținut:

Când probele nu pot fi transportate și/sau lucrute imediat, acestea se păstrează la frigider, cu unele excepții, (potasiu seric), în care refrigerarea influențează negativ rezultatul testului. De asemenea, se evită expunerea la lumină (se produc scăderi ale bilirubinei, CK).

b) Probele de urină se transportă în recipientele speciale ermetic închise, de asemenea în poziție verticală. Dacă nu se pot transporta la laborator în maxim 2 ore, probele de urină trebuie păstrate la frigider și transportate la 2-8°C.

- **Biochimia din urină** – se transportă fie în condiții ambientale, fie la rece (temp. 2-25°C).

Excepții:

Necesită transport la rece, la 2-8°C, următoarele:



- Proteine urinare
- Creatinina urinară
- Fosfor urinar
- Magneziu urinar

c) Probele din materii fecale pentru ex.copro parazitologic, antigen *Helicobacter pylori* și depistare hemoragii oculte se păstrează și se transportă în recipientul special la 2-8°C.

d) Probele pentru bacteriologie – transportul lor trebuie efectuat cât mai repede posibil către laborator în cutia specială inscripționată "Bacteriologie"; probele trebuie transportate cu grijă pentru a evita agitarea lor, răsturnarea sau vărsarea acestora.

Pentru produsele la care nu pot fi folosite medii de transport se recomandă refrigerarea la 4-8°C.

ATENȚIE! Nu se refrigerază: hemoculturile, lichidele de puncție (LCR, lichid pleural, lichid ascitic, lichid pericardic etc.), exsudatele faringiene, produsele recoltate pentru cultivarea anaerobilor.

SPITALUL CLINIC JUDEȚEAN DE URGENȚĂ CLUJ   LABORATOR ANALIZE MEDICALE LABORATOR CENTRAL	Cod MRP-LAM	Ed. 04	Rev. 0
	MANUALUL DE RECOLTARE PROBE	Ex. necontrolat	
		Pagina: 63 din 72	

6. RESPONSABILITĂȚI

6.1. Șeful de laborator

- asigură respectarea prevederilor prezentului manual de recoltare;
- consiliază secțiile clinice privind respectarea condițiilor de pre-recoltare, de recoltare și de transport

6.2. Asistentul șef și RMC laborator



- actualizează periodic instrucțiunile din MRP-LAM în funcție de materialele utilizate la determinarea analizelor de laborator, de modificările metodelor specifice de lucru, de modificările panelului de analize al laboratorului.

6.3. Secțiile clinice ale spitalului și personalul punctelor externe de recoltare

- recoltează probele;
- transportă probele;
- își asumă responsabilitatea respectării prezentelor prevederi.

7. ANEXE

Ghidul pacientului

SPITALUL CLINIC JUDEȚEAN DE URGENȚĂ CLUJ   LABORATOR ANALIZE MEDICALE LABORATOR CENTRAL	Cod MRP-LAM	Ed. 04	Rev. 0
	MANUALUL DE RECOLTARE PROBE	Ex. necontrolat	
		Pagina: 64 din 72	

GHIDUL PACIENTULUI

Informații utile

Documente necesare:

1. Pacientul se prezintă în regim de ambulator

- Bilet de trimitere *cu regim special* de la medicul de familie/specialist pentru investigații paraclinice
- Programare la sediu (puncte de recoltare sau puncte de laborator)
- Card de sănătate
- Document de identitate

2. Pacientul se prezintă la cerere

- Pentru analizele la cerere pacientul poate avea fie bilet de trimitere simplu de la medicul de familie/specialist, fie se poate prezenta opțional, fără bilet de trimitere
- Pacientul va achita o taxă ca și contravaloare a analizelor solicitate la cerere
- Programare la sediu (puncte de recoltare sau puncte de laborator)
- Document de identitate

Programări: luni-vineri 10.30 – 13.00

Recoltare probe: luni-vineri 7.30 – 10.30 doar la punctele de recoltare ale laboratorului:

- **Punctul de recoltare nr. 1** – situat pe str. Clinicilor, nr. 2-4 (în curtea Centrului de Diabet, Nutriție și Boli Metabolice) – telefon 0264/592771, interior 1620
- **Punctul de recoltare nr. 2** – situat de str. Victor Babeș, nr.1, telefon mobil 0741164466



Pacientul se poate prezenta și cu probele recoltate extern. În această situație se prezintă direct la punctele de laborator ale Laboratorului de Analize Medicale, zilnic, luni – vineri 8.00 – 10.30.

