

MANUALUL RECOLTĂRII

Impactul variabilelor preanalitice asupra calității rezultatelor de laborator

“Calitatea unei analize de laborator începe de la corectitudinea recoltării”

1. Recoltarea probelor biologice pentru investigații biochimice, hematologice, imunologice și de biologie moleculară

1.1 Solicitarea analizelor

Se face conform unor protocoale graduale de evaluare ale diverselor grupe de patologii, emis de conducerea fiecărei clinici/secției (fig.1).

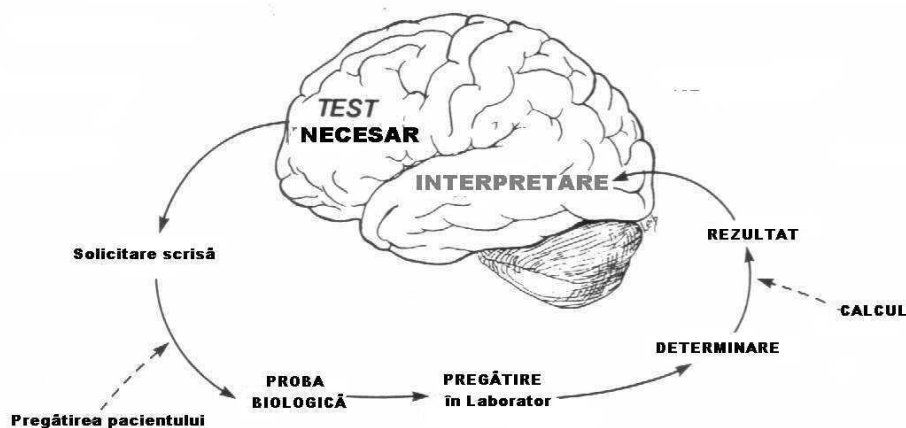


Fig1. "Laboratory Medicine - Test selection and Interpretation"; J. Howanitz, Churchill Livingstone, New York 1991, p.2

1.1.1 Cine solicită analizele de laborator ?

Solicitarea examinărilor paraclinice se face de către medic:

- medicul rezident poate solicita testele de rutină
- medicul specialist și primar poate solicita teste complexe (imunologie, serologie, citologie) sau poate delega medicul rezident cu care lucrează, să facă această solicitare, supervizând buletinul de analize

1.1.2 Unde se solicită analizele de laborator ?

1.1.2.1 În Laboratorul de urgență

- pentru SMURD și toate Ambulanțele de specialitate, indiferent de momentul solicitării
- pentru Cabinetele din Policlinică cu program după masa
- pentru bolnavii internați – analizele urgente după ora 11,00

1.1.2.2 În Laboratorul Amb de Specialitate I

- pentru Cabinetele din policlinică cu program dimineața
- pentru Cabinetele medicilor de familie

1.1.2.3 În Laboratorul central

- testele recoltate dimineața pentru bolnavii internați
- testele recoltate de urgență pentru bolnavii internați – până la ora 11,00
- testele biochimice, imunologice, serologice, bacteriologice, recoltate în laboratoare policlinică

1.1.3 Când se solicită analizele de laborator ?

1.1.3.1 Testele solicitate în serviciul de urgență

În serviciul de urgență testele se pot solicita 24 de ore din 24, respectând aceleași reguli de solicitare ca și pentru bolnavii spitalizați (1.1.4)

1.1.3.2 Testele solicitate în serviciul de ambulator

În punctul de recoltare din ambulator analizele se recoltează dimineața (recoltări între orele 7,30 – 13,00)

1.1.3.3 Testele solicitate pentru bolnavii internați

Pentru bolnavii internați recoltarea se face:

- “a jeun” (recoltări între orele 7,00 – 9,00 a.m.) pentru testele curente
- 24 de ore din 24, pentru bolnavii critici

1.1.4 Cum se solicită analizele de laborator ?

Solicitarea examinărilor paraclinice se face electronic, prin emiterea setului de analize în Sistemul Informatic al Laboratorului (Progamul Hospital Manager) sau în scris, buletinul de solicitare conținând în mod obligatoriu următoarele date:

- Clinica/salonul emitentă
- Laborator solicitat
- Nume / Prenume / vârsta bolnavului
- C.N.P.
- Nr. FO. (număr contract cu CJAS pentru Lab. Policlinica)
- Diagnostic la internare
- Tipul lichidului / probei biologice (sânge, urină, lcr, lichid de puncție..., spută)
- Analize solicitate
- Data recoltării (**și ora în cazul testelor solicitate de urgență și a celor bacteriologice**)
- Semnătura și parafă medicului solicitant (ștampila rotundă a cabinetului, pentru Lab. Policlin.)
- Numele persoanei care a recoltat proba biologică
- Ora/minutul sosirii în laborator – se notează pentru probele cu **caracter de urgență**, de către persoana de serviciu în laborator la departamentul “Primire probe biologice”, proba fiind preluată de la curier

1.1.5 Cine anunță/pregătește pacientul pentru recoltarea probei biologice?

Asistenta de salon/ambulator anunță bolnavul asupra:

- momentului/locului recoltării
- dietei precedente
- tratamentului medicamentos care influențează determinarea
- toaletei premergătoare anumitor recoltări (de ex. pentru exudat faringian, urocultură)

1.1.6 Cine face recoltarea probei biologice ?

- asistenta medicală de salon / ambulanță / laborator policlinică: sânge venos sau capilar pentru determinări serologice, hematologice, de hemostază, frotiu periferic, determinări din urină, spută, scaun
- medicul: sânge arterial, măduvă osoasă, lichid cefalorahidian, lichide de puncție

NU SE EFECTUEAZĂ RECOLTĂRI ÎN LABORATOR (recoltarea se face pe secții – pentru bolnavii internati și în punctele de recoltare din Ambulator I adulți și Copii – pentru pacienții din ambulator), excepție testele de hemostază sau efectuate în urgență, din sânge capilar pentru copii (se recoltează în Lab de urgență – pentru externi și la punctele de recoltare sau în salon – la Ped 1, Neonatologie).

1.2 Colectare - tehnică

1.2.1 Colectoare

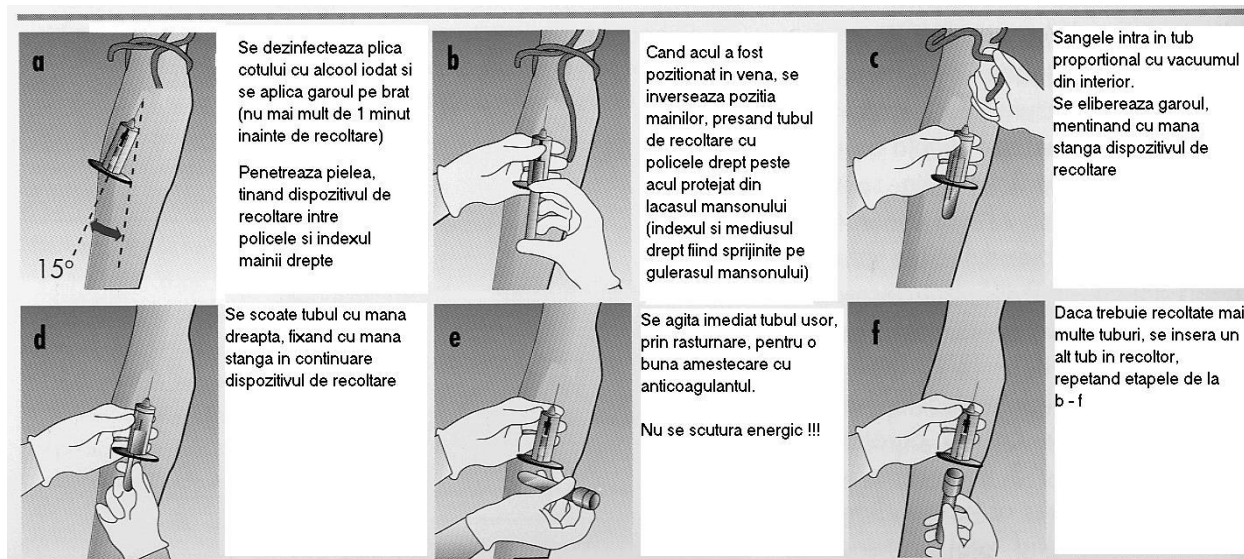
Tabel 1. Tipuri de colectoare și aditivi

Proba biologică	Anticoagulant/aditivi	Vacutainer/container – volum sânge/urină	Mecanism	Aplicații
Plasmă	Citrat Na ₃ 3,2% - 0,5 ml	4,5 ml – dop albastru	Complex cu Ca ²⁺	Coagulare
Sânge	Citrat Na ₃ 3,2% - 1 ml	4 ml – dop negru	Complex cu Ca ²⁺	VSH
Sânge	EDTA K ₃	2 ml – dop roz-violet	Complex cu Ca ²⁺	Hemograma, citometrie în flux, încărcături virale, HbA1c
Ser	-	7 ml – dop roșu	-	Biochimie, Hormoni, Markerii tumorali, virali, Imunologie
Urină	-	Recoltor urină ~ 15 ml	-	Sumar + sediment urinar
Urină	5 ml sol. Thymol 10%	Recoltor urină / eșantion de 10 – 15 ml	Conservare	Determinări biochimice din urina de 24 ore
Urină	Carbonat de sodiu 2g/l urină	Recoltor urină / eșantion de 10 – 15 ml	Conservare	Porfirine, UBG
Urină	HCl 6M/l, 25 ml în recoltor mare	Recoltor urină / eșantion de 10 – 15 ml	Conservare	Catecolamine și metaboliți AVM, 5-HIAA, Ca, Mg, fosfați
Urină	NaOH 6M/l, 25 ml în recoltor mare	Recoltor urină / eșantion de 10 – 15 ml	Conservare	Acid Uric, □2 mg

- Recoltarea se face cu sistemul de vacuum, **direct în vacutainer !**
- **Nu** se recoltează în seringă, pentru a transfera apoi în vacutainer ! Coagularea începe imediat după scoaterea sângelui din vase !
- **Atenție la proporția sânge : anticoagulant !** Proporie incorectă modifică rezultatele testelor de coagulare și a testelor hematologice.

1.2.2 Tehnica recoltării cu sistemul vacutainer (Fig.2)

Se notează pe eticheta recoltorului numele pacientului și numărul setului de analize !!!



1.3 Proba Biologică

= fluide biologice (sânge, urină, LCR, lichid amniotic, aspirate), colectate evitând riscul contaminării (vezi 1.2.2)

1.3.1 Sângele – Explorarea matricei proteo-saline

Pregătirea pacientului

Pacientului i se explică procedura la care va fi supus și se obține întreaga lui complianță.

- Recoltarea probelor se face cu pacientul în condiții bazale, înaintea oricărei proceduri diagnostice sau terapeutice (ideal între orele 7 și 9 dimineața, în condiții „a jeun” – pe nemâncate); pentru evaluarea metabolismului lipidic se recomandă ca recoltarea să se efectueze după 12 ore de la ultima masă.
- Când probele de sânge nu sunt recoltate în condiții bazale, trebuie ținut seama de efectele adiționale pe care le pot produce efortul fizic (chiar și efortul fizic moderat poate determina o creștere a glucozei, acidului lactic, proteinelor serice, CK), precum și a stării emoționale sau ritmului circadian care poate afecta anumiți parametri.
- 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).
- Asigurați-vă că pacientul stă într-o poziție comodă (în poziție șezândă sau în decubit dorsal).
- Verificați cu mare atenție ca toate datele demografice ale pacientului să fie corect scrise pe formularul cu care este însoțit acesta la punctul de recoltare a sîngelui și etichetați corect recipientul de recoltare.

1.3.1.1 Tehnica recoltării sîngelui venos pentru determinări serologice /plasmatic

- Recoltarea se face de regulă dimineața (între orele 7,00-9,00), pe nemâncate (a jeun) – cu excepția urgențelor medicale.
- Se notează nr setului și numele bolnavului pe eticheta recoltorului

- Se recoltează din venele antecubitale (sau din v. jugulară sau venele epicraniene la copiii mici sau din alte vene superficiale de la bolnavi, la care este imposibil de găsit o venă accesibilă la plica cotului).
- Se aplică garoul la cel puțin 2-3 laturi de deget (3-5 cm) deasupra locului de înțepare (Maximum **1 MINUT** înainte de recoltare). Bolnavul va strânge pumnul pentru a crea o presiune venoasă crescută și o distensie maximă a venelor aceluia segment de membru.
- Se dezinfectează cu un tampon cu alcool 70% sau cu tinctură de iod.
- Se pătrunde cu un ac steril cu calibrul adecvat cantității de sânge necesar să fie recoltat, cuplat apoi la un container vidat, etanș, cu marker de nivel indicat (Fig. 2).
- Sângele se recoltează ca atare (fără aditivi) pentru testele de biochimie, imunologie, serologie, hormoni, toxicologie și pe anticoagulanți pentru testele de coagulare și VSH.
- Pentru testele de coagulare, este preferabil să se îndepărteze garoul după punționarea venei (înainte de recoltarea în vacutainer), iar dacă se recoltează mai multe tuburi, cel pentru hemostază va fi al doilea în care se recoltează.

Evitarea hemolizei

Majoritatea cazurilor de hemoliză pot fi evitate dacă se respectă următoarele:

1. Folosiți un ac standard nu mai mic de 21-22 G (uneori poate fi necesar să se folosească ace de mărimea 22-23 G pentru pacienți vârstnici sau copii, cu vene dificil de punționate).
2. Dacă aerul poate intra pe lângă ac sau în tubul de recoltat, înlocuiți vacutainerul.
3. Dacă folosiți propriul echipament de recoltare și nu cel furnizat de laborator, asigurați-vă că folosiți materiale curate, uscate, sterile (tuburi, seringi, ace).
4. Recolțați sângele în vacutainere ținute la temperatura camerei.
5. Când vacutainerul se umple prea greu cu sânge datorită unei venopuncții dificile, acest fapt poate determina spargerea hematiilor. Alegeți un alt loc de recoltare și un alt vacutainer și recolțați al doilea specimen.
6. Nu retrageți acul din venă până în momentul în care vacutainerul nu este complet umplut. Retragerea prematură a acului poate determina intrarea aerului în tub cu distrugerea hematiilor.
7. Executați manevre cât mai blânde cu putință în timpul recoltării sângelui.
8. Permiteți uscarea după dezinfectarea locului de recoltare.
9. Nu recolțați sânge dintr-o zonă cu hematom.
10. Când folosiți vacutainere cu substanțe anticoagulante sau diferiți aditivi, percuțați ușor tubul imediat sub capac pentru a nu lăsa aditivul să adere de pereții vacutainerului sau de capac.
11. Permiteți tubului să se umple complet pentru a fi asigurată proporția corectă între sângele recoltat și aditivul din vacutainer.
12. Asigurați-vă că s-a produs amestecul sângelui cu anticoagulantul / conservantul / aditivul, rotind ușor vacutainerul cu o mișcare de rotație din încheietura mâinii sau agitați ușor pe verticală tubul de 5-6 ori. Agitarea energetică poate determina hemoliza sau formarea de cheaguri.
13. Verificați dacă aditivul / anticoagulantul s-a dizolvat. Dacă mai este vizibil, continuați agitarea blândă până este complet dizolvat.
14. Pentru vacutainerele fără anticoagulant, lăsați proba să sedimenteze cca. 30-45 minute înainte de centrifugare. Aceasta permite coagulului să se formeze.
15. Centrifugați proba folosind centrifugi calibrate, în conformitate cu instrucțiunile de durată și viteză cerute de centrifugare (de obicei 10-15 minute).