Eliberare rezultate: luni-vineri 12.30 – 13.30 (la punctele de recoltare sau la punctele de laborator pentru probe recoltate extern).

Modalitate de plată: doar în numerar, la punctele de recoltare sau la punctele de laborator

Feed-back pacienți: aveți posibilitatea de a ne transmite în mod confidențial opinia dvs. și sesizări, folosind chestionarul de satisfacție al pacientului pe care îl veți primi la recoltare.

Acest document conține informații care sunt proprietatea Spitalului Clinic Județean de Urgență Cluj, Laborator Central. Se interzice multiplicarea, modificarea sau difuzarea procedurii fără acordul managementului laboratorului.

SPITALUL CLINIC JUDEȚEAN DE URGENȚĂ CLUJ   LABORATOR ANALIZE MEDICALE LABORATOR CENTRAL	Cod MRP-LAM		Ed. 04	Rev. 0	
	MANUALUL DE RECOLTARE PROBE			Ex. necontrolat	
				Pagina: 65 din 72	

Întrebări frecvente

• Cum mă programez?

Vă puteți programa telefonic la 0264-592.771/ interior 1620; telefon mobil 0741 164 466
sau

Direct la **Punctele de recoltare ale laboratorului**, str. Clinicilor, nr. 2-4 (în curtea Centrului de Diabet, Nutriție și Boli Metabolice) și str. Victor Babeș, nr.1.

• Unde mi se recoltează probe pentru analizele solicitate?

Vă prezentați pentru recoltarea sângelui, conform programării, dimineața, de luni până vineri, între orele 7,30 – 10,30 la punctul de recoltare str. Clinicilor, nr. 2-4 (în curtea Centrului de Diabet, Nutriție și Boli Metabolice) sau la punctul de recoltare str. Victor Babeș, nr.1.

ATENȚIE! Nu uitați să recoltați acasă probele de urină, scaun etc., după caz.

• Cum și unde plătesc?

Doar în numerar, la punctul de recoltare sau la punctul de laborator cel mai apropiat (în situația în care aveți probele recoltate). Vi se va elibera chitanță.

• Cum obțin rezultatul?

Rezultatele se eliberează de luni până vineri, în intervalul orar 12.30 – 13.30 (la punctele de recoltare unde vi s-a recoltat sau la punctele de laborator unde ați predat probele).

- Rezultatul tipărit se ridică doar de persoana solicitantă, cu prezentarea actului de identitate și sub semnătură.
- La solicitare, rezultatul se poate trimite și prin e-mail pe adresa electronică a pacientului specificată pe biletul de analize la cerere.

• Care sunt punctele de laborator unde mă pot prezenta cu probele recoltate?

Laboratorul Central


Adresa: Cluj-Napoca, str. Clinicilor nr. 3-5 (în clădirea UPU, la mansardă)
Telefon: 0264/592.771/interior 1277

Laborator Clinica Medicală II

Adresa: Cluj-Napoca, str. Clinicilor nr. 4-6 (în clădirea clinicii Medicală II)
Telefon: 0264/592.771/interior 1726 și 1755

Laborator Ginecologie I

Adresa: Cluj-Napoca, str. Clinicilor nr. 3-5 (în clădirea clinicii Ginecologie I)
Telefon: 0264/592.771/interior 1174

SPITALUL CLINIC JUDEȚEAN DE URGENȚĂ CLUJ   LABORATOR ANALIZE MEDICALE LABORATOR CENTRAL	Cod MRP-LAM	Ed. 04	Rev. 0
	MANUALUL DE RECOLTARE PROBE	Ex. necontrolat	
		Pagina: 66 din 72	

Laborator Endocrinologie

Adresa: Cluj-Napoca, str. Pasteur nr. 3-5 (în clădirea clinicii Endocrinologie)

Telefon: 0264/592.771/interior 5631

Laborator Ginecologie II

Adresa: Cluj-Napoca, B-dul 21 Decembrie 1989, nr. 53-55 (în clădirea clinicii Obstetrică-Ginecologie" D.Stanca")

Telefon: 0264/592.771/interior 6214

Recomandare generală pentru pregătirea pacientului în vederea recoltării de sânge la punctul de recoltare

Recoltarea se efectuează în cursul dimineții, în condiții bazale, pe nemâncate (după o pauză alimentară de 12-14 ore). De asemenea, nu se recomandă consumul de băuturi (ceai/cafea) sau alcool, nu se fumează, iar recoltarea de sânge este bine să se facă înainte de administrarea medicației.