(Punctele 14 și 15, vor fi respectate de laborator)

1.3.2 Sângele - Explorarea elementelor celulare ale sângelui

1.3.2.1 Tehnica recoltării sângelui venos

- Sângele se recoltează pe cantități bine definite de substanțe sau soluții anticoagulante sau inhibitoare (vezi 1.2.1), omogenizând amestecul ușor (agitarea energetică produce hemoliză!).
- Se recoltează după descrierea de la 1.3.1.1

1.3.2.2 Tehnica recoltării sângelui capilar

- Se recoltează cu pipete sau recoltoare adecvate, din pulpa degetului sau lobului urechii (haluce sau călcâi la sugari).
- Pipetele și soluțiile trebuie pregătite înainte de înțepare.
- Se notează numele bolnavului pe eticheta recoltorului
- Recoltarea se face de regulă dimineața, pe nemâncate –a jeun - (în cazuri de urgență recoltările pentru leucocite sau pentru hemoglobină, hematocrit se fac la orice oră);
- Se dezinfectează pulpa degetului (de preferat degetul IV) sau lobulul urechii, prin badijonare cu un tampon cu alcool 70% sau alt dezinfectant uzual (alcool iodat);
- Se șterge cu un tampon uscat (locul de înțepat să fie uscat)
- Se înțeapă cu un ac steril în unghi de 45° față de linia mediană a pulpei degetului sau cu o lanțetă specială de singură folosință la lobulul urechii;
- Prima picătură de sânge se șterge cu un tampon uscat;
- Se recoltează picăturile următoare, care apar spontan sau prin ușoară apăsare (strângere) a degetului până la o distanță de cel mult 2 cm de locul înțepăturii (până la falanga a 2-a);
- Este interzisă strângerea energetică și/sau până la locul înțepăturii, pentru a nu dilua sângele cu lichid interstițial (dacă obținerea sângelui capilar este dificilă se încălzește zona sau se lasă să atârne extremitatea câteva minute).

1.3.2.3 Tehnica executării frotiurilor de sânge

- Se pregătește întocmai ca și pentru tehnica recoltării sângelui capilar.
- Se notează cu un creion grafit, numele pacientului și data recoltării, pe marginea șlefuită a lamei
- Se recoltează din picătura de sânge bine exprimată, cu marginea unei lame de sticlă, de preferat șlefuită (lamă de recoltare). Lama cu picătura de sânge se așează oblic (în unghi de 45°) pe lama de frotiu, degresată în prealabil cu alcool-eter și uscată bine prin ștergere cu un tampon uscat și fluturare în aer. Se ține lama de recoltare câteva secunde până picătura de sânge se etalează complet spre cele două margini ale lamei de bază.
- Se deplasează apoi lama de recoltare prin întindere spre capătul opus al lamei de frotiu, până picătura de sânge se epuizează. Un frotiu corect trebuie să se termine înainte de capătul opus al lamei, să fie uniform și cât mai subțire.
- Frotiurile se usucă la temperatura camerei pe un rastel de lame. Se fixează și se colorează ulterior după diferite tehnici. Lamele de frotiu se păstrează ferite de căldură, umezeală, chimicale și insecte.

1.3.2.4 Tehnica recoltării măduvei osoase

Recoltarea măduvei osoase se realizează de către medic, prin puncție sternală sau din creasta iliacă, utilizând anticoagulanți (heparină) în recoltoare sterile (cutii Petri sau tuburi închise).

1.3.3 Recoltarea urinei

Pregătirea pacientului

- Aportul de lichide în timpul recoltării trebuie să fie normal (cu excepția cazurilor când medicul curant face recomandări specifice în acest sens).
- În unele cazuri se recomandă întreruperea medicației care poate induce interferențe, cu cel puțin 12 ore (de preferat 48-72 ore) înaintea începerii recoltării.
- Unele alimente pot influența anumiți compuși chimici, astfel că uneori, la sfatul medicului, pacientul trebuie să țină o anumită dietă înaintea acestei analize.

Tipuri de probe de urină

Se pot recolta mai multe tipuri de probe de urină (tabel 2), în funcție de examinările ce trebuie efectuate:

Tabel 2. Diferite specimene de urină și utilizarea lor în laborator

Nr	Specimen	Utilizare
1.	Urină spontană	Determinări chimice calitative sau cantitative și/sau...
2.	Urină de dimineață	constituenți celulari / cilindri
3.	“a 2-a urină” (7-10 a.m.)	Clearance de creatinină
4.	Urină de 24 ore	Determinări cantitative

1.3.3.1 Pentru examinări calitative

După toaleta mâinilor și a regiunii genito-urinare (spălare cu apă și săpun, ștergere cu prosop curat și călcat), se recoltează într-un vas curat (steril pentru urocultură) prima urină de dimineață (10-15 ml din jetul mediu). Se notează pe recoltor numele pacientului și data/ora recoltării.

Este foarte important ca pacienții să cunoască modul corect de recoltare al probelor de urină. Mai jos sunt prezentate instrucțiunile pentru adulți/copii mari și sugari:

Instrucțiuni de recoltare la adult:

1. Curățați zona genito-urinară cu apă și săpun: la bărbat se va asigura curățarea meatului și glandului; la femeie, în cazul în care este prezentă o secreție abundentă, alături de toaleta obișnuită a vulvei, se va introduce în vagin un tampon steril.
2. Asigurați uscarea zonei anterior decontaminate cu ajutorul unor comprese sterile.
3. Urinați o cantitate mică în toaletă și fără să vă opriți, colectați în recipientul primit de la laborator restul de urină (recoltare din jetul urinar mijlociu, într-un mod similar cu proba pentru urocultură).
4. Pentru a preveni contaminarea probei, evitați să atingeți recipientul de zona genitală.
5. Etichetați recipientul de urină, precizând data și ora recoltării.
6. Refrigerati proba imediat după recoltare: trimiteți recipientul la laborator, respectând intervalul de timp menționat la fiecare tip de test.

Instrucțiuni de recoltare la sugar:

1. Curățați aria genito-urinară a copilului cu apă și săpun.
2. Nu tamponați zona curățată pentru a accelera uscarea; nu aplicați creme, uleiuri sau pudre pediatrice.

3. Atașați ferm de zona genito-urinară punga pediatrică de recoltare a urinei, astfel: dezlipiți banda protectoare din jumătatea inferioară a pungii și fixați porțiunea adezivă la nivelul perineului; când jumătatea de jos a pungii este fixată, dezlipiți partea superioară a benzii și continuați aplicarea porțiunii adezive, asigurându-vă că orificiul urinar a fost inclus în pungă.
4. Imediat după ce copilul urinează în punga de recoltare, aceasta se dezlipiște și se transportă la laborator în condiții corespunzătoare.

Foarte important!

- Evitați contaminarea probei de urină la transferul ei în recipientul de plastic; aveți grijă să nu atingeți containerul.
- Refrigerati proba imediat după recoltare și trimiteți-o la laborator în aceeași zi.

1.3.3.2 Pentru examinări cantitative

1.3.3.2.1 Urină “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 zile și nopții care urmează și prima urină din dimineața următoare.

Pe parcursul recoltării, vasul se ține la rece (uneori este nevoie să se adauge conservanți, pentru prevenirea descompunerii unor substanțe: 5-HIAA - se recomandă ca bolnavul să nu folosească nici un fel de medicație – dacă este posibil – în cele 3 zile premergătoare recoltării; AVM: acidifiere-25 ml HCl ~6N; □2-mg: alcalinizare - 25 ml NaOH ~6N; etc). Se măsoară volumul recoltat în cele **24 de ore (cu cilindru gradat)**, se notează numele pacientului și data recoltării pe recoltor, se omogenizează și se trimite în laborator un eșantion de 10-15 ml.

1.3.3.2.2 Pentru determinarea Clearance-ului de creatinină

Se aplică frecvent metoda prescurtată de recoltare: se aruncă prima urină de dimineață, apoi se recoltează într-un vas volumele de urină rezultate pe parcursul a **3 ore (între orele 7-10 a.m.)**. La mijlocul intervalului de timp se recoltează o probă de sânge pentru determinarea creatininei serice. Se măsoară volumul recoltat în cele 3 ore, se notează, se omogenizează și se trimite în laborator un eșantion de 10-15 ml.

1.3.4 LCR

Recoltarea lichidului cefalorahidian se realizează de către medic, prin puncție lombară (sau din alte regiuni ale coloanei vertebrale – este important să se specifice pe biletul de trimitere regiunea din care s-a recoltat), utilizând preferabil recipiente sterile (obligatoriu sterile, dacă se solicită și determinări bacteriologice) și anunțând telefonic laboratorul cu 30 minute în prealabil (int. 148 pentru teste bacteriologice, 149 pentru biochimie sau 131 pentru determinări între orele 13,00-08,00).

1.4 Transportul probelor biologice

1.4.1 Transportul probelor de sânge

Timpul de transfer al probelor către laborator poate fi:

- scurt, când locul de recoltare/clinica este în același loc cu laboratorul;
- mediu, când locul de recoltare/clinica este în aceeași localitate cu laboratorul, dar nu în același loc.

Există mai multe tipuri de transport al probelor, în funcție de natura produsului și de stabilitatea analiților care trebuie testați:

- transport în condiții ambientale;
- transport la rece (probe refrigerate la 4-12 °C, prin poziționarea în cutiile de transport termoizolatoare a unor „baterii refrigerabile” care vor fi reincarcate zilnic);

Reguli generale:

- în cazul unui timp de transfer scurt sau mediu, toate probele de sânge vor fi transportate ambiantal în containere/genti speciale (dacă nu există recomandări specifice de refrigerare a probelor);
- probele transportate ambiantal trebuie protejate de temperaturi extreme, prin ambalarea în materiale termoizolante (containere de polistiren);
- probele refrigerate trebuie plasate în apropierea „bateriei refrigerabile” și nu direct pe acestea;
- vor fi folosite dispozitive de monitorizare a temperaturii pe durata transportului.

Este foarte important ca separarea serului de pe cheag să se facă rapid (în 10-15 minute după recoltare), în cazul dozării PTH, □Cross-laps, Calcitoninei, hormonului de creștere (GH) și factorului de creștere Insulin-like (IGF).

Foarte important este ca prepararea frotiului de sânge venos să fie făcută în maximum 3 ore de la recoltarea sângelui.

De asemenea sângele recoltat pe citrat (pentru testele de coagulare) la pacienții care nu sunt heparinizați este stabil timp de 8 ore la temperatura camerei pentru determinarea timpului de protrombină, timpului de trombină, APTT, proteinei C și factorului V al coagulării. Nu este valabil însă pentru determinarea factorului VII și proteinei S care au o stabilitate mult mai redusă.

În cazul pacienților heparinizați sângele poate fi păstrat la temperatura camerei sau la frigider timp de 4 ore din momentul recoltării probelor. Dacă acest lucru nu este posibil, plasmă se separă și se stochează la -20°C.

1.4.2 Transportul probelor de urina

Pentru biochimia urinei și examenul microscopic al sedimentului urinar se recomandă ca urina să fie examinată în maximum 2 ore de la recoltare.

Cu cât urina este lăsată mai mult timp la temperatura camerei, cu atât devine mai puțin valoroasă pentru această analiză.

Dacă nu se poate asigura transportul la laborator în acest interval, urina trebuie să fie păstrată la frigider (4-8°C) sau tratată cu anumiți conservanți sau fixatori (vezi tabel 1). Aceste măsuri împiedică sau încetinesc multiplicarea bacteriană până în momentul efectuării testelor.

Pentru determinările urinare cantitative ale diversilor analiți urinari se recomandă ca probele să fie procesate imediat după ce au ajuns la laborator. Dacă acest lucru nu este posibil, probele vor fi păstrate la frigider (4-8°C), după ce în prealabil au fost adăugați următorii stabilizatori: **acid clorhidric**, pentru determinările de calciu, magneziu, fosfor, acid vanilmandelic, metanefrine, și **hidroxid de sodiu**, pentru determinările de acid uric.

1.5 Triere primară și distribuție pe departamente/compartimente; criterii de respingere

Triere primară se produce în cadrul dispeceratului, de către dispeceri care verifică corespondența dintre Formularul de monitorizare a transportului probelor primare și probele aduse, precum și integritatea recipientului, dacă s-a recoltat în recipientul corespunzător și în cantitate suficientă.

1.5.1 Criterii de respingere a produselor patologice

Laboratorul își rezervă **dreptul de a refuza** speciemenle recoltate și etichetate impropriu. Laboratorul admite că există situații când unele speciemenle sunt mai puțin obișnuite, provin din proceduri invazive sau nu au putut fi ușor recoltate și în aceste cazuri se pot aplica excepții de la regulile stricte ale respingerii probelor. Excepțiile sunt aplicate în concordanță cu procedurile de lucru în uz. În general, probele biologice impropriu recoltate nu sunt aruncate până în momentul în care unitatea sau persoana care a recoltat proba nu sunt anunțate.

1.5.1.1 Probe biologice neetichetate/fără set,-nume:

- în cazul probelor biologice obișnuite (sânge, urină, materii fecale, spută etc.) care nu pot fi identificate se recomandă repetarea recoltării;
- în cazul unor probe biologice mai puțin obișnuite (lichide biologice, LCR, fragmente de țesut etc.) se solicită persoanei care le-a recoltat să se deplaseze la laborator, să identifice speciemenul și să semneze o notă prin care își asumă responsabilitatea identificării speciemenului;
- dacă persoana responsabilă de recoltarea speciemenului nu este disponibilă să identifice proba, o persoană desemnată de medicul specialist o va înlocui în această procedură.

1.5.1.2 Probe biologice incorect etichetate:

- pentru probele care sunt etichetate cu numele/inițialele greșite ale pacientului, comparativ cu ceea ce este scris pe formularul care însoțește proba se aplică aceeași regulă ca mai sus;
- pentru probele care au numele scris greșit, dar numărul/codul pacientului este corect, trimitătorul va efectua o notă de clarificare a greșelii apărute.

1.6 Prelucrarea primară

Sângele pacientului, recoltat într-un tub fără substanțe anticoagulante, cu sau fără gel separator, este lăsat să sedimenteze/să coaguleze, după care va fi centrifugat și se separă serul, care conține toți componentii serici, mai puțin fibrinogenul.

Plasma este obținută din sângele recoltat într-un tub cu anticoagulant și apoi centrifugat. Anticoagulantul inhibă formarea coagulului. Plasma conține toate tipurile de proteine.

Prin centrifugare se pot separa atât plasmă, cât și ser (vezi fig.3.). Diferența dintre plasmă și ser este că plasma reține fibrinogenul, care este înlăturat din ser.

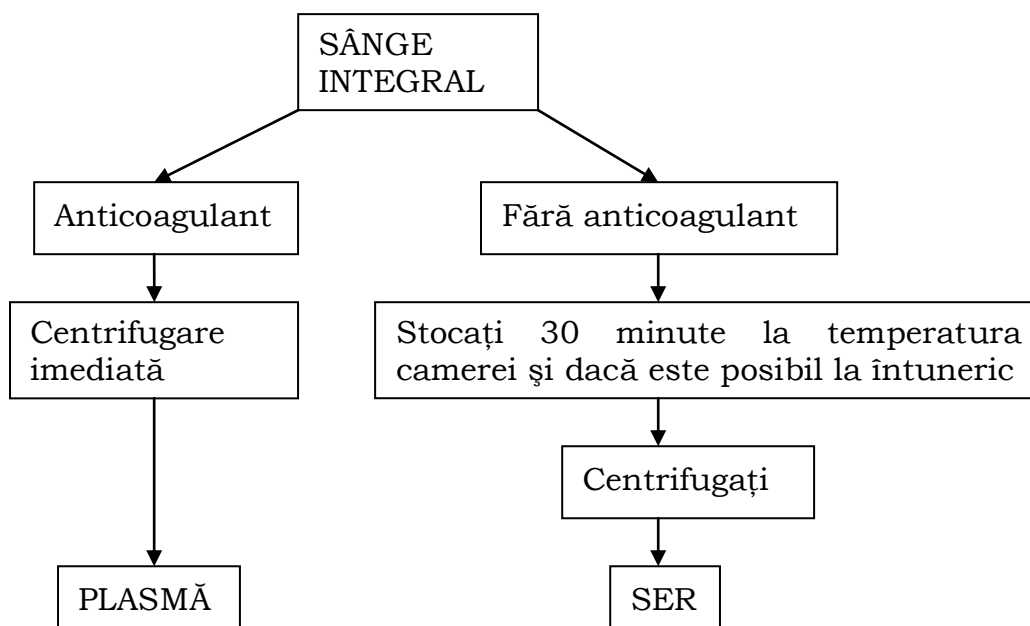


Fig.3. Obținerea plasmă și serului prin centrifugare

Pentru anumiți analiți există diferențe semnificative între rezultatele obținute la testarea din ser și cea din plasmă: potasiu, magneziu, fosfor, proteine totale, lactat etc.

Diferențele dintre valorile obținute din ser și din plasmă se datorează unor factori ca:

- analitul poate fi consumat în timpul procesului de coagulare: fibrinogen, trombocite, glucoză;
- analitul poate fi eliberat din celule în timpul coagulării: potasiu, LDH, fosfor, lactat;
- anticoagulantul poate interfera cu metoda de determinare în cazul GGT, Li

Tabelul 4. Avantajele/dezavantajele determinării în Plasmă vs Ser

<i>Plasmă versus Ser</i>	
Avantaje	<ul style="list-style-type: none"> • Procesare accelerată: etapa formării coagulului este eliminată; timpul de centrifugare se poate scurta prin creșterea vitezei de rotație. • Cantitate mai mare: dintr- probă de sânge se obține aprox. 15-20% mai multă plasmă decât ser. • Lipsa interferențelor legate de coagularea post-centrifugare: în ser se mai pot produce coaguli după o centrifugare precoce; acest lucru nu apare niciodată în plasmă. • Rezultatele obținute la testarea analiților din plasmă exprimă mai fidel statusul in vivo al pacientului comparativ cu cele din ser. • Risc mai mic de apariție în plasmă a hemolizei și trombocitolizei decât în ser.
Dezavantaje	<ul style="list-style-type: none"> • Electroforeza proteinelor este alterată în plasmă de prezența fibrinogenului (pseudo-peak în regiunea β-γ, ce poate mima un component M). • Anticoagulantul poate interfera cu metoda de determinare. • Interferență cationică: când se folosește plasmă heparinizată, litiul sau amoniul din anticoagulant pot interfera cu metodele de determinare a acestora.

Faza pre-centrifugare

Serul sau plasma trebuie separate fizic de celulele sanguine cât mai repede posibil, pentru a nu exista riscul producerii unor rezultate eronate; se recomandă astfel o limită maximă de 2 ore din momentul recoltării probei.

Un contact mai redus cu celulele sanguine (<2 ore) este recomandat pentru potasiu, glucoză, ACTH, cortizol, catecolamine, acid lactic și homocisteină.

Refrigerarea probelor de sânge inhibă metabolismul celulelor sanguine și stabilizează anumiți constituenți termolabili. Nu se recomandă ca probele de sânge integral să fie refrigerate decât dacă există recomandări specifice în acest sens. Astfel, este contraindicată refrigerarea în cazul probelor pentru determinarea potasiului, deoarece temperatura scăzută inhibă glicoliza și favorizează eliberarea potasiului din celule, obținându-se astfel rezultate fals crescute. Pe de altă parte, probele din care se vor testa ACTH, PTH, acid lactic, catecolamine și gastrina vor fi răcite prin plasarea într-un recipient ce conține un amestec de apă cu gheață.

Centrifugarea

Centrifugarea probei în vederea obținerii serului trebuie efectuată numai după ce se constată că sângele a coagulat complet. În mod normal coagularea se produce după cca. 30 minute, însă în cazul pacienților care primesc tratament anticoagulant sau prezintă defecte de coagulare aceasta se produce cu întârziere.

Centrifugarea probelor pentru obținerea de ser sau plasmă se efectuează în general la **3000 g timp de 5 minute**. Pentru obținerea unei plasmă deplachetate este nevoie ca proba să fie centrifugată timp de **15-30 minute la 2000-3000 g**.

După separarea serului sau plasmă, probele nu vor mai fi recentrifugate (pentru a obține un volum suplimentar de probă); de asemenea este contraindicată recentrifugarea în cazul probelor recoltate în vacutainere cu gel separator.

Transferul probelor în tuburi secundare trebuie efectuat cu mare atenție, pentru a evita contactul cu un material potențial infectant.

În cazul tuburilor cu gel se va verifica obligatoriu integritatea acestuia la sfârșitul centrifugării.

1.6.1 Criterii de respingere a produselor patologice la prelucrarea primara

1.6.1.1 Probe recoltate în recipiente improprii sau având conservanți neadecvați:

În cazul probelor recoltate în recipiente improprii sau fără conservanți adecvați, care pot invalida rezultatele, se va solicita repetarea recoltării. Secția sau locul de unde s-au recoltat va fi anunțată cât se poate de repede de către dispeceratul laboratorului, pacientul va fi contactat și chemat pentru o nouă recoltare a specimenului.

1.6.1.2 Cantitate insuficientă a probei:

Dacă va fi primită o cantitate insuficientă de probă biologică (urină, materii fecale, sânge etc.), se va solicita repetarea recoltării, avându-se grijă să fie respectate regulile de recoltare cu volumul necesar de probă. Dacă specimenul nu este ușor de recoltat (LCR, fluide etc.) medicul care a recoltat proba va fi contactat și se va stabili împreună cu acesta un mod corect de solicitare a parametrilor ce urmează a fi testați.

1.6.1.3 Specimen neadecvat recoltat:

Probele primite care nu sunt adecvate testării de rigoare (ex.: urină pentru testele de sânge etc.) vor fi respinse. Secția sau locul de unde s-a recoltat proba va fi anunțată și se cere să fie recoltată o probă adecvată.

1.6.1.4 Specimen transportat/stocat inadecvat:

- în cazul în care durata transportului probei la laborator a depășit intervalul de timp admis pentru a obține rezultate valide, aceasta va fi respinsă;
- vor fi respinse de asemenea probele care necesită refrigerare și au fost transportate la temperatura camerei, precum și probele care trebuie congelate și au ajuns la laborator decongelate.

1.6.1.5 Probe hemolizate:

Anumite teste sunt invalidate în prezența hemolizei in vitro.

Dacă serul este intens hemolizat (vezi PO-XX), se va lua legătura cu medicul trimițător/pacientul și se va solicita repetarea recoltării.

Informarea medicului trimițător, mai ales în cazul pacienților spitalizați, este obligatorie pentru a exclude cazurile rare de hemoliză in vivo, la care respingerea probei poate constitui o dovadă de malpraxis.

1.7 Stocarea probelor

După încheierea procesului analitic, o parte din probe vor fi păstrate o anumită perioadă de timp (vezi tabel 5), în condiții bine stabilite, astfel încât să permită confirmarea rezultatelor, verificarea identității probelor sau efectuarea unor teste suplimentare.

Reguli generale:

- procedura de stocare a probelor trebuie să țină cont de stabilitatea analiților;
- în congelatoare probele sunt păstrate de obicei în tuburi secundare; este posibilă arhivarea și în tuburile primare care conțin gel, dacă producătorul specifică acest lucru;
- se va evita pe cât posibil stocarea sângelui integral; oricum sângele integral destinat obținerii serului/plasmei nu trebuie păstrat în frigider;
- intervalul de păstrare a probelor este cu atât mai mare cu cât temperatura de arhivare este mai scăzută (excepții; probele pentru electroforeza lipoproteinelor și determinarea de apolipoproteine A1 și B nu trebuie păstrate la congelator);
- după decongelare proba trebuie omogenizată prin mișcări de inversiune a tubului, fără a se produce spumă;
- evitați decongelarea-recongelarea.

Probele de plasmă destinate determinării încărcăturii virale B și C, precum și probele de toxicologie (metale) sunt consumate de obicei aproape integral în procesul analitic, de aceea nu vor mai putea fi disponibile pentru retestări (se va solicita repetarea recoltării).

Tabelul 5. Proceduri de arhivare a probelor

Probe pentru:	Tipul probei	Perioada arhivării	Temperatura
Hematologie	Sânge pe EDTA	24 ore	19-23°C
Biochimie și imunochimie (excepție fac probele menționate mai sus)	Ser	1 săptămână	2-4°C
Determinare hormoni și markeri tumorali	Ser	2 saptamani	-20°C
Screening prenatal TORCH, serologie sifilis la care s-au obtinut rezultate pozitive	Ser	1 luna	-20°C
Alergologie si boli autoimune	Ser	2 saptamani	-20°C
Încărcătura virală HIV	plasmă	indefinit	-70°C
Determinări speciale – studii, tulpini de control, materiale de referință și control	Plasmă, ser, liofilizate	Până la utilizare	-70°C

Coagulare	Plasma	8 ore	19-23°C
Examen de urina	Urina	5 ore	19-23°C
Examen biochimic al LCR	LCR	24 ore	2-4°C

2 Factori care afectează rezultatul în faza de recoltare a lichidelor biologice

Recomandare: Pentru a evita interpretarea eronată a rezultatelor analizelor de laborator, procedura standard de recoltare a probele de sânge prevede 10-12 ore de repaus alimentar, lipsa activității fizice prealabile și poziția șezând.

2.1 Ingerarea de alimente înainte de recoltare duce la valori crescute:

- cu până la 50% ale trigliceridelor;
- până la 15-20% ale glicemiei, transaminazelor, bilirubinei, fosfaților anorganici;
- până la 10% ale potasiului;
- cu până la 5% ale aminoacizilor, proteinelor, ureei, acidului uric, sodiului, calciului, fierului, colesterolului (variațiile mai mici de 5 % pot fi considerate neglijabile, fiind irelevante clinic!)

2.2 Înfoțetarea

- De scurtă durată – până la 48 de ore – duce la scăderi ușoare ale prealbuminei, proteinei transportoare a retinolului și creșteri ușoare ale corpiilor cetonici.
- De durată medie – după 48 ore – duce la creșteri însemnate ale corpiilor cetonici, lactatului, piruvatului și acizilor grași liberi (acidoză metabolică).
- De lungă durată – săptămâni – duce la scăderea semnificativă a: g-GT, trigliceridelor, colesterolului, GPT, ureei, glucozei și creșterea semnificativă a: GOT, creatininei, acidului uric.

2.3 Ingestia de alcool

2.3.1 Ingestia acută de alcool (2-12 ore înainte de recoltare)

- duce la creșteri ale trigliceridelor și γ GT (până la +50%), a aldosteronului (până la +150%)
- duce la scăderi ale colesterolului (-10-20%), ADH, Cortizol, Prolactinei (-40-50%)

2.3.2 Ingestia cronică de alcool

- duce la creșteri ale activității γ GT (+1000%), GOT (+200-300%), trigliceridelor, GPT, estradiol, cortizol (+50%), volumului corpuscular mediu (MCV) și colesterolului (+10%)
- duce la scăderi ale LDL-C (-20%) și acidului vanil mandelic (-15%)

2.4 Trecerea din clino- în ortostatism duce la creșteri:

- de până la 15% ale parametrilor corpusculari - hematii, hemoglobină, hematocrit

- de până la 10% ale substanțelor macromoleculare - proteine, lipoproteine, enzime
- de până la 5% ale leucocitelor, calciului total, imunoglobulinelor

Efectul poate fi mai accentuat la pacienții cu tendința de a face edeme (ciroza hepatică, insuficiența cardiacă).

2.5 Aplicarea prelungită a garoului înainte de recoltarea sângelui

- Duce la creșteri cu mai mult de 5% ale concentrației: proteinelor, enzimelor, lipidelor, parametrilor corpusculari
- Duce la scăderi cu până la 5% ale parametrilor cu greutate moleculară mică, nefixați pe transportori: potasiul, clorul, creatinina, ureea, glucoza, fosfații anorganici și cu mai mult de 10% ale timpilor de coagulare

2.6 Activitatea fizică

Activitatea fizică intensă înaintea recoltării poate duce la creșteri ale transaminazelor, CPK, ureei, glucozei.

2.7 Variații diurne semnificative se pot observa la determinările:

- hormonale – catecolamine, corticosteroizi, prolactina, aldosteronul, testosteronul, T4 (prezintă nivele maxime în general dimineața – orele 4,00-9,00 a.m.), în timp ce TSH și hormonul somatotrop prezintă concentrația maximă în timpul somnului (între orele 21,00 – 2,00)
- electroliților urinari – concentrația sodiului urinar este cu 20-40% mai mică după masa decât dimineața
- fierului seric – între orele 14,00-18,00 concentrația este cu 50-70% mai mare decât dimineața
- eozinofilele – între orele 18,00-20,00 sunt cu 30-40% mai scăzute decât dimineața

2.8 Recoltări de pe catetere

- se recomandă a nu se recolta de pe catetere de perfuzie, preferându-se brațul opus
- este preferabil să treacă cel puțin 1 oră după terminarea perfuziei și până la recoltarea de sânge
- dacă nu se poate puncționa o altă venă, recoltările de pe cateter se vor face cu aruncarea primilor 5 ml de sânge și abia apoi umplerea tuburilor de recoltare
- pentru testele influențate de heparină (APTT, timp de trombină), înainte de recoltarea de pe catetere heparinizate în tubul cu citrat, se recomandă să se recolteze mai întâi pentru alte determinări (biochimie, hematologie)
- se recomandă de asemenea să nu se recolteze sânge care a “staționat” în cateter

2.9 Fumatul

2.9.1 În dimineața recoltării

Duce la creșteri ale concentrației multor hormoni (adrenalină, aldosteron, cortizol), acizilor grași

2.9.2 Cronic

- Duce la creșteri ale carboxihemoglobinei, antigenului carcinoembrionar (CEA+50%), leucocitelor (+30-40%), fibrinogenului (+15-20%)
- Duce la scăderi ale prolactinei, carotenoizilor (-20%), HDL-C (-10-15%)

2.10 Interferențe medicamentoase

Medicamentele pot exercita atât efecte *in vivo* (influențe biologice), cât și *in vitro* (interferențe fizico-chimice). În tabelul 6 de mai jos sunt exemplificate câteva din principalele tipuri de interferențe medicamentoase:

Tabelul 6. Influența diverselor medicamente asupra unor parametri de laborator

Categorie	Mecanism	Exemplu de medicament	Exemplu de analiză modificată
Influență biologică <i>in vivo</i>	Inducție enzimatică	fenitoin	↑ GGT
	Inhibiție enzimatică în ficat	allopurinol	↓ acid uric
	Inhibiție enzimatică în plasmă	ciclofosfamidă	↓ colinesteraza
	Creșterea proteinelor de legare	contraceptive orale	↑ cupru plasmatic
	Competiție cu procesul de glucuronidare	novobiocin	↑ bilirubina indirectă
	Efect antivitaminic	warfarină	↓ proteina C
	Citotoxicitate	cisplatin	↑ creatinina
Interferențe fizico-chimice <i>in vitro</i>	Interferență cu reacția diazo	teofilină	↓ bilirubina
	Interferență optică prin culoarea galbenă	rifampicină	↑ bilirubina
	Interferență cu metoda hexokinazei	metronidazol	↓ glucoza

2.11 Aspecte particulare legate de tehnica de recoltare

2.11.1 Parametrii biochimici pot fi influențați de:

- tipul de anticoagulant folosit - în determinarea glicemiei trebuie să se aibă în vedere că fără un inhibitor al glicolizei (fluorura de Na, Iodoacetat), rata acesteia este de 7% pe oră – la determinările glicemiei în ser, este important ca analiza să se efectueze în prima oră după recoltarea probei
- determinarea din ser sau plasmă influențează rezultatele anumitor parametri - potasiul, fosforul anorganic, LDH, fibrinogenul
- în caz de trombocitoză (>800.000/μl) se recomandă ca determinarea potasiului să se facă în plasmă (sânge heparinizat) și nu în ser

- pentru anumiți parametri testați în urina de 24 ore, este nevoie de adăugarea unor conservanți / unui anumit pH (catecolaminele sau produșii lor de metabolism, β_2 microglobulina - alcalinizare), sau necesită încălzirea urinei (și acidifiere – în cazul determinării Ca)
- pentru determinările corpusculare în LCR, se recomandă evitarea recoltării pe EDTA și recoltarea/transportul LCR în recipiente închise

2.11.2 Parametrii hematologici pot fi influențați de:

- tipul de anticoagulant folosit: pentru determinări corpusculare se recomandă EDTA K3, alți anticoagulanți - oxalații, citratul, etc - influențând forma, volumul, adezivitatea, dispunerea pe frotiu a elementelor figurate.
- este preferabil ca frotiurile de sânge să se efectueze din sânge capilar.