Indicații pentru recoltarea corectă a probelor de către pacient

Acuratețea rezultatelor investigațiilor de laborator depinde în mare măsură de modul de recoltare a probelor biologice. Prin urmare, recoltarea corectă a acestora este foarte importantă.

Vă recomandăm consultarea în prealabil a personalului din camera de recoltare în vederea obținerii acestor informații, în funcție de investigațiile solicitate.

Rezultatele analizelor pot fi afectate sau pot varia în funcție de particularitățile de vârstă și sex, de momentul ciclului menstrual, de consumul de medicamente sau alcool, de efortul fizic epuizant. Chiar dacă observați unele valori în afara limitelor normale, nu vă impacientați, lăsați-l pe specialist să le interpreteze.

În cazul analizelor de laborator efectuate la cerere, este necesar să vă prezentați la laborator cu proba recoltată în prealabil la domiciliu. De aceea, vă recomandăm să cereți informații de la personalul medical cu privire la regulile pe care trebuie să le urmați în vederea recoltării corecte a probelor biologice. Aceste reguli vizează în principal momentul din zi recomandat pentru recoltare, dieta precedentă recoltării, regulile de igienă personală premergătoare recoltării anumitor probe, precum și tratamentul medicamentos urmat, care poate influența rezultatul.

SPITALUL CLINIC JUDEȚEAN DE URGENȚĂ CLUJ   LABORATOR ANALIZE MEDICALE LABORATOR CENTRAL	Cod MRP-LAM	Ed. 04	Rev. 0
	MANUALUL DE RECOLTARE PROBE	Ex. necontrolat	
		Pagina: 67 din 72	

➤ Recoltarea probelor din urină

• Examenul sumar de urină

După toaleta mâinilor și a regiunii genito-urinare (spălare cu apă și săpun, ștergere cu prosop curat), se recoltează într-un recipient special, procurat de la farmacie, prima urină de dimineață (15-20 ml), din jetul mijlociu (primul jet se lasă să curgă în toaletă); imediat după recoltare se va închide recipientul.

Este bine de știut că pentru analizarea sumarului de urină nu se recomandă adăugarea de conservanți, iar păstrarea urinei la frigider (2-8°C) va modifica anumiți parametri.

Dacă se urmărește în mod special dozarea urobilinogenului și a bilirubinei, urina trebuie păstrată în recipiente de culoare închisă și ferită de lumină.

• Recoltarea urinei pe 24 ore

Pentru unele teste urinare (ex. proteinurie, acid vanilmandelic, 17-Cetosteroidi, creatininurie, amilazurie etc.), este necesară colectarea urinei din 24 ore.

- Prima urină de dimineață se aruncă. În continuare, toată urina de peste zi și de peste noapte se adună într-un recipient de plastic curat, cu capac, cu volum minim de 2 litri și care are pe exterior inscripționată o scala de volum (în mL); recipientul se ține închis la întuneric și răcoare (într-o pungă de plastic sau folie de staniol la frigider).
- Prima urină din dimineața celei de-a doua zile se adaugă peste urina strânsă.
- Se măsoară cât mai exact volumul total de urină strânsă în perioada de 24 de ore.
- Din recipient (după agitare ușoară pentru amestecarea sedimentului depus) se transvazează cca 50 ml urină într-un recipient de urină procurat de la farmacie.



Inscripționați pe recipient numele și prenumele dvs., precum și volumul total de urină adunat în cele 24 de ore.

Pentru determinarea acidului vanilmandelic se evită consumul de cafea, ceai negru, ciocolată, fructe (în special banane) și alimente care conțin vanilie, cu 72 ore înaintea recoltării. Pe perioada recoltării se evită fumatul, stresul fizic și psihic.