2.11.3 Testele de coagulare pot fi influențate de:

- timpul de aplicare al garoului să nu depășească 1 minut; garoul trebuie scos înainte de intrarea sângelui în vacutainer
- dacă se recoltează mai multe tuburi, cel cu citrat va fi recoltat al doilea
- pentru recoltare se vor folosi ace 19-21 G pentru adulți și 22-23 G pentru copii
- tipul de anticoagulant folosit și proporția cu sângele – se recomandă citratul de sodiu 3,8% (0,109 mM/l) în proporție strictă 1:9 cu sângele recoltat; oxalatul sau EDTA determină o mai rapidă inactivare a factorilor labili (V și VIII) ai coagulării
- se va evita formarea spumei la recoltare (agitarea tuburilor se va face delicat)
- rezultatele din probe hemolizate, icterice sau lipemice vor fi compromise (se recomandă repetarea recoltării)

3 Factori care afectează rezultatul în faza de transport și stocare a materialelor biologice

Recomandăm trimiterea probelor biologice în laborator pe măsură ce sunt recoltate (în grupuri de 10-20 tuburi) și a nu se colecta pe secții până la terminarea tuturor recoltărilor. Prelucrarea serului trebuie să se facă în maximum 1 oră de la recoltare, pentru rezultate cât mai corecte.

Se recomandă centrifugarea în decurs de maximum 1 oră a probelor pentru determinările din ser sau plasmă, însă nu înainte de 30 minute de la recoltare (**pentru a preveni hemoliza și formarea tardivă a cheagului de fibrină în supernatant – fenomen care CONDUCE LA ERORI DE PIPETARE ȘI LA BLOCAREA SISTEMELOR DE ASPIRARE ALE ANALIZOARELOR**). Utilizarea unor tuburi cu gel de separare a serului de elementele figurate antrenate în cheag (mult mai costisitoare însă), previne eliberarea în ser a unor constituenți ai elementelor figurate.

3.1 Factori care influențează parametrii biochimici-imunologici

- cu excepția fosfatazei acide, amoniacului, gazelor sanguine și lactatului, restul parametrilor de tip substrat sunt stabili în serul separat de pe cheag, 1 zi la temperatura camerei (la 4°C enzimele) și până la 4 zile la 4°C (activitatea enzimelor scade cu 5-10%/zi); pentru o mai lungă

conservare se recomandă congelarea la -20°C în recipiente închise (cu excepția enzimelor, a căror activitate se reduce cu 5-10%/zi de stocare).

- pentru determinarea glicemiei, se recomandă ca probele recoltate fără anticoagulanți specifici (fluorură, iodoacetat), să fie centrifugate și serul separat în decurs de 30 minute de la recoltare; probele recoltate pe anticoagulanți amintiți, pot fi stocate la 4°C , în recipiente închise, până la 7 zile.
- sedimentul urinar se recomandă a fi analizat în maximum 2-3 ore de la recoltarea urinei; refrigerarea nu este recomandată, deoarece duce la precipitarea sărurilor.
- elementele celulare din LCR trebuie analizate pe parcursul a 1 oră de la recoltare.
- gazele sanguine trebuie determinate imediat (dacă nu este posibil, se recomandă ca probele să fie colectate în recipiente de sticlă și plasate la gheață, până la 2 ore de la recoltare).
- separarea serului de pe cheag să se facă rapid (în 10-15 minute după recoltare), în cazul dozării PTH, β Cross-laps, Calcitoninei, hormonului de creștere (GH) și factorului de creștere Insulin-like (IGF).

3.2 Factori care influențează parametrii hematologici

- în recipiente închise, componenții celulari și hemoglobina sunt stabile 1 zi, tuburile fiind păstrate la temperatura camerei, în poziție orizontală.
- se recomandă prepararea frotiurilor în decurs de 3 ore de la recoltarea sângelui.

3.3 Factori care influențează parametrii hemostazei

- determinările trebuie făcute cât mai repede posibil (dacă nu este posibil, se recomandă stocarea plasmei sărace în plachete imediat la -20°C).
- plasma pentru determinarea timpilor Quick (PT), de trombină și a APTT, poate fi stocată 4 ore la temperatura camerei sau mai corect în frigider (la 4°C); determinările mai tardive de 4 ore conduc la scurtarea valorilor PT sau APTT.
- pentru determinarea proteinei S și a factorilor V și VIII, plasma poate fi stocată maximum 4 ore.
- pentru determinări de AT III, fibrinogen și proteină C, plasma poate fi stocată 7 zile (la 4°C).
- obținerea corectă a tipurilor de plasmă:
 - bogată în plachete – centrifugare 5 minute la 150-200 g
 - săracă în plachete – centrifugare 10 minute la 1000-2000 g
 - lipsită de plachete – centrifugare 15-30 minute la 2000-3000 g

3.4 Stocarea (vezi tabelul 5)

- Probele de ser pentru determinări biochimice de rutină se păstrează 24 de ore la 4°C .
- Probele de sânge integral se păstrează 24 de ore la temperatura camerei, în poziție orizontală.
- Probele de urină se păstrează 24 de ore la 4°C (obligatoriu cu aditivi).
- Testele speciale (imunologice, hormonale, markeri virali, boli autoimune, tumorale) se efectuează în medie 1-2 ori / săptămână, serurile fiind congelate la -20°C – se recomandă programarea testelor, pentru a se putea face determinarea din ser proaspăt.

4 Factori care afectează rezultatul în faza de analiză propriu-zisă

4.1 Hemoliza

- determinarea LDH, potasiului, GOT și a CPK sunt influențate (↑) chiar și de o hemoliză ușoară; concentrația potasiului crește după 1 oră de la recoltare, chiar fără hemoliză
- hemoliza scade concentrația fosfatazei alcaline, amilazei și γ GT.
- hemoliza masivă (>5g/l) influențează toate determinările enzimaticе, microelementele, hormonii, markerii tumorali și serologici virali

!!! Absența culorii roșii a serului nu înseamnă lipsa hemolizei. În momentul în care serul apare hemolizat cu ochiul liber, nivelul hemolizei este cel puțin 300mg/l.

4.2 Hiperbilirubinemia

- influențează determinarea acidului uric (dacă Bi > 5 mg%), a trigliceridelor (dacă Bi > 10 mg%), a creatininei (dacă Bi > 25 mg%)
- în determinarea creatininei, interferența poate fi preîntâmpinată prin determinarea în filtratul rezultat în urma centrifugării serului printr-o hârtie specială de filtru

4.3 Lipemia

- serurile lactescente interferă cu toate determinările fotometrice (enzime, substrate, elemente minerale, proteine speciale - teste turbidimetrice) și testele de coagulare. Substanțele hidrofile (electroliti, substrate) vor apare în concentrații fals crescute, datorită efectului hidrofob al lipidelor (“înlocuitor” de apă).

5 Influența unor factori biologici asupra rezultatelor

5.1 Vârsta

Cele mai însemnate modificări fiziologice legate de vârstă, le prezintă:

5.1.1 La nou-născut

Hemoglobina, bilirubina și acidul uric (fig.4): concentrația Hb, este mult mai mare la nou-născut decât la adult; în zilele imediat următoare nașterii hemoliza fiziologică (asociată imaturității funcției de glucuronoconjugare hepatică) duce la creșteri însemnate ale bilirubinei; concentrația acidului uric la naștere este similară cu a adultului, descrescând semnificativ după ziua a 2-a.

5.1.2 În copilărie / adolescență

Modificări semnificative ale fosfatazei alcaline (fig.4) și imunoglobulinelor (fig.5 și tabelul 7): activitatea fosfatazei alcaline serice în copilărie/adolescență, oglindește activitatea osteoblaștilor (spre deosebire de adult, unde predomină izoenzima secretată de epiteliile canalelor biliare), fiind ceva mai scăzută la sexul feminin.

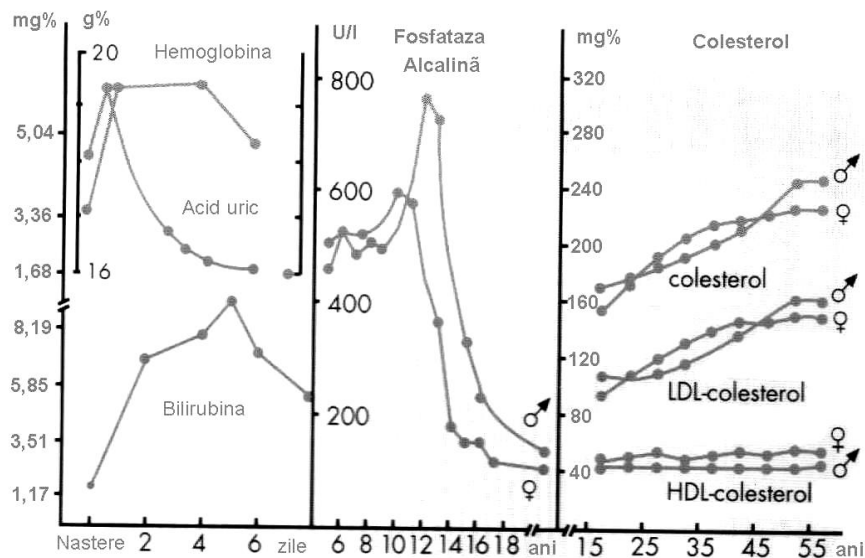
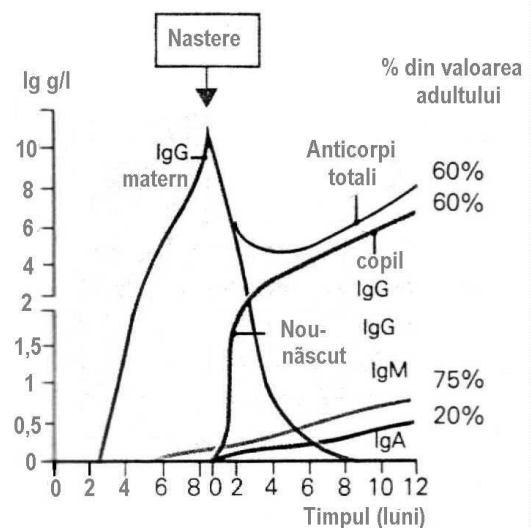


Figura 4. Parametrii de laborator influențați de vârstă

Concentrația imunoglobulinelor suferă modificări dramatice, în special în primele luni de viață, Ig A fiind “deficitară” până în adolescență (fig.5 și tabelul 7).

Figura 5. Concentrația imunoglobulinelor în viața intrauterină și în primul an de viață



5.1.3 La adult

Concentrația colesterolului total și a fracțiunii din LDL crește cu vârsta (fig.4)

5.2 Sexul

În afara hormonilor sexuali, există o serie de parametri de laborator (în special aceia care depind de masa musculară), care diferă la cele două sexe. Figura 6 redă câțiva dintre acești parametri, considerând “1” domeniul fiziologic la femeie, iar variația la bărbați fiind exprimată ca și indice de multiplicare.

Tabelul 7. Valorile normale ale imunoglobulinelor la copii, pe grupe de vârstă

Vârsta	IgG (g/l)	IgA(g/l)	IgM(g/l)	Ig totale
nou născut	8,31-12,31	0,00-0,04	0,06-0,16	8,43-10,45
1-3 luni	3,10-5,50	0,08-0,44	0,19-0,41	3,54-6,08
4-6 luni	2,41-6,13	0,10-0,46	0,26-0,60	2,94-7,02
7-12 luni	4,42-8,80	0,19-0,55	0,31-0,97	5,10-9,94
13-24 luni	5,53-9,71	0,26-0,74	0,42-0,74	6,12-11,20
25-35 luni	7,09-10,75	0,34-1,08	0,42-0,80	8,19-12,29
3-5 ani	6,41-12,17	0,66-1,20	0,48-0,74	8,33-13,23
6-8 ani	6,67-11,79	0,79-1,69	0,40-0,90	8,19-14,05
9-11 ani	8,89-13,59	0,71-1,91	0,44-1,12	10,80-15,88
12-16 ani	8,22-10,70	0,85-2,11	0,39-0,79	9,84-13,22

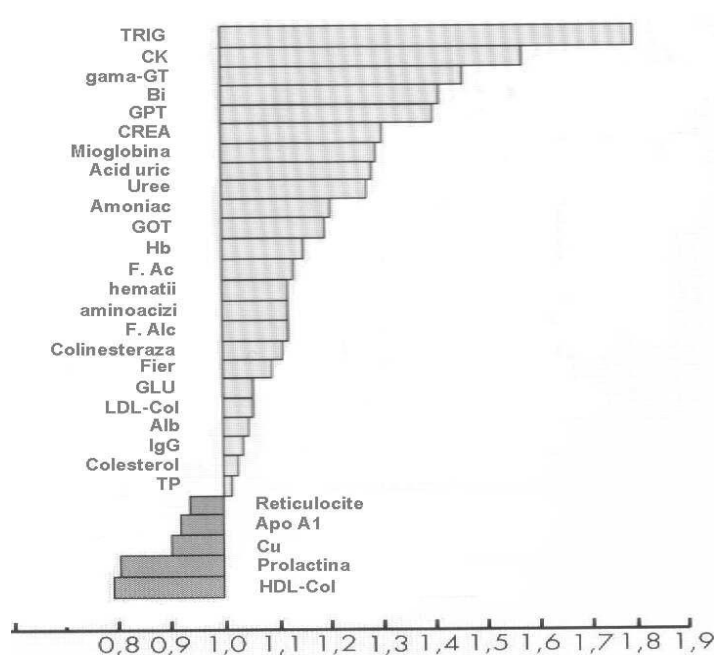


Fig 6. Diferențe fiziologice legate de sex ale unor parametri de laborator (cifra “1” reprezintă domeniul fiziologic la femeie, variațiile în jurul acestei cifre reprezentând situația parametrului la bărbați)

5.3 Sarcina

Interpretarea rezultatelor de laborator la femeia gravidă trebuie să țină cont de vârsta sarcinii: Tabele 8 și 9 redau unele dintre diferențe.

Tabel 8. Mecanisme care modifică unii parametri plasmatici la femeia gravidă

Nr	Mecanism	Teste modificate
1	Inducție	Fosfataza alcalină, Factorul VII al coagulării
2	Creșterea concentrației plasmatice a proteinelor transportori	Lipide, tiroxina, ceruloplasmina, cuprul
3	Hemodiluție	Proteine totale, albumina
4	Creșterea masei corporale și a metabolismului	Clearance-ul de creatinină
5	Deficiență relativă prin creșterea necesarului	Fe, Feritina
6	Creșterea proteinelor de fază acută	VSH

Tabel 9. Modificarile parametrilor de laborator in cursul sarcinii normale

Denumire analiza	Trimestrul I	Trimestrul II	Trimestrul III
Sodiu	∅	∅	∅
Potasiu	↓	↓	↓
Calciu	↓	↓	↓
Magneziu	↓	↓	↓↓
Clor	∅	∅	∅
Creatinina	↓↓	↓↓	↓↓
Uree	↓↓	↓↓	↓↓↓
Acid uric	↓↓	↓	↑/↑↑
Bilirubina	↓↓↓	↓↓↓	↓↓
Glucosa (a jeun)	↓↓	↓↓	↓↓
Glucosa (postprandial)	↑	↑	↑
Proteine totale	↓	↓↓	↓↓
Albumina	↓	↓↓	↓↓
IgG	↓↓	↓↓↓	↓↓↓
IgM	↓↓	↓↓	↓↓
Fosfataza alcalina	↓	↑↑	↑↑↑
ALT	↓	↓	∅
AST	↓	↓	∅
Amilaza	↑	↑	↑↑
GGT	↓	↓↓	↓
LDH	↓	∅	↑
Colesterol	∅	↑	↑↑
HDL-colesterol	↑↑	↑↑	↑↑
Trigliceride	↑↑↑	↑↑↑↑	↑↑↑↑

Sideremie	Ø	↓	↓
CTLF	↑↑	↑↑↑	↑↑↑
Feritina	↓↓	↓↓↓	↓↓↓↓
Hemoglobina	↓	↓/↓↓	↓/↓↓
Hematocrit	↓	↓/↓↓	↓/↓↓
VEM	Ø	Ø	Ø
Numar eritrocite	↓	↓/↓↓	↓/↓↓
Leucocite	↑↑	↑↑↑	↑↑↑
Limfocite	Ø	Ø	Ø
Monocite	↑↑↑	↑↑↑	↑↑↑
Neutrofile	↑↑↑	↑↑↑↑	↑↑↑↑

Modificari comparativ cu femeile sanatoase negravidе.

<2%-Ø; 2-10%-↓,↑; 11-30%-↓↓,↑↑; 31-100%-↓↓↓,↑↑↑; >100%-↓↓↓↓,↑↑↑↑

5.4 Ciclul menstrual

În timpul ciclului menstrual FSH, LH, estradiol și progesteron prezintă variație ciclică. Fe și fosforul scad la menstruație iar colesterolul scade la ovulație.