• Recoltarea pentru urocultură

Este important ca recoltarea să se facă înainte de începerea unui tratament antibiotic. Pentru controlul eficienței tratamentului antibiotic, urina se recoltează după 5-7 zile de la ultimă doză de antibiotic administrată. Vă rugăm să menționați dacă sunteți în curs de tratament sau dacă urocultura este de control după tratamentul antibiotic.

- Urina se recoltează în recipiente sterile procurate de la farmacie (urocultoare sterile).
- Se recomandă prima urină de dimineață sau urina după stază vezicală de minim 4 ore.
- Se face toaleta riguroasă a regiunii urogenitale cu apă și săpun (nu se utilizează substanțe sau soluții dezinfectante) și se șterge regiunea cu un prosop curat sau compresă sterilă.

SPITALUL CLINIC JUDEȚEAN DE URGENȚĂ CLUJ   LABORATOR ANALIZE MEDICALE LABORATOR CENTRAL	Cod MRP-LAM	Ed. 04	Rev. 0
	MANUALUL DE RECOLTARE PROBE	Ex. necontrolat	
		Pagina: 68 din 72	

- Se recoltează o cantitate de cca 20 ml de urină din jetul mijlociu direct în recipientul steril (primul jet se lasă să curgă în toaletă).
- Recipientul steril se deschide înainte de micțiune, iar pe perioada recoltării, capacul acestuia se pune cu gura în sus pe o suprafață curată.
- La sfârșitul recoltării, capacul se înfiletează strâns pe urocultor pentru evitarea scurgerii urinei și contaminării acesteia.

Dacă proba nu poate fi transportată în maxim 2 ore la laborator, aceasta se păstrează la frigider (la temperatura 2-8°C).

Recoltarea la bărbați:

Se retractează prepuțul pentru a decalota complet glandul. Acesta se spală abundant cu apă și săpun, după care se usucă cu două tampoane de tifon sterile, cu utilizare unică, procedând din față către fren. Menținând în continuare glandul decalotat, se recoltează proba de urină.

Recoltarea la femei:



La femeile active sexual se recomandă utilizarea unui tampon intravaginal pentru a nu contamina proba urinară cu secreție vaginală. După spălare, zona vulvară decontaminată se șterge cu 2 tampoane de tifon sterile prin mișcare unică din față spre spate. Se recomandă îndepărtarea cu degetele a labiilor, astfel încât jetul urinar să nu ia contact cu acestea sau cu părul pubian.

➤ **Recoltarea materiilor fecale**

• Pentru coprocultură

Este important ca recoltarea să se facă înainte de începerea unui tratament antibiotic. Pentru controlul eficienței tratamentului antibiotic proba se recoltează după 5 zile de la ultimă doză de antibiotic administrată.

- Materiile fecale se recoltează în recipiente speciale (coprorecoltoare) care conțin un mediu de transport (Carry-Blair) și care pot fi procurate de la punctul de recoltare al laboratorului.
- Recoltarea se face din proba emisă spontan, cât mai precoce după debutul bolii (în primele 3 zile de boală germenii sunt prezenți în numărul cel mai mare).
- Scaunul se reține într-un vas curat și uscat, având grijă să nu se amestece cu urină, apă sau hârtia igienică.
- Se alege o porțiune reprezentativă (cu mucozități, striuri de sânge, consistență mai moale etc) și se iau cantități mici de materii fecale, aproximativ egale cu cantitatea mediului de transport, din mai multe locuri, mai ales din zonele ce prezintă modificări (mucus, sânge, puroi), ce nu s-au atins de vasul colector și se introduc în coprorecoltor.

SPITALUL CLINIC JUDEȚEAN DE URGENȚĂ CLUJ   LABORATOR ANALIZE MEDICALE LABORATOR CENTRAL	Cod MRP-LAM	Ed. 04	Rev. 0
	MANUALUL DE RECOLTARE PROBE	Ex. necontrolat	
		Pagina: 69 din 72	

- Materiile fecale astfel recoltate se introduc în mediul de transport conținut de coprorecoltoare și se amestecă cu acesta pentru a se asigura viabilitatea bacteriilor până la prelucrarea probei. Ele nu trebuie să rămână pe suprafața mediului de transport. Este important pentru ca trecerea pe mediile de cultură să fie făcută din mediul de transport și nu din materiile fecale aflate deasupra (de multe ori este imposibil de scos din mediul de transport produsul recoltat din cauza cantității exagerate – în aceste situații produsul va fi refuzat, practic mediul de transport nu își poate îndeplini rolul!).