5.5 Intervenții chirurgicale

În faza postoperatorie imediată crește valorile de VSH, CRP, fibrinogen, uree, nr. leucocite și scade albumina și colesterolul.

6 Recoltarea produselor biologice în vederea examenului bacteriologic

6.1 Solicitarea analizelor

Se face conform unor protocoale de evaluare ale diverselor grupe de patologie, emis de conducerea fiecărei clinic/sectii.

Cine solicita analiza?

Solicitarile se fac de catre medicii curanti.

6.1.1 Programul de funcționare a compartimentului de microbiologie din cadrul Laboratorului de Analize Medicale

Luni – sâmbătă: orele 7,30 – 14,30

Primirea probelor:

- secreții faringiene recoltate pe mediu de transport până la ora 12

- produse prelevate pe medii de transport sau produse refrigerate (+2-8°C): până la ora 13,30
- probe de urină: dimineața până la ora 9 - în cazuri justificate (urgente, pacienți cateterizați) se acceptă urina recoltată în timpul zilei, numai dacă durata transportului nu depășește 1 oră sau dacă se transportă refrigerat (+2-8°C)
- produse recoltate pe tampoane fără mediu de transport, nerefrigerate: se prelucrează doar în cazul în care transportul nu depășește 1 oră
- trimiterea lichidului cefalo-rahidian, pleural, ascitic, pericardic, secreții genitale se anunță laboratorului cu cel puțin o jumătate de oră înainte de puncție (recoltare) pentru pregătirea mediilor de cultură

Următoarele produse care nu ajung până la 13,30, vor fi trimise la Laboratorul de Urgență:

- lichid cefalo-rahidian, ascitic, pleural, pericardic,
- puroi,
- aspirație gastrică la nou-născuți,
- secreții genitale femei

6.1.1.1 Cum se solicita analizele de laborator?

În cazul secțiilor/clinicilor/cabinetelor interne solicitarea examenelor paraclinice de microbiologie se face electronic, prin emiterea setului de analize în Sistemul Informatic al Laboratorului (Programul Hospital Manager) și completarea cererii de analiză microbiologică. În cazul secțiilor/clinicilor externe solicitarea se face prin completarea cererii de analiză microbiologică.

Cererea va fi completată obligatoriu cu datele cerute pe aceasta, și anume datele de identificare ale pacientului, datele demografice, diagnosticul de bază și de infecție, data și ora recoltării probei și persoana care este responsabilă de recoltare/instruire pacient. Se bifează felul probei, examenul solicitat și se completează datele clinice despre pacient. Se menționează în scris (la observații) toate acele date complementare care sunt considerate necesare de către medicul curant și care ar putea ajuta la interpretarea corectă a rezultatului (figura 1).

Recipientele se etichetează cu numărul de set și felul produsului patologic. Numărul setului se înscrie și pe cererea de analiză.

Secțiunile exterioare vor înscrie pe recoltor numele pacientului și felul produsului.

6.1.1.2 Cine anunță/pregătește pacientul pentru recoltarea probei?

Asistenta de salon/ambulator anunță bolnavul asupra:

- momentului/locului recoltării
- dietei precedente
- tratamentului medicamentos care influențează rezultatul
- toaletei premergătoare anumitor recoltări

6.1.1.3 Cine face recoltarea?

Asistenta medicală: secreția faringiană, puroi, secreții din leziuni superficiale sau eliminate prin tub de dren, sange pentru hemocultură, urină recoltată prin cateter permanent

Medicul curant: lichide sterile în mod normal (exceptie sange), probe intraoperatorii, urină prin cateter nou introdus

Bolnavul (după instruire corespunzătoare): urină emisă spontan, materii fecale

În laboratorul de microbiologie nu se fac recoltări.

CERERE DE ANALIZĂ MICROBIOLOGICĂ*

Clinica, salonul _____ Telefon (interior) _____ Nr. foi de observație _____ Data internării _____
 CNP _____ Numele _____ Prenumele _____ Vârsta _____
 Domiciliul Urban Rural Internat din jud. Mureș alt județ Internare de o zi Ambulator de specialitate _____
 Diagnostic de bază _____
 Dg. pentru care se trimite _____
 Data recoltării _____ ora _____ asistenta (nume și prenume) : _____

PRODUSUL DE EXAMINAT

Respirator exsudat faringian exsudat nazofaringian spută lavaj bronșic aspirație bronșică Puroi: furuncul escară abces ulcer gambă arsuri plagă chir otic sinuzal picior diabetic	Urină obținută: din jetul mijlociu prin puncție suprapubică prin cateter permanent prin cateter nou introdus Secreții genitale conținut vaginal secreție canal cervical secreție uretrală/prostatică	Alte produse LCR sânge pt hemocultură exudate, transudate materii fecale cateter _____ canalul _____ secreție conjunctivală secreție mamară aspirat gastric	Depistare portaj: secreție cameră nazală ant. (<i>S. aureus</i>) secreție faringiană materii fecale (<i>Salmonella</i> , <i>Shigella</i> spp.) secreție vaginală la gravide (<i>Streptococcus agalactiae</i>)
--	--	---	--

EXAMENE SOLICITATE

1. Examen microscopic 2. Cultivare: germeni aerobi , anaerobi , fungi 3. Examen parazitologic
 4. Antigene, toxine (se denumesc): _____

DATE DESPRE BOLNAV, TRATAMENTE UTILIZATE:

Antibiotic Nu Da (substanța activă și data ultimei administrări): _____
 Antiseptic local: Nu Da Imunosupresive: Nu Da Diuretice (la uroculturi): Nu Da
 Alergie la antibioticele: _____
 Rezultatul analizei bacteriologice anterioare a aceluiași pp. _____
 Uroculturi: sediment urină (leucocite) _____ simptomatologie _____
 Observații: _____

Medicul solicitant: Nume _____ Prenume _____

(semnătura și parafa - cod)

Se completează în laborator:

Data și ora recepționării probei: _____ Motivele de respingere ale produsului:
 recipiente necorespunzătoare produs neidentificabil sears bilet completat necorespunzător transport inadecvat

Rezultatul analizei microbiologice:

Examen microscopic: _____ Cultivare: _____

Antibiograma atașată Interpretare: _____

Data _____

Semnătura și parafa medicului de laborator

*Pentru fiecare produs recoltat se completează cerere separată, cu majuscule! Recipientele se marchează cu numele pacientului, felul produsului! Cererea se transportă separat de recipiente!

Figura 1. Cererea de analiza microbiologica

6.1.1.4 Recipiente utilizate pentru recoltarea probelor

Se utilizeaza recipiente sterile, lipsite de urme de substante antibacteriene, de unică folosință cu capac înșurubabil (exceptie tamponele faringiene).

Tabel 1. Tipuri de recipiente pentru recoltare si/sau transport

Recoltor	Mediu de transport	Proba biologica	Aplicatii
Tampon cu tub (unica folosinta)	Da (Stuart, Amies)	Secretie faringiana, secretii din leziuni superficiale	Cultivare
Tampon cu tub (unica folosinta)	Da (Stuart, Amies, + carbune)	Secretii genitale, conjunctivale	Cultivare
Tampon cu tub (unica folosinta)	Fara	Secretie faringiana, secretii din leziuni superficiale – durata de transport sub 1 ora	Cultivare
Tampon nazofaringian cu tija subtire sau flexibila, inserat in tub	Cu sau fara	Secretia nazofaringiana, secretie uretrala	Cultivare
Urorecoltor steril	Fara	Urina si alte produse lichide (aspirate), puroi, varfuri de cateter, sputa, aspirate traheale/bronsice, probe intraoperatorii	Cultivare, examen microscopic
Tub de centrifuga Falcone steril	Fara	LCR si alte produse lichide (aspirate)	Cultivare, examen microscopic

6.2 Lista examenilor efectuate în Laboratorul de Microbiologie

6.2.1 Examen microscopic:

- spută, spălătură bronșică, aspirat bronșic
- lichid cefalorahidian, pleural, ascitic, pericardic, articular
- secreție vaginală, col uterin, secreție prostatică, uretrală, spermă
- materii fecale (prezența leucocite)
- puroi
- suc gastric, bilă

6.2.2 Cultivare:

- secrețiile tractului respirator superior (secreții nazale, nazofaringene, orofaringene,

laringean, puroi sinuzal, otic)

- secreție conjunctivală
- secreții tract respirator inferior (spută, aspirat, spălătură bronșică, lavaj bronhoalveolar)
- puroi (abcese, plăgi superficiale, profunde)
- cultivare diferite secreții (LCR, lichid pleural, ascitic, pericardic, articular), bilă
- urocultură
- secreții genitale la bărbați: secreție uretrală, prostatică, spermă
- secreții genitale la femei: secreție vaginală, col uterin, endometru
- hemocultură
- coprocultură
- aspirat gastric
- biopsii, piese intraoperatorii
- de pe suprafața cateterelor
- exit site cateter

6.2.3 Testarea sensibilității la antibiotice

Se testează susceptibilitatea față de antibiotice a fiecărui izolat semnificativ clinic. La cele cu valoare incertă responsabilul de analiză decide în funcție de natura produsului, a datelor clinice comunicate în cererea de analiză și în consultanță cu medicul curant necesitatea efectuării antibiogramii.

- Se efectuează **antibiogramă difuzimetrică** (metodă calitativă) în cazul izolatelor urinare, faringiene, nazale, secreții genitale, secreții prin tuburi de dren, leziuni superficiale, varf de cateter. Se poate efectua doar antibiograma difuzimetrică în cazul tulpinilor de *Haemophilus influenzae*, *Neisseria gonorrhoeae*.
- La decizia responsabilului de analiză se poate opta pentru antibiograma difuzimetrică și în cazul altor produse biologice (motive financiare, tehnice, particularități ale germeului testat).

NU se efectuează antibiogramă difuzimetrică pentru următoarele bacterii:

- Streptococi β -hemolitici de grup A (*S. pyogenes*), B (*S. agalactiae*), C, G, exceptând cazul în care pacientul este alergic față de β -lactamine, fapt comunicat pe biletul de trimitere. Aceste tulpini sunt sensibile „*in vivo*” față de β -lactamine.

- *Staphylococcus saprophyticus* (cauzează cistite la femei) izolat din urină – este sensibil la antibioticele folosite în tratamentul infecțiilor tractului urinar
- difterimorfi, streptococi grup viridans: rezultatele antibiogramei difuzimetrice pot fi eronate

2. Determinarea **concentrației minime inhibitorii cu ajutorul automatului Vitek2 Compact** se efectuează în următoarele situații:

- tulpini izolate din produse în mod normal sterile, din produse ale căilor respiratorii inferioare, puroi recoltat din abcese profunde, piese intraoperatorii
- germeni care nu pot fi testați difuzimetric : pseudomonade
- germeni multirezistenți testați difuzimetric

6.3 Reguli generale de recoltare a produselor patologice și biologice în vederea examenului bacteriologic

Rezultatul examenului bacteriologic depinde de calitatea produsului prelucrat

6.3.1 Alegerea produsului corespunzător

Agentul etiologic al unei infecții poate fi detectat din: leziunile din poarta de intrare, organele țintă afectate, căile de răspândire în organism, produsele prin care se elimină din organism. Înainte de a cere o analiză bacteriologică trebuie cântărit raportul risc/beneficiu al recoltării privind pacientul.

6.3.2 Momentul prelevării

Se alege în funcție de infecție.

Recoltarea se face înainte de instituirea tratamentului antibacterian! În cazul în care bolnavul se află deja sub tratament antibacterian, se notează pe cererea de analiză bacteriologică și se specifică felul antibioticului sau antisepticului, durata și modul de administrare și momentul administrării ultimei doze.

6.3.3 Ritmul prelevării

Se alege în funcție de prelevat, examenul solicitat și germele urmărit:

- hemoculturi: 2-3 seturi de hemoculturi, înainte de instituirea tratamentului antibiotic, sau dacă tratamentul este deja introdus, se recoltează înainte de administrarea următoarei doze

- exsudat faringian - o singură probă pe zi, recoltată dimineața înainte de toaleta gurii și ingerare de alimente, apă, fumat sau în cazuri excepționale (motivate în bilet) după 2-3 ore de la ingerare alimente
- urină – o singură probă pe zi, se recoltează urina de dimineață sau la 3 ore după ultima micțiune
- coprocultură: se recoltează cât mai precoce după debutul diareei, când numărul de germeni este cel mai mare, repetarea examenului în 2 zile consecutive crește șansa depistării patogenilor
- se contraindică colectarea sputei, urinii de 24 de ore (multiplicarea contaminanților în produs)

6.3.4 Recoltarea se face aseptice

Trebuie redusă sau prevenită contaminarea probelor cu germeni din flora de asociație. Prezența contaminanților îngreunează interpretarea corectă a rezultatelor.

6.3.5 Cantitate

Se prelevează cantități suficiente de produs, în funcție de felul produsului.

6.3.6 Instrumente de prelevare, recipiente pentru recoltare și transport

Se aleg în funcție de particularitățile recoltării, consistența, volumul produsului. Trebuie să fie sterile și lipsite de urme de substanțe antibacteriene, de unică folosință cu capac înșurubabil. Se verifică, capacul să fie etanș, să nu curgă. Se inscripționează conform celor menționate mai sus. Transportul să nu depășească timpul de 1 oră de la recoltare, sau se folosesc medii de transport.

6.3.7 Control după instituirea tratamentului antibacterian

Recoltarea de produse patologice pe durata tratamentului antibacterian este indicat doar în caz de eșec terapeutic definit prin lipsa ameliorării clinice după 72 de ore de tratament sau agravarea stării pacientului.

Controlul eficienței terapiei se recomandă doar în cazul uroculturilor, la 10 zile după terminarea tratamentului.

Nu este necesară repetarea examenului bacteriologic după faringite streptococice vindecate

clinic.

6.4 Măsuri de protecție în cursul recoltării produselor biologice în vederea examenului bacteriologic

- toate produsele biologice trebuie considerate potențial infecțioase, se manevrează respectând regulile generale de prevenire a infecțiilor
- personalul care recoltează, manevrează produse 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
- să nu se contamineze cu produsul patologic exteriorul recipientelor sau biletele de trimitere ce însoțesc produsele
- pentru a asigura transportul adecvat al produselor se impune:
 - cererile de analiza microbiologica se transporta separat de recipientele cu produs pentru a evita contaminarea acestora

6.5 Transportul și conservarea probelor

Trebuie avute în vedere:

- menținerea condiției microbiologice inițiale a probei, a raportului dintre germeni
- menținerea viabilității germenilor
- prevenirea răspândirii germenilor

În cazul transportării necorespunzătoare sau conservării deficitare pot apărea rezultate incorecte datorită:

- în cazul produselor cu conținut polimicrobian se schimbă raportul dintre germeni
- creșterii și multiplicării germenilor contaminanți cu modificarea raportului dintre germeni
- distrugerii patogenului (deshidratare, modificări de pH, autoliză, contactul cu oxigenul atmosferic în cazul anaerobilor)

Pentru a preveni aceste erori:

- probele recoltate trebuie să ajungă cât mai repede la laborator
- dacă nu pot fi transportate imediat:

- se indică folosirea mediilor de transport - probele recoltate pe acestea trebuie să ajungă la laborator în 4 ore
 - materii fecale: mediul Cary-Blair sau glicerină tamponată
 - tampoane: mediul Amies
 - cultivare *Neisseria gonorrhoeae*: mediul Amies cu cărbune
- pentru produsele la care nu pot fi folosite medii de transport se recomandă refrigerare la 4-8°C – majoritatea germenilor supraviețuiesc (excepții: *Neisseria meningitidis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Haemophilus influenzae*, anaerobi), iar multiplicarea lor este oprită, raportul dintre germenii patogeni și contaminanți rămâne neschimbat
 - nu se refrigerază: hemoculturile, lichidul cefalo-rahidian, pleural, ascitic, pericardic, materiile fecale, produsele recoltate pentru cultivarea anaerobilor

6.6 Criterii și procedura de respingere a probelor

1. Lipsa cererii pentru analiză bacteriologică sau cerere completată parțial, folosirea altor bilete decât cele tipizate, concepute de către laboratorul de microbiologie.
2. Recipiente cu probe nemarcate, neidentificabile
3. Probe care se scurg din recipient nu se prelucrează deoarece:
 - constituie pericol de infecție
 - proba poate fi contaminată din exterior, ceea ce reprezintă sursă de eroare în diagnostic

Se anunță telefonic secția și se cere repetarea probei. În cazul probelor nerepetabile proba poate fi prelucrată cu consemnarea posibilei surse de eroare.

1. Probele necorespunzătoare calitativ se păstrează la 4°C, se ia legătura cu medicul care cere analiza pentru a afla, dacă există posibilitatea repetării recoltării
 - dacă poate fi repetată: proba se aruncă
 - dacă nu poate fi repetată, proba se prelucrează și se consemnează posibilitatea unor rezultate fals negative sau pozitive

Tabel 2. Criteriile refuzării produselor biologice și procedura aplicată

Criterii de respingere	Comentarii raportate
Recipiente nemarcate, cerere de analiză completată	Nu s-a primit produs cu acest numar de set. Cerem repetarea prelevării.
Produs nemarcat fără cerere de analiză bacteriologică	Se notează „probă nemarcată”, se păstrează refrigerat timp de 48 de ore
Cerere de analiză parțial completată (lipsă: vârstă, diagnostic, ora recoltării, etc.)	Se solicita telefonic datele lipsa.
Un singur produs – multiple analize	Prelucrarea se temporizează până la elucidarea problemei
Mai multe produse cu o singură cerere de analiză	Produsele se refrigerază până la obținerea cererilor corespunzătoare pentru fiecare produs
Produse scurse din recipient	Se anunță secția/medicul și se cere repetarea recoltării. Dacă nu este posibilă repetarea, se prelucrează proba și se consemnează: posibile erori de diagnostic prin contaminare!
Recipient inadecvat	Se anunță secția/medicul și se cere repetarea recoltării. Dacă nu este posibilă repetarea, se prelucrează proba și se consemnează: posibile erori de diagnostic datorate utilizării unor recipiente inadecvate pentru examen bacteriologic

Tabelul 3. Criterii de respingere ale diferitelor prelevate:

Prelevat	Analiză	Criterii de respingere	Se raportează
Scaun	C	<p>Probă trimisă fără mediu de transport</p> <p>Cantitate de scaun prea mare, acoperă în întregime mediul de transport</p> <p>Mai multe probe provenite de la același pacient în aceeași zi</p> <p>Diagnostic de boală diareică acută: se primește scaun format</p>	<p>Probă primită fără mediu de transport</p> <p>Recoltare incorectă – cantitate de produs prea mare</p> <p>Această probă nu se prelucrează, deoarece s-a mai prelucreat o probă din această zi</p> <p>Scaun format - produs patologic necorespunzător</p>

Prelevat	Analiză	Criterii de respingere	Se raportează
Spută	C&M	>25 celule epiteliale/câmp (x100)	Peste 25 de celule epiteliale pe câmp microscopic – produs necorespunzător calitativ pentru cultivare
Urină	C&M	<p>Probă prelevată din pungă de drenaj, vârf de cateter, Volum insuficient; probe duble</p> <p>Probe recoltate cu mai mult de 2 ore în urmă!</p> <p>Date incomplete privind felul recoltării (jet mijlociu, aspirat suprapubian, prelevat prin cateter)</p> <p>Prezența a mai mult de un morfotip bacterian pe frotiu colorat Gram și numeroase celule malpighiene</p> <p>Leucocite și bacterii absente pe frotiul colorat Gram</p>	<p>Produs inadecvat pentru analiza cerută din cauza</p> <p>Se cere repetarea recoltării.</p> <p>Se temporizează prelucrarea până la obținerea datelor complete.</p> <p>Contaminare vaginală, probă inadecvată pentru cultivare.</p> <p>Piuria absentă.</p> <p>Bacterioscopia negativă.</p> <p>Cultivarea nu se justifică.</p>
Toate produsele patologice trimise pentru cultivare anaerobi (în afară de: țesut, fluide corporale sterile, abcese hepatice și cerebrale, puroi aspirat, biopsii cu diagnostic de gangrenă gazoasă, fasciită sau celulită necrotizantă)	C pentru anaerobi	Produse trimise fără mediu de transport adecvat pentru anaerobi	Produs fără mediu de transport – inadecvat pentru detectare anaerobi

Legendă: C: cultivare, M: microscopie

6.7 Prelevarea diferitelor produse biologice în vederea examenului bacteriologic

6.7.1 Prelevarea puroiului

Produsul patologic cel mai adecvat prelucrării bacteriologice este cel obținut prin aspirație. Cantitatea recoltată trebuie să fie cât mai mare (crește sensibilitatea detectării patogenului).

Puroiul recoltat cu tampon prezintă dezavantajul că oferă cantitate redusă de produs patologic. Nu se recoltează cu tampon uscat de pe leziuni uscate! Dacă leziunea este extinsă, se recoltează din mai multe părți.

Din leziuni deschise se recoltează:

- prin aspirație
- material bioptic
- cu ajutorul tamponului

Din leziuni închise se recoltează

- prin aspirație
- secreții sau biopsii prin intervenție chirurgicală

Din leziuni profunde se recoltează:

- prin aspirație percutanată
- secreții sau biopsii în cursul intervenției chirurgicale

6.7.2 Abcese

- din leziuni accesibile puncției puroiul se aspiră cu un ac suficient de gros atașat de seringă, după antisepsia corespunzătoare a regiunii
- puroiul colectat cu seringă se transferă aseptice într-un tub și se închide ermetic
- se transportă imediat la laborator, mai ales în cazul în care se urmărește prezența anaerobilor (20 de minute)
- în infecțiile intraabdominale în cazul unor abcese multiple se recoltează din fiecare colecție separat
- puroiul poate fi steril în urma distrugerii germenilor, este recomandat excizie din peretele abcesului

6.7.3 Fistule

- prelevatul de la orificiul fistulei nu conține întotdeauna germenii ce cauzează supurația!
- se spală și se antiseptizează tegumentele adiacente și se chiuretează cât mai profund traiectul fistulei
- dacă este posibil, se aspiră puroi, se transferă în recipient steril și se trimite la laborator imediat
- dacă recoltarea se face cu tampon, acesta se introduce în mediu de transport

6.7.4 Puroi prelevat din arsuri, plăgi, leziuni superficiale (escare, ulcerații, episiotomie)

- suprafața zonei de recoltare se spală cu soluție salină sterilă pentru îndepărtarea exsudatului stagnant, prelevarea se face dintr-o zonă a plăgii lipsită de țesut necrotic
- vârful unui tampon steril umectat în soluție salină sterilă se învârte ferm pe o arie de 1 cm² timp de 5 secunde, astfel încât să se obțină o ușoară sângerare;
- produsul se transferă în mediu de transport Amies; în lipsa mediului de transport materialul obținut trebuie să ajungă în cel mai scurt timp la laborator;
- dacă se urmăresc și germeni anaerobi, trebuie recoltat și cu un al doilea tampon și introdus în mediu de transport (Amies sau Stuart)
- dacă se anticipează întârzierea transportului/prelucrării, proba prelevată pentru cultivarea germenilor aerobi se refrigerază la 4°C și se menționează pe bilet;
- prezența celulelor epiteliale în produsul recoltat poate indica faptul că prelevatul este superficial, germele izolat să nu aibă rol etiologic; din leziunile superficiale cronice (ulcer de gambă, picior diabetic) se recoltează produs patologic în vederea examenului bacteriologic doar în cazul unor semne de infecții clare, deoarece de regulă există o floră de contaminare / colonizantă bogată și mixtă iar cultivarea nu oferă informații pertinente pentru a stabili rolul germenilor izolați.

6.7.5 Biopsii de tegument

- materialul bioptic se introduce într-un recipient steril cu ser fiziologic steril, se transportă imediat la laborator

6.7.6 Recoltarea puroiului prin tub de dren

- este acceptabil pentru examen bacteriologic puroiul aspirat în condiții aseptice prin punșionarea tubului de dren al unui sistem de dren închis!

În afara programului de funcționare puroaiile aspirate, cele recoltate pe tampon fără mediu de cultură se trimit imediat la laboratorul de urgență.

6.8 Prelevarea și transportul exsudatelor căilor respiratorii superioare

6.8.1 Exudat faringian

- **indicații:**
 - o diagnosticul faringitelor și anginelor cauzate de *Streptococcus pyogenes*

(Streptococ grup A) și de streptococii grup C, G, *Arcanobacterium hemolyticum*

- în context clinic sugestiv, **la cererea** medicului curant, notat pe biletul de trimitere se efectuează diagnosticul altor faringite bacteriene (faringita gonococică), a candidozei
- angina fuso-spiralata Pantan-Valentine
- se prelevează **dimineața** înainte de toaleta gurii și a ingerării de alimente, lichide, fumat
- în cazuri excepționale este acceptată recoltarea secreției faringiene în timpul zilei, la minimum 3 ore după ultima ingerare de alimente, lichide, fumat
- pacientul se așează pe scaun cu fața spre o sursă de lumină, gâtul în ușoară extensie, se deprimă baza limbii cu un apăsător de limbă steril în timp ce pacientul pronunță vocala A; se șterge ferm cu tamponul steril amigdalele, peretele posterior al faringelui, orice zonă inflamată, ulcerată sau cu depozit purulent, falsă membrană, se pătrunde în criptele amigdaline; se evită atingerea tamponului de baza limbii sau de palatul moale
- tamponul se introduce în mediu de transport Amies; în caz de suspiciune de faringită gonococică se folosește mediul de transport Amies cu cărbune

6.8.2 Secreție nazală

- **indicații: depistarea portajului de *Staphylococcus aureus***
- pacientul se așază pe scaun cu fața spre o sursă de lumină, gâtul în ușoară extensie; cu același tampon umectat cu 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
- tamponul se introduce în mediul de transport Amies

6.8.3 Secreția nazo-faringiană

- indicații: depistarea unor bacterii mai frecvente la acest nivel decât în nas sau orofaringe, depistarea portajului de *Neisseria meningitidis*, diagnosticul tusei convulsive, detectarea prezenței în nazofaringe a germenului *Moraxella catarrhalis* asociată cu laringite
- se folosește tampon nazofaringian (montat pe un suport subțire, preferabil flexibil)
- pacientul se așează pe scaun cu fața spre o sursă de lumină, gâtul în ușoară extensie; se introduce tamponul printr-o nară de-a lungul planșeului nazal până ce atinge peretele posterior al nazofaringelui; se rotește ușor tamponul, pentru a-l încălzi; nu este nevoie de introducerea tamponului și prin cealaltă nară; eventual pentru creșterea cantității prelevatului, se poate retrage ușor tamponul și reinserat pe același traiect (prima tamponare stimulează secreția)
- tamponul se introduce în mediul de transport Amies

6.8.4 Puroiul sinuzal

- indicații: în sinuzite acute pentru depistarea germenilor ca: *Streptococcus pneumoniae*, *Moraxella* spp., *Haemophilus* spp., *Staphylococcus aureus*, *Burkholderia cepacia*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus pyogenes*, fungi)
- secrețiile nazale și nazofaringiene nu sunt adecvate pentru diagnosticul sinuzitei, deoarece germenii cultivați din aceste produse corelează slab cu sinuzita
- aspiratele sau lavajele se colectează aseptice în recipiente sterile

6.8.5 Exudate otice

- indicații: detectarea agentului etiologic al otitei medii (*Streptococcus pneumoniae*, *S. pyogenes*, *Moraxella catarrhalis*., *Haemophilus* spp., *Staphylococcus aureus*, ș.a.)
- exsudatul se aspiră prin timpanocenteză
- în caz de otite externe se prelevează exsudatul cu tampon steril și se introduce în mediu de transport Amies;

6.8.6 Secreție epiglotică

- în epiglotite cel mai frecvent este implicat *Haemophilus influenzae* serotip b, urmat de *Staphylococcus aureus*, streptococul de grup A
- se tamponează structura cartilaginoasă a epiglotului
- tamponul se introduce în mediul Amies

6.8.7 Abcese ale cavității bucale

- De obicei prezintă etiologie polimicrobiană, cu implicare germenilor aerobi și anaerobi din cavitatea bucală. Cu toate acestea de rutină se testează prezența următoarelor specii bacteriene: *Staphylococcus aureus*, streptococul de grup A, *Haemophilus influenzae*.
- recoltarea se face cu ajutorul unui tampon steril,
- tamponul se introduce în mediul de transport Amies

6.8.8 Tampoane orale

- tampoanele orale se recoltează în special în vederea evidențierii unei micoze orale, sau mai rar pentru diagnosticul anginei Plaut-Vincent
- leziunile din cavitatea bucală (și faringe în cazul anginei) se șterg cu tamponul steril
- tamponul se introduce în mediul de transport Amies

6.9 Recoltarea și transportul secrețiilor căilor respiratorii inferioare

Secrețiile tractului respirator inferior examinate bacteriologic includ sputa, aspirate (spălături) bronșice, lavaj bronhoalveolar, material bioptic.

Secrețiile din tractul respirator inferior pot fi contaminate cu bacterii din tractul respirator superior! Rezultatul bacteriologic se interpretează în context clinic, alături de rezultatele altor analize.

6.9.1 Sputa (inclusiv probele obținute prin tub endotraheal, traheostomie)

Germeii asociați pneumoniei variază în funcție de tipul pneumoniei:

- pneumonia comunitară: *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae*, *Legionella pneumophila*, virusuri respiratorii
- pneumonia intraspitalicească (nosocomială): bacili Gram negativi, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, ș.a.
- pneumonia imunosupresaților: la cei de mai sus se adaugă *Pneumocystis jiroveczi*, fungi dimorfi, *Cryptococcus* spp.
- pneumonia de aspirație: mixtură de germeni aerobi și anaerobi orali

Prin cultivare de rutină pot fi detectate doar o parte dintre acești germeni!

Metodologia recoltării:

Se explică pacientului diferența dintre spută, salivă și secreție rinofaringiană înghițită și expectorată.

Sputa emisă spontan se recoltează **dimineața**, când schimbarea poziției corpului din clino- în ortostatism favorizează eliminarea secrețiilor bronșice. Pacientul elimină secrețiile nazofaringiene, se spală pe dinți, clătește abundent 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.

De la pacienți cu tub endotraheal se aspiră în condiții aseptice secreție în recipient steril.

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 contaminatează frecvent, bacteriile izolate nu corespund cu adevăratul agent etiologic.

În excepționale, când transportul întârzie probele se refrigerează. Prin refrigerare se pot distruge unii patogeni (*Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*)

Laboratorul respinge acele produse patologice care nu corespund calitativ pe baza aspectului macroscopic (salivă) și microscopic (prezența a peste 25 de celule epiteliale pe câmp microscopic).

1. Lavaj bronhoalveolar (BAL), aspirate, spălături bronșice

BAL se efectuează când examenul microbiologic al sputei nu evidențiază agentul etiologic al unei pneumonii sau când pacientul nu poate expectora spută. Lavajul este potrivit în special pentru detectare de *P. jiroveczi* sau fungi.

Se recoltează aprox. 15-20 ml secreție în recipiente sterile cu capac înșurubabil.

În lipsa bronhoscopului se efectuează lavaj bronșic orb. În cazul în care nu se obține cantitate suficientă de lichid transferabil într-un recipient steril, se extrage canula și se taie vârful acesteia conținând o anumită cantitate de lichid și se transferă aseptice într-o eprubetă sau recipient steril. Se menționează pe bilet: lavaj/aspirat bronșic.

În cazul în care transportul întârzie, probele se refrigerează. Dacă proba constituie vârf de canulă cu secreție, se acoperă cu ser fiziologic steril și se refrigerează. La predarea produsului se menționează: probă refrigerată și durata refrigerării. Prin refrigerare *S. pneumoniae* și *H. influenzae* își pierd viabilitatea.

2. Biopsie tisulară

Fragmentul de țesut obținut intraoperator se introduce aseptice în recipient steril. Dacă se întârzie transportul, se adaugă 0,5 ml soluție salină sterilă și se refrigerează.

Dacă se cere cultivarea germenilor anaerobi, fragmentul se introduce în mediu de transport pentru anaerobi.

2. Prelevarea și transportul urinei

Prelevatele de urină pot fi împărțite în categorii în funcție de criterii clinice, posibilitatea contaminării cu germeni și gradul de prelucrare microbiologică.