După recoltare, probele se păstrează la temperatura camerei (18-25°C) și vor fi aduse la laborator în cel mult 2 ore. În situația în care transportul către laborator nu se poate efectua în două ore, proba își menține stabilitatea refrigerată (4°C) pentru maxim 24 ore.

• Pentru examenul coproparazitologic

Rețineți că recoltarea se face:

- La cel puțin două săptămâni de la administrarea de antibiotice (metronidazol sau tetraciclină).
- Înainte de examenul radiologic gastrointestinal baritat sau la 10 zile după efectuarea acestuia.
- La minim o săptămână de la administrarea de uleiuri minerale, bismut, antidiareice și preparate.

Se utilizează recipiente speciale (coprorecoltoare) fără mediu de transport.

- Se recoltează materii fecale emise spontan, în orice moment al zilei.
- Din bolul fecal se alege câte o porțiune de mărimea unei alune din 3 locuri diferite ale bolului fecal (cu mucozități, striuri de sânge, consistență moale, etc) și se prelevează cu lingurița coprorecoltoare.
- Este contraindicat contactul probei cu apă sau urină.
- Se scrie numele pe recipient, acesta se împachetează în hârtie și se predă laboratorului sub această formă.



Se evită recoltarea unei cantități mai mari datorită riscului alterării materiilor fecale până la momentul prelucrării în laborator, alterare care poate duce la modificarea aspectului elementelor parazitare și deci la rezultate fals negative.

Până la predarea recipientului în laborator, acesta se păstrează la rece (la frigider).

Vă rugăm să menționați la predarea probei la recepție principalele semne și simptome clinice, precum și istoricul unor eventuale călătorii în zone endemice pentru anumite infecții parazitare.

Deoarece unii paraziți intestinali nu elimină ouă, chiște sau larve în mod continuu, se recomandă repetarea examinării de 3 ori la intervale de 7-10 zile.

Un singur rezultat negativ nu are valoare diagnostică de excludere a unei infestări parazitare intestinale.

SPITALUL CLINIC JUDEȚEAN DE URGENȚĂ CLUJ   LABORATOR ANALIZE MEDICALE LABORATOR CENTRAL	Cod MRP-LAM	Ed. 04	Rev. 0
	MANUALUL DE RECOLTARE PROBE	Ex. necontrolat	
		Pagina: 70 din 72	

• **Pentru examenul de digestie**

Se recoltează materii fecale în recipient special (coprorecoltor) fără mediu de transport.

NU folosiți supozitoare sau creme lubrifiante!

Timp de o săptămână înainte de recoltare, pacientului nu i se administrează bariu, uleiuri minerale, bismut, Metamucil, compuși cu magneziu, laxative.

Cu 72 ore înainte de recoltare se recomandă un regim alimentar zilnic cu: 50-60g unt (50-150g grăsimi/zi), 100-200g carne roșie, 500ml lapte, 200-300g cartofi, 100g pâine și abținere de la alcool. Pentru copii se recomandă un regim constant care să includă o cantitate suficientă de grăsimi și carne roșie.

- Recoltați din scaunul emis spontan într-un vas curat și uscat, având grijă să nu se amestece cu urina. Luați cu ajutorul linguriței coprorecoltorului cantități mici de materii fecale și introduceți lingurița cu grijă în recipient.
- Înșurubați capacul coprorecoltorului și notați numele pe etichetă.

• **Pentru depistare hemoragii oculte**

Evitați consumul de alcool și antiinflamatoare nesteroidiene (aspirină, diclofenac, indometacin, ibuprofen, piroxicam) cu 48 de ore înainte de recoltare. Acestea pot cauza iritații gastro-intestinale, provocând hemoragii oculte.

Nu se recomandă recoltarea la femei în perioada menstruației, în caz de leziuni hemoroidale sângerânde, sau la pacienți cu hematurie, deoarece pot apărea reacții fals pozitive.



- Se recoltează materii fecale în recipient special (coprorecoltor) fără mediu de transport.
- Recoltarea se poate face din materiile fecale emise în orice moment al zilei, câte o porțiune de mărimea unei alune din 3 locuri diferite ale bolului fecal (maxim jumătate de recipient).
- Este contraindicat contactul probei cu apă sau urină.