- urini emise spontan (nesterile):

- a. jet mijlociu
- b. reținute în saci sterili la nou-născuți și sugari
- c. prin cateter Foley permanent, cateter suprapubian

- urină obținută prin sondaj vezical

- urină colectată în mod aseptice / alte urini

- d. nefrostomie
- e. puncție suprapubiană
- f. cistoscopie

Majoritatea infecțiilor tractului urinar (ITU) sunt cauzate de germeni condiționat patogeni. Implicarea acestora în ITU este susținută de creșterea semnificativă pe diferite medii de cultură. Criteriile care stabilesc pragul creșterii semnificative variază în funcție de tipul prelevatului.

Rezultatele uroculturii cantitative pot fi influențate de mai mulți factori:

1. multiplicarea bacteriilor în urina recoltată

Urina fiind un bun mediu de cultură, după recoltare bacteriile continuă multiplicarea, modificând semnificativ cantitatea germenilor. Contaminanții prezenți de obicei în număr mic pot atinge pragul semnificativ, rezultând erori de diagnostic. Pentru a preveni aceste erori se impune prelucrarea probei în cel mult 1 oră de la recoltare. În cazul în care transportul se prelungește, urina se refrigerează la 4°C.

2. recoltare incorectă, contaminarea urinei

Peste 90% din ITU sunt infecții monobacilare. Detectarea a două tipuri de germeni de cele mai multe ori necesită repetarea uroculturii pentru confirmarea implicării ambilor germeni. Detectarea simultană a 3 sau mai multe tipuri de germeni din urina emisă spontan înseamnă întotdeauna contaminarea probei și în cazul unui context clinic sugestiv pentru ITU este nevoie de repetarea probei respectând riguros regulile de recoltare.

3. tratamente cu antibiotice

Recoltarea urinei se face înaintea administrării antibioticelor, sau în cazul unui eșec terapeutic constatat după 48-72 de ore de la inițierea terapiei. Prezența antibioticelor în urină reduce mult sensibilitatea uroculturii cantitative, scăzând viabilitatea bacteriilor.

4. tratamente diuretice

În urma tratamentului diuretic se diluează urina, se obține numărul de germeni mai mic, care însă vor fi considerat semnificativ și se va prelucra bacteriologic.

5. infecții cu microorganisme nedetectabile prin cultivare de rutină

ITU cauzate de virusuri, chlamydii, micoplasme, ureaplasme, *M. tuberculosis* necesită investigații suplimentare, acestea nefiind detectabili prin cultivare de rutină.

Pentru colectare se folosesc recipiente sterile, de unică folosință, cu capac înșurubabil.

Criterii de respingere a probelor de urină: tabelul 3.

6.9.1.1

6.9.1.2 Reguli de recoltare

1. Recoltarea urinei emise spontan

a. Urina „prinsă în zbor” din jetul mijlociu

Pacientii vor fi instruit de asistenta medicala și li se vor imana materiale informative scrise despre procedura de recoltare (appendix).

Procedura la femei:

- pacienta se spală pe mâini cu apă și săpun, le usucă
- cu o mână îndepărtează labiile mici, efectuează toaleta vulvară riguroasă se clătește abundant 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.
- introduce un tampon intravaginal
- 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 lasă 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;
- în caz de uretrite se reține primul jet de urină (detectare de Mycoplasma/Ureaplasma spp., Chlamydia – necesită medii de transport speciale)

Procedura la bărbați:

- 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 2 tifoane sterile prin ștergere dinspre meat spre fren
- menținând prepuțul retras se urinează, primul jet se aruncă (se numără până la 3), recoltându-se din jetul mijlociu aprox. 10 ml în recipient steril
- se retrage recipientul înainte de întreruperea micțiunii

ATENȚIE la recoltarea urinei din jetul mijlociu:

- urina se recoltează în recipiente de unică folosință, cu capac filetat
- urina să nu se prelingă pe zonele nedecontaminate (se retrage recipientul înainte de întreruperea micțiunii)
- orificiul recipientului să nu atingă tegumentele, mucoasele, lenjeria!
- capacul, dopul recipientului să nu se desterilizeze

b. Prelevarea urinei de la nou-născuți, sugari

- se decontaminează și usucă organele genitale externe și perineul
- se fixează în jurul penisului sau a vulvei orificiul unei pungii din material plastic sterile
- urina colectată se transferă aseptice într-un recipient steril cu capac înșurubabil

c. Prelevarea urinei de la copiii mici (1-3 ani), care nu cooperează

Olița proprie a copilului se spală bine, se dezinfectează și se așează recipientul colector steril deschis în interior. Copilul să nu atingă cu tegumentele recipientul.

Dacă prin această metodă în mod repetat se obțin rezultate neconcludente se recomandă puncție suprapubiană.

d. Prelevarea urinei prin cateter permanent

Recoltarea urinei la cei cu cateter permanent nu se efectuează de rutină ci numai la pacienții simptomatici, deoarece tratamentul antibacterian și antifungic la asimptomatici nu este indicat. Candiduria la asimptomatici se rezolvă la schimbarea cateterului. Tratamentul candiduriei este necesar doar dacă persistă după schimbul de cateter și pacientul este simptomatic.

Procedura recoltării:

- înainte de recoltare cu 30 de minute se comprimă tubul pentru a asigura umplerea vezicii
- se dezinfectează cateterul cu alcool 70° sau iod, se puncționează tubul
- se extrage cantitatea corespunzătoare în seringă, urina obținută se transferă în recipient steril cu capac filetat, se transportă la laborator.

Practici greșite:

- colectarea urinei din punca cateterului
- recoltare prin capătul drenului după detașarea pungii – porțiunea distală a tubului de cele mai multe ori este contaminată, cultivându-se mai multe specii bacteriene, fără a fi asociate cu ITU la bolnavul respectiv;

- trimiterea varfului de cateter pentru examen bacteriologic
- prelucrarea extensivă a acestor probe de urină recoltate incorect duce la consum de materiale și timp nejustificat și implicit la tratamente antibiotice abuzive.

2. Urină obținută prin sondaj vezical

- se colectează urina într-un recipient steril imediat după introducerea unui cateter nou

Dezavantaj: risc de infecție (1% pacienți în ambulator, până la 10% la pacienți spitalizați)

Indicație: pacienți necooperanți, pacienți care nu micșionează din cauze neurologice sau urologice, pacienți cateterizați pentru explorări urologice.

3. Urină colectată în mod aseptice - Puncția suprapubiană

Reprezintă produsul „optim” pentru prelucrare bacteriologică, în urma puncției suprapubiene se exclude contaminarea uretrală. Oferă cea mai bună predicție pozitivă a ITU de la un număr de germeni de 10^2 /ml în sus. Practic orice germen izolat din urina recoltată în acest mod poate avea semnificație clinică.

Indicații:

- rezultate echivoce la examinarea repetată a urinei obținute din jetul mijlociu (nou-născuți, sugari, femei adulte)
- detectarea germenilor anaerobi
- pacienți necooperanți

Procedura:

- pacient hidratat corespunzător
- își reține urina până când se detectează matitate vezicală, palparea regiunii declanșează nevoia micșionării urgente
- pregătirea tegumentului: depilare (la nevoie), antisepsie
- puncționare deasupra simfizei pubiene (3,5 cm) cu seringă de 10 ml și ac de 22G
- urina se transferă într-un recipient steril

Incidente posibile: hematurie de scurtă durată

6.10 Dacă se anticipează întârzierea transportului/prelucrării probelor de urină, se refrigerează la 4-8 °C!

Prelevarea și transportul materiilor fecale în vederea coproculturii

Gastroenterita acută infecțioasă poate fi cauzată de un număr mare de microorganisme: bacterii, paraziți, virusuri. Coprocultura nu reușește întotdeauna să identifice patogenii enterali, de aceea se ridică problema cost-eficienței acestei analize și se pune întrebarea la ce categorie de pacienți merită efectuată. Din considerente pur clinice ar fi indicat, să se efectueze coprocultură doar la

pacienții la care rezultatul ar putea modifica atitudinea terapeutică. La adulți, în majoritatea cazurilor, până la aflarea rezultatului coproculturii pacientul este vindecat (existând și posibilitatea de a deveni purtător sănătos), însă în cazul în care se renunță la această analiză, ar fi împiedicată urmărirea epidemiologiei gastroenteritelor.

Se recomandă efectuarea coproculturii în următoarele situații:

- gastroenterite de tip inflamator, în cazuri de gravitate medie (6-10 scaune/zi + alte simptome) și crescută (peste 10 scaune/zi)
- gastroenterită prelungită peste 3 zile
- prezența unor factori ce favorizează agravarea:
 - o prematuri, nou-născuți, persoane în vârstă
 - o imunodeficiență, hypo- aclorhidrie (vagotomie, stomac operat, anemie pernicioasă), boli enterale cronice, anevrism de aortă, boli valvulare, diabet, insuficiență renală, boli autoimune
 - o tratamente imunosupresive, steroizi administrați sistemic, diuretice, ACE ,

Examenul bacteriologic de rutină urmărește prezența patogenilor enterali comunitari: *Salmonella* spp, *Shigella* spp. *Escherichia coli* enteroinvaziv, *Campylobacter* spp., *E. coli* O157/H7 (*Escherichia coli* enterohemoragic). La copii sub un an se caută de rutină prezența *E. coli* enteropatogen. La copii sub 12 ani, în perioada iernii, se va cultiva *Yersinia enterocolitica*.

La cerere (manifestare clinică sugestivă) se investighează prezența *Yersinia enterocolitica*, *Vibrio cholerae*, toxine de *Clostridium difficile*, antigene virale de rotavirus și adenovirus. Orice cerere în afară de cele menționate mai sus, se notează în cerere!

Diareea aparuta dupa 48 de ore de la internare de regula nu se datoreaza patogenilor enterali comunitari, cultivarea acestora nu este recomandata. Acestea fiind de obicei infecții post tratament antibacterian, infecții nosocomiale sa va recomanda detectia toxinei A și B *Clostridium difficile*.

6.11 Momentul, ritmul și tehnica prelevărilor

- Scaunul emis spontan se recoltează cât mai precoce după debutul bolii (în primele 3 zile de boală germeii sunt prezenți în număr cel mai mare). Scaunul emis spontan 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 introduc în coprorecoltoare cu mediu de transport Cary-Blair. Materiile fecale trebuie să ajungă în mediul de transport și să se amestece cu acesta, materiile fecale să nu rămână pe suprafața mediului de transport. Este important, pentru că trecerea pe mediile de cultură trebuie 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!).
- Pot fi cerute 2 examene bacteriologice în zile consecutive pentru a crește sensibilitatea

dectării patogenilor (fiecare probă se trimite în ziua recoltării, nu se adună!). Repetarea coproculturii nu are sens înaintea obținerii rezultatelor primelor două analize.

- În cazul în care nu se poate obține scaun, se pot recolta materiile fecale cu ajutorul unui tampon adecvat. Se introduce tamponul intrarectal la 10 cm de la orificiul anal, după care se introduce în mediu de transport Amies.
- Pentru cultivare de *Neisseria gonorrhoeae* se recoltează produsul cu tampon inserat intrarectal și se introduce în mediul de transport Amies cu cărbune. Se notează pe cerere: cultivare GC
- Pentru deectare de toxine, antigene se recolteaza in coprorecoltor fara mediu de transport (in jur de 1 ml)

6.12 Determinarea portajului enteral al diferiților germeni

La laboratorul de microbiologie se urmărește de rutină portajul de Salmonella, Shigella.

La cerere se poate detecta portaj rectal de streptococ grup B la gravide, în completarea screeningului portajului vaginal, recoltarea în acest caz se efectuează cu ajutorul tamponului inserat intrarectal.

În scop epidemiologic în cadrul supravegherii infecțiilor nosocomiale poate fi urmărit la pacienți portajul enteral de enterococ vancomicino-rezistent, enterobacterii (*E. coli*, *Klebsiella* spp) producătoare de β -lactamaze cu spectru extins. Orice inițiativă privind aceste screeninguri trebuie discutată cu SPCIN (Serviciul de Prevenire și Combatere a Infecțiilor Nosocomiale) iar produsele se direcționează către laboratorul de microbiologie SPCIN.

Pentru evidențierea portajului de Salmonella materiile fecale se recoltează după administrarea unui purgativ. Se rețin probe din materiile fecale de consistență lichidă, pe mediu de transport.

Pentru evidențierea speciilor de Shigella, și a germenului *Escherichia coli* enteroinvaziv se recoltează materiile fecale cu ajutorul sondei Nelaton introdus intrarectal, peste 10 cm.

Prelevarea și transportul sângelui în vederea hemoculturii

Indicații pentru efectuarea hemoculturii:

- nou-născuți, sugari, pacienți imunocompromiși la orice vârstă cu semne clinice sugestive, chiar minime
- septicemie
- endocardită infecțioasă
- sindrom sugestiv pentru infecție sistemică cu germeni specifici (*Salmonella Typhi*, *S. Paratyphi*, bruceloză)
- sindroame febrile cu etiologie neelucidată
- infecții care se asociază cu bacteriemie (pneumonie, meningită, pielonefrite acute, infecții

puerperale, angio-colecistite, artrite septice, infecții ale arsurilor și plăgilor)

- stări febrile după intervenții chirurgicale pe intestin, focare infecțioase cronice, cateterism venos prelungit, dializă peritoneală.

Hemoculturile se efectuează în sistem automat **BactAlert**. Recoltările se efectuează în flacoane speciale:

1. Flacon BactAlert aerob pentru adulți, cod albastru
2. Flacon BactAlert anaerob pentru adulți, cod mov
3. Flacon BactAlert aerob pentru adulți cu inhibitor de antibiotic, cod verde
4. Flacon BactAlert anaerob pentru adulți cu inhibitor de antibiotic, cod portocaliu
5. Flacon Pedi-Bact pentru copii cu/fără tratament antibiotic, cod galben – nu permite detectarea germenilor strict anaerobi

Flacoanele se păstrează la temperatura camerei, ferite de lumină. Înainte de folosire se verifică data expirării. Flacoanele cu inhibitor conține cărbune, acestea se depun la fundul eprubetei, lichidul de deasupra trebuie să fie limpede. La agitare cărbunele tulbură mediul.

Momentul, ritmul recoltării:

- Rezultatul este influențat de terapia cu antibiotice în curs. Recoltarea se efectuează înaintea începerii tratamentului, sau dacă acest lucru este imposibil, recoltarea se face înaintea doza următoare, în flacoane cu inhibitor de antibiotic. Mențiune: în cazul recoltării în timpul antibioterapiei sensibilitatea detectării germenilor din flacoanele cu inhibitor este ceva mai mare decât din cele fără inhibitor, dar mai mică decât înaintea începerii tratamentului!! Posibile rezultate fals negative!
- La pacienții febrili se recoltează în perioada creșterii temperaturii, înainte sau cât de repede de la începutul frisoanelor, când germenii sunt cel mai viabili și se găsesc cu mai mare probabilitate în cantitate detectabilă în sânge. În endocardite infecțioase recoltarea nu este legată de un anumit moment al zilei (bacteriemie continuă) se recoltează 3 seturi de hemoculturi la intervale de 30-60 de minute.
- Un set de hemocultură constă din recoltarea sângelui dintr-o singură puncție venoasă, repartizat în flacoanele aerob și anaerob. Recoltarea se repetă după 15-20 de minute. Se recoltează minimum 2, maximum 3 seturi de hemocultură înaintea începerii tratamentului din locuri de puncție diferite. Recoltările multiple cresc sensibilitatea detectării iar în cazul germenilor condiționat patogeni depistarea din două seturi succesive confirmă implicarea lor în patologie. Poate fi indicată repetarea hemoculturii în cursul terapiei doar în cazul unui eșec terapeutic.
- În caz de bacteriemie legată de cateter se recomandă recoltarea simultană din cateter și o venă periferică pentru compararea rezultatelor. Dacă se cultivă germeni numai din sângele recoltat prin cateter septicemia legată de cateter este puțin probabilă, însă cateterul este

colonizat și se indică schimbarea acestuia. Pe flacon se notează, de unde s-a recoltat sângele!

Metodologia recoltării:

- Tegumentele se antiseptizează cu tinctură de iod, se așteaptă să se usuce. Se șterge suprafața iodată cu alcool 70%. Se lasă să se usuce.
- Se îndepărtează protectorul de pe flacoane (BactAlert aerob și anaerob sau Pedi-Bact), se dezinfectează cauciucul cu 70% alcool.
- Se recoltează cu ac (19 sau 21G) și seringă între 10-20 ml (între 5-10 ml pentru flaconul aerob și tot atât pentru cel anaerob) pentru adulți. Pentru copii se recoltează 1-3 ml de sânge.
- Se evacuează aerul din seringă și se injectează aseptice conținutul în flacoanele de hemocultură (la copii Pedi-Bact), având grijă, să nu se introducă cantitate mai mare (există presiune negativă în flacon) decât cel recomandat. În cazul în care se recoltează aerob și anaerob, întâi se introduce în flaconul anaerob și cu un ac schimbat în cel aerob (aerisire).
- **Atenție! Nu** se introduc cantități mai mari de 10 ml în flacoanele pentru adulți și mai mult de 3 ml în flacoanele pediatrice!
- Proba se transportă imediat la laborator și se incubează însoțit de cererea de analiză completat corespunzător, pe care se lipește codul de bare al flacoanelor.
- Menționați număr de telefon interior la care pot fi raportate rezultatele preliminare!
- În cazul în care transportul se prelungește, **nu refrigerați flacoanele, acestea se păstrează la temperatura camerei (maximum 4 ore)! Hemoculturile recoltate în afara programului de funcționare a laboratorului de microbiologie se trimit la laboratorul de urgență.**

Cereri speciale

- în cazuri speciale flacoanele PediBact pot fi folosite pentru cultivarea altor produse (lichid cefalo-rahidian, lichid pleural, ascitic, secreții purulente) NOTĂ: aceste medii de cultură cresc sensibilitatea cultivării însă nu oferă nici un avantaj privind identificarea germenilor, nu reduce durata diagnosticului. Automatul doar semnalează creșterea bacteriană, identificarea în continuare se face cu metode convenționale!
- În cazul în care se trimite alt produs decât sânge, se notează pe bilet!

Vârful de catetere intravasculare

Catetere intravasculare: cateter venos central, CVP, Hickman, Broviac, arteriale, periferice, ombilicale, de hemodializă, Swan-Ganz, port-a-cath.

După îndepărtarea cateterului cu o foarfecă sterilă se secționează aprox. 4 cm din capătul de cateter și se lasă să cadă într-un recipient steril (eprubetă sau recipient de unică folosință cu capac înșurubabil), având grijă să nu se atingă de nimic.

Examinarea bacteriologică în infecțiile orificiului percutanat al cateterelor intravenoase, venoase centrale (probe exit site cateter)

Infecțiile din jurul cateterelor inserate percutanat pot duce la bacteriemii, septicemii. În cazul unor semne locale de inflamație se șterge marginea inflamată a orificiului cu un tampon steril, se introduce în mediu de transport.

3. Prelevarea și transportul lichidului cefalorahidian

Diagnosticul bacteriologic al meningitelor bacteriene se bazează pe examinarea lichidului cefalorahidian. Recoltarea lichidului cefalorahidian se face prin puncție lombară, în condiții stricte de asepsie. Astfel se exclude pe de o parte contaminarea probei, pe de altă parte se previne infecția nosocomială a pacientului.

În vederea examenului bacteriologic se colectează 4-5 ml de lichid cefalorahidian, preferabil în recipiente sterile de unică folosință cu capac înșurubabil.

Recoltarea se anunță cu cel puțin 30 de minute înainte pentru pregătirea mediilor de cultură.

Transportul probei se face imediat. Este interzisă refrigerarea probelor. Crește sensibilitatea detectării bacteriilor, dacă imediat după recoltare se însămânțează o picătură pe mediul de cultură adecvat și preîncălzit la 37°C.

4. Prelevarea și transportul diferitelor exudate ale seroaselor în vederea examenului bacteriologic

La recoltarea acestor produse trebuie respectate strict regulile de asepsie, antisepsie.

Probele nu se refrigerază! Recoltarea se anunță cu cel puțin 30 de minute înainte pentru pregătirea mediilor de cultură.

Secreția pleurală

Lichidul pleural se recoltează prin aspirație percutanată. Lichidul pleural obținut prin drenaj se prelucrează diferit, de aceea trebuie menționat pe bilet, cum s-a efectuat recoltarea!

Se colectează în recipiente sterile, de preferință de unică folosință cu capac înșurubabil.

Lichidul ascitic

Se recoltează prin aspirația percutanată în condiții aseptice sau în cursul laparatomiei în recipiente sterile, de preferință de unică folosință cu capac înșurubabil.

Recoltarea a peste 10 ml crește sensibilitatea detectării bacteriilor.

Lichid articular, lichid pericardic

Se recoltează prin aspirație, în condiții aseptice.

5. Prelevarea și transportul secrețiilor genitale

Produse patologice prelevate în infecțiile genitale la femei

1. Vaginite

- a. se aspiră secreția din fundul de sac vaginal și se introduce în mediu de transport pentru anaerobi, aerobi separat, sau
- b. cu ajutorul unui tampon se colectează secreții din fundul de sac vaginal; tamponul se introduce în mediu de transport Amies (dacă se cere și cultivare de anaerobi, se recoltează 2 tampoane, ambele se introduc în mediu de transport Amies)
- c. se efectuează două frotiuri, după uscare se împachetează în hârtie separat de biletul de trimitere

2. Cervicite

- a. se îndepărtează cu un tampon steril mucusul de la nivelul cervixului, cu un al doilea tampon se recoltează produsul patologic prin introducerea și rotirea în canalul cervical
- b. se introduce în mediu de transport Amies cu cărbune (cultivare de *Neisseria gonorrhoeae*)

! evitarea contaminării probei cu flora vaginală

- c. se efectuează două frotiuri

3. Recoltare de la fetițe

- a. un tampon subțire de recoltare se introduce prin himenul vaginal, se introduce în mediul de transport Amies
- b. cu ajutorul unui cateter se spală cu 2 ml ser fiziologic steril, se colectează lichidul de spălătură
- c. 2 frotiuri

4. Produse din endometrite, lohii, lichid amniotic

- a. aspirat din endometriu (lohii, lichid amniotic) transferat în mediu de transport pentru anaerobi; pentru aerobi se aspiră în recipient separat
- b. se transportă imediat la laborator
- c. lohiile recoltate cu tampon sunt adecvate numai cultivării aerobilor

5. Inflamații pelviene
 - a. secreții obținute prin puncție (Douglas, anexe) sau intraoperator – se introduc în medii de transport pentru anaerobi și aerobi
 - b. pentru depistarea infecției cu *Actinomyces* asociat cu sterilet se recoltează aspirat endometrial și se transportă în mediu de transport pentru anaerobi; steriletul eliminat se trimite de asemenea în mediu de transport pentru anaerobi.
6. Cereri speciale
 - a. Pentru evidențierea unei infecții cu *Listeria* se procedează în mod obișnuit, probele se pot păstra la frigider
 - b. Screening la gravide – se notează pe bilet! Se urmărește colonizarea cu *Streptococcus agalactiae*. Se recoltează secreție anală și secreție vaginală din treimea inferioară a vaginului.

Produse patologice recoltate în infecțiile genitale la bărbați

1. Uretrite
 - a. se recoltează secreție uretrală dimineața, înainte de micțiune cu tampon steril, se introduce în mediu de transport
 - b. se efectuează două frotiuri, după uscare se împachetează
2. Prostatite
 - a. se antiseptizează glandul
 - b. se recoltează secreție uretrală după masaj prostatic
 - c. spermă colectată în recipient steril
3. Orhite, epididimite
 - a. punctate
 - b. produse obținute intraoperator (recipient steril, mediu de transport)

Detectarea unor bacterii greu cultivabile sau necultivabile

1. Detectare de antigene *Chlamydia* (în perspectivă)
 - se recoltează din canalul cervical sau uretră
 - pacientul își ține urina 1-2 ore
 - cu un tampon steril se șterge mucusul de la orificul 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 celule epiteliale, *Chlamydia* fiind un germen intracelular!)
 - se extrage ușor tamponul, evitând contactul cu regiunile adiacente
 - tamponul se introduce în mediul de transport special
2. *Mycoplasma*, *Ureaplasma* (în perspectivă) – pot fi detectate din secreție cervicală, secreție prostatică, urină. Recoltarea se face în mediu de transport adecvat.

3. *Neisseria gonorrhoeae* – se colectează secreție cervicală, produsul se trimite în mediu de transport la laborator. În lipsa mediilor de transport produsul se înșămânțează la locul recoltării pe medii speciale preîncălzite la 37C și trimise la laborator.
4. *Mycobacterium tuberculosis* – se colectează sânge menstrual sau secreții de 24 de ore, raclaj uterin – produsele se trimit la laboratorul BK de la Clinica de Pneumoftiziologie.

6. Secreții oculare

6.12.1.1.1 Conjunctivită

1. Se șterge cu un tampon mucoasa conjunctivală, ținând pleoapele deschise și evitând atingerea genelor. Se recomandă recoltarea a două probe.
2. Raclaj conjunctival

6.12.1.2 Dacrocistita acută

1. Cu un tampon umed se șterge conjunctiva.
2. În caz de aspirație percutanată, sau se efectuează incizie se recoltează secreție cu ac și seringă.

7 Referințe bibliografice

- ❖ Frances Fischbach – *A Manual of Laboratory Diagnostic Tests*, Ed. II-A, Lipincott, 1984, p.4-6, 110-113, 207-209.
- ❖ RoEQALM – *Al 2-lea seminar privind Asigurarea și Controlul Calității în Medicina de Laborator*, București, Nov 2003.
- ❖ W.G. Guder – *Samples: from the Patient to the Laboratory - The impact of preanalytical variables on the quality of laboratory results*, GIT VERLAG, 1996.
- ❖ L.A. Kaplan, A.J.Pesce – *Clinical Chemistry: Theory, analysis and correlation*, Mosby Company, 2012.

Cuprins

1. Recoltarea probelor biologice pentru investigatii biochimice, hematologice, imunologice si de biologie moleculara	2
1.1 Solicitarea analizelor	2
1.1.1 Cine solicită analizele de laborator ?	2
1.1.2 Unde se solicită analizele de laborator ?	2
1.1.3 Când se solicită analizele de laborator ?	3
1.1.4 Cum se solicită analizele de laborator ?	3
1.1.5 Cine anunță/pregătește pacientul pentru recoltarea probei biologice?	3
1.1.6 Cine face recoltarea probei biologice ?	4
1.2 Colectare - tehnică	4
1.2.1 Colectoare	4
1.2.2 Tehnica recoltării cu sistemul vacutainer (Fig.2)	5
1.3 Proba Biologică	5
1.3.1 Sângele – Explorarea matricei proteo-saline	5
1.3.2 Sângele - Explorarea elementelor celulare ale sângelui	7
1.3.3 Recoltarea urinei	8
1.3.4 LCR	9
1.4 Transportul probelor biologice	9
1.4.1 Transportul probelor de sânge	9
1.5 Triere primară și distribuție pe departamente/compartimente; criterii de respingere	10
1.5.1 Criterii de respingere a produselor patologice	11
1.6 Prelucrarea primară	11
1.6.1 Criterii de respingere a produselor patologice la prelucrarea primara	13
1.7 Stocarea probelor	14
2 Factori care afectează rezultatul în faza de recoltare a lichidelor biologice	15
2.1 Ingerarea de alimente înainte de recoltare duce la valori crescute:	15
2.2 Înfometarea	15
2.3 Ingestia de alcool	15
2.3.1 Ingestia acută de alcool (2-12 ore înainte de recoltare)	15
2.3.2 Ingestia cronică de alcool	15
2.4 Trecerea din clino- în ortostatism duce la creșteri:	15
2.5 Aplicarea prelungită a garoului înainte de recoltarea sângelui	16
2.6 Activitatea fizică	16
2.7 Variații diurne semnificative se pot observa la determinările:	16
2.8 Recoltări de pe catetere	16
2.9 Fumatul	16
2.9.1 În dimineața recoltării	16
2.9.2 Cronic	17
2.10 Interferențe medicamentoase	17
2.11 Aspecte particulare legate de tehnica de recoltare	17
2.11.1 Parametrii biochimici pot fi influențați de:	17
2.11.2 Parametrii hematologici pot fi influențați de:	18
2.11.3 Testele de coagulare pot fi influențate de:	18
3 Factori care afectează rezultatul în faza de transport și stocare a materialelor biologice	18
3.1 Factori care influențează parametrii biochimici-imunologici	18
3.2 Factori care influențează parametrii hematologici	19
3.3 Factori care influențează parametrii hemostazei	19

3.4	Stocarea (vezi tabelul 5)	19
4	Factori care afectează rezultatul în faza de analiză propriu-zisă.....	20
4.1	Hemoliza	20
4.2	Hiperbilirubinemia	20
4.3	Lipemia	20
5	Influența unor factori biologici asupra rezultatelor	20
5.1	Vârsta.....	20
5.1.1	La nou-născut.....	20
5.1.2	În copilărie / adolescență.....	21
5.1.3	La adult	21
5.2	Sexul.....	22
5.3	Sarcina	23
5.4	Ciclul menstrual	24
5.5	Intervenții chirurgicale.....	24
6	Recoltarea produselor biologice în vederea examenului bacteriologic	24
6.1	Solicitarea analizelor	24
6.1.1	Programul de funcționare a compartimentului de microbiologie din cadrul Laboratorului de Analize Medicale	24
6.2	Lista examenelor efectuate în Laboratorul de Microbiologie.....	27
6.2.1	Examen microscopic:.....	27
6.2.2	Cultivare:	27
6.2.3	Testarea sensibilității la antibiotice.....	28
6.3	Reguli generale de recoltare a produselor patologice și biologice în vederea examenului bacteriologic	29
6.3.1	Alegerea produsului corespunzător.....	29
6.3.2	Momentul prelevării	29
6.3.3	Ritmul prelevării	29
6.3.4	Recoltarea se face aseptice	30
6.3.5	Cantitate	30
6.3.6	Instrumente de prelevare, recipiente pentru recoltare și transport	30
6.3.7	Control după instituirea tratamentului antibacterian	30
6.4	Măsurile de protecție în cursul recoltării produselor biologice în vederea examenului bacteriologic	31
6.5	Transportul și conservarea probelor	31
6.6	Criterii și procedura de respingere a probelor	32
Tabel 2. Criteriile refuzării produselor biologice și procedura aplicată		33
6.7	Prelevarea diferitelor produse biologice în vederea examenului bacteriologic.....	35
6.7.1	Prelevarea puroiului	35
6.7.2	Abcese	35
6.7.3	Fistule.....	35
6.7.4	Puroi prelevat din arsuri, plăgi, leziuni superficiale (escare, ulcerații, episiotomie)	36
6.7.5	Biopsii de tegument.....	36
6.7.6	Recoltarea puroiului prin tub de dren	36
În afara programului de funcționare puroiurile aspirate, cele recoltate pe tampon fără mediu de cultură se trimit imediat la laboratorul de urgență.		36
6.8	Prelevarea și transportul exudatelor căilor respiratorii superioare	36
6.8.1	Exudat faringian.....	36
6.8.2	Secreție nazală.....	37
6.8.3	Secreția nazo-faringiană	37
6.8.4	Puroiul sinuzal.....	38
6.8.5	Exudate otice	38

6.8.6	Secreție epiglotică.....	38
6.8.7	Abcese ale cavității bucale.....	38
6.8.8	Tampoane orale	38
6.9	Recoltarea și transportul secrețiilor căilor respiratorii inferioare.....	39
6.9.1	Sputa (inclusiv probele obținute prin tub endotraheal, traheostomie)	39
2.	Prelevarea și transportul urinei.....	40
6.10	Dacă se anticipează întârzierea transportului/prelucrării probelor de urină, se refrigerează la 4-8°C!	43
	Prelevarea și transportul materiilor fecale în vederea coproculturii	43
6.11	Momentul, ritmul și tehnica prelevărilor	44
6.12	Determinarea portajului enteral al diferiților germeni	45
	Prelevarea și transportul sângelui în vederea hemoculturii	45
	Vârfuri de catetere intravasculare	48
	Examinarea bacteriologică în infecțiile orificiului percutanat al cateterelor intravenoase, venoase centrale (probe exit site cateter)	48
3.	Prelevarea și transportul lichidului cefalorahidian.....	48
4.	Prelevarea și transportul diferitelor exudate ale seroaselor în vederea examenului bacteriologic	48
	Secreția pleurală	48
	Lichidul ascitic	49
5.	Prelevarea și transportul secrețiilor genitale.....	49
6.	Secreții oculare	51
7	Referințe bibliografice	51