Proba are stabilitate 24 ore la temperatura de 2°C – 8°C.

➤ **Pregătirea pentru recoltarea probelor din sfera genitală**

Femei:

- Abținerea sexuală cu 48 ore înainte de recoltare
- Fără duș intravaginal, ovule, creme, lubrifianti cu 48 ore înainte de recoltare
- Fără ecografii transvaginale, colposcopii cu 48 ore înainte de recoltare
- Fără spotting (mici sângerări), sângerări menstruale
- Fără tratament cu antibiotic în ultimele 7 zile
- În cazul infecțiilor vaginale, recoltarea se va efectua la 2-3 zile după terminarea tratamentului

SPITALUL CLINIC JUDEȚEAN DE URGENȚĂ CLUJ   LABORATOR ANALIZE MEDICALE LABORATOR CENTRAL	Cod MRP-LAM		Ed. 04	Rev. 0	
	MANUALUL DE RECOLTARE PROBE			Ex. necontrolat	
				Pagina: 71 din 72	

Bărbați:

- Abținerea sexuală cu 48 ore înainte de recoltare
- Fără tratament cu antibiotic în prezent sau în urmă cu 5-7 zile
- Fără toaletă locală în dimineața recoltării
- Înainte de prima urină de dimineață

➤ **Recoltarea pentru exsudatul faringian**

- NU faceți toaleta cavității bucale
- NU beți
- NU mâncați
- NU fumați

Recoltarea se efectuează la punctul de recoltare de către personalul laboratorului.

Se efectuează dimineața înainte de ingestia de lichide, alimente și de efectuarea igienei orale (periajul dinților și/sau clătirea cu apă de gură).

Dacă acest lucru nu este posibil, se acceptă efectuarea recoltării după un interval de 4 ore de respectare a indicațiilor de mai sus.

Este important ca recoltarea să se facă înainte de începerea unui tratament antibiotic. Pentru controlul eficienței tratamentului antibiotic, exsudatul faringian se recoltează după 5 zile de la ultimă doză de antibiotic administrată.

Este interzis fumatul 2 ore înainte de recoltare.

➤ **Recoltarea probelor de spermă**

Pentru spermogramă: Recoltarea se efectuează direct în recipient (urocultor) prin masturbare. Se recoltează întreaga cantitate de spermă emisă.

Nu se recomandă recoltarea în prezervativ!

Recoltarea se efectuează după 3 zile de abținere sexuală și oprirea consumului de cafea, tutun și alcool.



Proba se aduce în laborator în 20 de minute de la emisie (pentru evaluarea timpului de lichefiere). Dacă acest lucru nu este posibil, se aduce în maximum 2 ore ținută la 37°C.

Pentru spermocultură: Recoltarea se efectuează după 3 zile de abținere sexuală, înainte de începerea unui tratament antibiotic.

Înainte de recoltare se efectuează toaleta locală cu apă și săpun și ștergerea prin tamponare cu comprese sterile.

Recoltarea se efectuează prin masturbare direct în recoltor steril (urocultor).

Proba se aduce în laborator în maximum 1 oră de la emisie.

SPITALUL CLINIC JUDEȚEAN DE URGENȚĂ CLUJ   LABORATOR ANALIZE MEDICALE LABORATOR CENTRAL	Cod MRP-LAM		Ed. 04	Rev. 0
	MANUALUL DE RECOLTARE PROBE		Ex. necontrolat	
			Pagina: 72 din 72	

➤ Recoltarea probelor de spută

Pentru examen microbiologic: Recoltarea se face înainte de începerea unui tratament antibiotic sau în cazul unei examinări de control pentru eficiența tratamentului, la 5 zile după ultimă doză de antibiotic.

Înainte de recoltare se face toaleta cavității bucale (periajul dinților, clătirea gurii și gargară cu apă).

Recoltarea se face prin tuse spontană și profundă. Sputa se expectorează într-un recipient steril cu capac etanș (urocultor steril). Sunt acceptate pentru examen microbiologic probe muco-purulente. În cazul în care probă are aspect de salivă (spumos, aerat, fără striuri purulente) se repetă recoltarea.

Se transportă în laborator în maximum o oră de la recoltare.